



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

EGBERTO DE ALMEIDA CARDOSO NETO

**PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS CAUSADORES DE
TOXINFECÇÕES ALIMENTARES TRANSMITIDAS PELO LEITE
FLUIDO: REVISÃO DE LITERATURA**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
ABRIL – 2015**

EGBERTO DE ALMEIDA CARDOSO NETO

**PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS CAUSADORES DE
TOXINFECÇÕES ALIMENTARES TRANSMITIDAS PELO LEITE
FLUIDO: REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Tatiana Pacheco Rodrigues

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

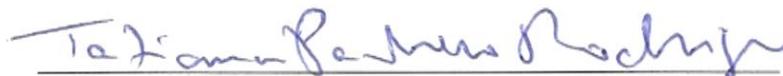
ABRIL – 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CCA106 – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

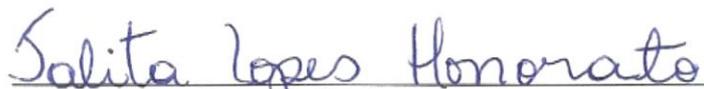
COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

EGBERTO DE ALMEIDA CARDOSO NETO

PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS CAUSADORES DE TOXINFECÇÕES
ALIMENTARES TRANSMITIDAS PELO LEITE FLUIDO



Profa. Dra. Tatiana Pacheco Rodrigues
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Profa. Dra. Valita Lopes Honorato
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Valdir Carneiro Silva
Pós Graduando da Universidade Federal da Bahia

Cruz das Almas, 08 de maio de 2015.

DEDICATORIA

*A toda a minha família, e a Deus;
Por ter me proporcionado conviver com
vocês!*

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Tatiana Pacheco Rodrigues por ter aceitado a difícil tarefa de me orientar.

Aos meus pais *Egberto Cardoso* e *Ednalva Cardoso* por terem juntos, me incentivado a enfrentar com bravura as inúmeras dificuldades encontradas até aqui, sendo sempre as minhas referências de caráter, responsabilidade, dignidade, honestidade e postura profissional. “-Sou quem sou por vocês meus pais”

A minha irmã *Maria Eugenia Cardoso* por estar do meu lado (desde o dia que eu entendo que existo) me apoiando sempre e principalmente por ter me ensinado que nunca é hora de desistir.

A minha namorada *Danielly Meneses* pelo companheirismo, por ter tido paciência nos momentos de difíceis, por toda ajuda e “*puxões de orelha*” nos momentos certos.

Ao meu amigo *Antonio Uelinton* pela contribuição principalmente nos momentos difíceis ao longo dessa jornada.

A todos os outros amigos, por entender os momentos de ausência.

Aos Professores do curso de Medicina Veterinária pelos ensinamentos passados.

Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível (Chaplin, 1965, p. 174).

RESUMO

O leite é uma fonte excelente de nutrientes, tornando-se um bom meio de cultura para o crescimento de micro-organismos potencialmente patogênicos. Estes microrganismos podem comprometer a qualidade e segurança tanto do leite quanto dos seus derivados, contaminar o homem através da ingestão in natura ou através da ingestão do leite beneficiado contaminado, bem como promover prejuízos econômicos a todos os envolvidos na cadeia produtiva do leite e dos seus derivados. Ainda sim quando não tratado termicamente ou quando existem falhas nesse processo, quando negligenciadas as boas práticas de fabricação e armazenamento o leite termina por tornar-se um agravo importante a saúde pública podendo estar diretamente relacionado a veiculação tanto das bactérias quanto das suas toxinas, fato extremamente relevante quando ponderamos que tais produtos, são frequentemente consumidos pela população suscetível, formada por indivíduos que devido a questões fisiológicas, iatrogênicas, ou patológicas estão com capacidade imune diminuída. Dessa maneira fica estabelecida a importância científica e social desta pesquisa, que por meio de uma revisão de literatura visa conhecer os principais micro-organismos causadores de toxinfecções alimentares transmitidas pelo leite fluido.

Palavras chaves: Micro-organismos. Toxinfecções Alimentares. Leite Contaminado.

ABSTRACT

Milk is a great source of nutrients, becoming a good means to the cultivation for the growth of potentially pathogenic microorganisms. These microorganisms can compromise the quality and safety of the milk and its derivatives, contaminate the man through *in nature* intake or through the intake of contaminated benefited milk, as well as to promote economic losses to all those involved in the milk production chain and its derivatives. However, when not thermally treated or when there are flaws in the process, when neglected the good manufacturing and storage practices, the milk end up becoming a significant grievance to public health and may be directly related to the propagation of both bacteria and its toxins. This is an extremely relevant fact, when we consider that such products are frequently consumed by the susceptible population, formed by individuals who, due to physiological, iatrogenic or pathological issues, have a decreased immune capacity. In this way is established the scientific and social importance of this research, which through a literature review aims to understand the main microorganisms responsible for foodborne diseases transmitted by the fluid milk.

Keywords: Milk Microorganisms. Foodborne Diseases. Contaminated Milk.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	13
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	Origem, definição e características do leite	14
3.2	Composição do leite	16
3.2.1	Água	16
3.2.2	Lactose	17
3.2.3	Proteínas	17
3.2.4	Gorduras	18
3.2.5	Vitaminas	19
3.2.6	Minerais	20
3.3	Propriedades físico-químicas	21
3.4	Classificação dos tipos de leite	21
3.5	Tratamento térmico para controle da população microbiana no leite	23
3.5.1	Pasteurização	23
3.5.2	Esterilização	24
3.6	Micro-organismos de interesse no leite	26
3.6.1	<i>Brucella</i> sp.	27
3.6.2	<i>Mycobacterium bovis</i> .	28
3.6.3	<i>Salmonella</i> spp.	30
3.6.4	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	32
3.6.5	<i>Staphylococcus aureus</i> .	33
3.6.6	<i>Listeria monocytogenes</i>	35
3.6.7	<i>Campylobacter</i> sp.	37
3.7	Considerações Finais	39
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Instrução Normativa Nº 62/2011, o leite bovino, sem outra especificação, é caracterizado por ser um produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011). De forma abrangente, é definido como uma mistura complexa de alto valor nutricional, composta por várias substâncias, como água, proteínas, sais minerais, gorduras, carboidratos, vitaminas e cálcio, essencial para a formação e manutenção dos ossos, sendo um importante alimento humano, bastante próximo à perfeição, recomendado para pessoas de todas as faixas etárias (SOARES et al., 2010).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, no primeiro trimestre de 2014 foram produzidos pelas indústrias de processamento de leite 6,186 bilhões de litros, comparando ao mesmo período em 2013 observa-se um aumento de 8,9% e uma queda 5,5% quando comparado com o 4º trimestre do ano de 2013. A industrialização e processamento também registrou aumento, de forma que foram produzidos 6,169 bilhões de litros que quando comparados com 2013 revelam aumento semelhante ao da produção, com 8,8%. A produção regional ficou da seguinte maneira: Sudeste foi responsável por 41,4% do que foi produzido de leite nacionalmente, já o Sul produziram 33,8%, o Centro-oeste por 14,7% e o Norte e o Nordeste foram responsáveis por 5,0% cada um (IBGE, 2014).

Observando a produção de leite no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (2014), criou o Programa Mais Leite, com o objetivo de nos próximos 10 anos aumentar a produção e a produtividade da cadeia leiteira no Brasil em 40%. Nessa perspectiva, nos últimos 10 anos houve um crescimento de 23% na produtividade do rebanho, contudo, a produção nacional só fornece aproximadamente 170 litros, leite/habitante/ano quando deveria fornecer 210 litros, que é o recomendado pela Organização Mundial da Saúde (BRASIL, 2014).

Um importante fato a ser mencionado é que no Brasil no período de 2000 a 2014 foram registrados 9.719 surtos de intoxicações ou infecções alimentares, transmitidas por alimentos, totalizando 19.803 doentes. Os estudos epidemiológicos realizados pelo Ministério da Saúde apontam o leite e seus derivados como responsáveis por 6,9% dessas infecções (SINAN, 2014)

O consumo de leite in natura e seus derivados é favorecido por fatores culturais, nutricionais, sensoriais e econômicos. Embora, o controle microbiológico do leite, através de testes microbiológicos para alguns micro-organismos não garanta a segurança do consumo de leite in natura, este desempenha uma importante função no sentido de alertar a população dos riscos inerentes ao seu consumo. Neste prisma o controle microbiológico do leite inicia-se com cuidados com a sanidade animal, condições adequadas de higiene durante a ordenha, bem como em todas as etapas de seu processamento. (NASCIMENTO et al., 2010).

O setor leiteiro vem modernizando-se para tornar o leite produzido no Brasil um produto mais atrativo, tanto no mercado nacional quanto internacional. Para tanto, programas de incentivo aos produtores estão sendo executados visando reduzir os níveis de micro-organismos patogênicos no leite, aumentando assim, a qualidade do produto. Entre estes, pode-se salientar o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. (NASCIMENTO et al., 2010).

De acordo com Ferrão et al., (2003) as indústrias de beneficiamento de leite têm assumido um papel importante, pois promovem um controle rigoroso do processamento do produto e padronização da qualidade. Com o beneficiamento do leite, através de processos térmicos tais como pasteurização e esterilização, conseguiu-se uma redução considerável nos surtos de toxinfecções alimentares, minimizando os riscos à saúde pública e o aumento do tempo de vida útil do produto. Portanto, a pesquisa possibilitará elucidar quais os principais micro-organismos capazes de causar toxinfecções alimentares passíveis de transmissão pelo leite.

Para melhorar a qualidade do leite produzido, mudanças no setor leiteiro estão sendo implantadas, dando ênfase à refrigeração do leite (entre 4 - 5°C) na propriedade e durante o transporte a granel (NASCIMENTO et al., 2010) A refrigeração do leite tem como objetivo controlar a multiplicação de micro-organismos aeróbios mesófilos. No entanto, a refrigeração abaixo de 7°C permite o crescimento de micro-organismos psicrótróficos, que podem produzir enzimas extracelulares que causam danos ao leite e derivados (TRONCO, 2008).

Ainda assim é extremamente necessário fazermos uma ressalva quanto a distribuição do leite cru para consumo direto da população, que é legalmente proibida em todo o território nacional. No entanto, a comercialização informal do leite sem qualquer tratamento térmico, controle de qualidade e inspeção sanitária é comum e ocorre em algumas regiões do País (BELLOTI et al., 2009).

Vale salientar que com o crescimento da produção e comercialização do leite no Brasil, se fez necessário desenvolver inúmeros estudos que viabilizem questionar sobre a alteração da qualidade do leite durante os procedimentos gerais de produção, falhas na higienização, que comprometam etapas importantes como o acondicionamento e transporte do produto (NERO et al., 2003).

Partindo desse pressuposto faz-se necessário trazer para o âmbito científico as etapas de produção, buscando conhecer técnicas que possam diminuir a carga infectante, instigando nos discentes o senso crítico reflexivo acerca do tema, além, de apresentar resultados que permitam a produção com sanidade, assegurando um consumo de qualidade e que visem diminuir os riscos de doenças a fim de garantir uma melhor qualidade de vida aos consumidores do leite e de seus derivados.

Frente a isso presente estudo foi baseado em uma pesquisa de referência bibliográfica, demonstrando os principais autores envolvidos nessa temática e as suas teorias em foco, visando deste modo elucidar os principais microrganismos capazes de promover toxinfecções alimentares passíveis de transmissão pelo leite fluido.

2 OBJETIVOS

- Refletir sobre os malefícios ocasionados pelo consumo do leite contaminado;
- Analisar os principais micro-organismos causadores de toxinfecções alimentares transmitidas pelo leite fluido;
- Entender os métodos de tratamento térmico para controle da população microbiana no leite;
- Apontar os principais micro-organismos de interesse no leite e discutir os possíveis prejuízos causados tanto aos produtores quanto para o consumidor do leite contaminado.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Origem, definição e características do leite

As primeiras descrições do leite como alimento foram constatadas a partir de desenhos rupestres encontrados na região da mesopotâmia, tais desenhos foram datados de 20.000 anos a.C., e retratavam a aproximação de homens com cabras que eram comumente caçadas e que provavelmente foram a primeira fonte de leite de origem animal, contudo, o autor deixa claro que o primeiro registro histórico e concreto da utilização do leite como alimento é uma peça encontrada em Tell Ubaid, atual Iraque, datada de 3.100 a.C., esta ficou conhecida como “Friso dos ordenadores”(Fragmento em: Figura 1). Vale salientar que no desenho completo podem ser verificadas não só a ordenha, mas também a filtragem do leite (COSTA, 2006).

FIGURA1 – Fragmento do “Friso dos Ordenhadores: Ordenha”



FONTE: COSTA 2006

No Brasil o leite de consumo originou-se devido à exploração do gado trazido durante o período de colonização. A utilização do gado no Brasil se deu de forma bastante comum, ou seja, este era utilizado como força de trabalho nas lavouras de cana de açúcar e logo depois, foi bastante utilizado também para a pecuária de corte que se desenvolve em regiões como Goiás e o Sul do país. (COSTA, 2006)

O século XIX apresentou uma importante característica no que tange o consumo e a produção de leite. Durante este século a pecuária leiteira era secundária a produção de café, e o setor era mantido por poucas unidades com este fim. A criação de gado com o intuito leiteiro ganhou relevância somente após o esgotamento do solo pela produção cafeeira, qual forçou os produtores a buscar novas atividades; dentre as que emergiam, a de maior destaque foi a pecuária leiteira, admitida principalmente na região do Vale do Paraíba (ZOOCAL; GOMES, 2005).

Os estudos relacionados ao leite apontam que as proteínas, sais minerais e vitaminas são nutrientes fundamentais para a vida do ser humano. O leite sendo uma fonte importante destes componentes torna a sua produção e de seus derivados extremamente relevantes para a sociedade, pois como ressalta Martins e Carvalho (2005) este produto devido a sua composição é considerado um alimento completo, essencial para o desenvolvimento das crianças e adolescentes e fundamental na alimentação de adultos e idosos.

Com intuito de conceituar diretamente o leite pode-se dizer que é o produto natural íntegro, não adulterado e sem colostro de ordenha completa e contínua além de ser rico em nutrientes, e apresenta um ótimo meio de cultura para micro-organismos potencialmente patogênicos ao ser humano (SANTANA et al., 2004).

Ordoñez (2005) conceitua o leite na perspectiva biológica como sendo o produto da secreção das glândulas mamárias de fêmeas mamíferas, cuja função natural é a alimentação dos recém-nascidos. No entanto o autor sinaliza que o leite é de vital importância na fase inicial da vida humana, pois, este possibilita amamentar, nutrir e ajudar para o crescimento de forma saudável.

O autor supracitado ainda traz o conceito de leite do ponto de vista físico-químico pontuando que o leite é uma composição de várias substâncias, tais como, lactose, glicérides, proteínas, sais, vitaminas, enzimas, etc. Sendo que alguns destes componentes encontram-se em emulsão (como a gordura e as substâncias associadas), podem encontrar-se também em suspensão (as caseínas ligadas a sais minerais) e por fim podem ser encontradas em dissolução verdadeira (como é o caso lactose, vitaminas hidrossolúveis, proteínas do soro, sais, etc.).

Diante do exposto torna-se imprescindível conhecer os componentes do leite. Desta forma, Martins e Carvalho (2005) descreve a composição do leite sucintamente como parte proteica (3,6%, composta por um grande número de aminoácidos essenciais, tais como, triptofano, treonina e isoleucina, leucina, lisina,

metionina, histidina, fenilalanina e valina), lactose (4,5%), lipídios (3,6%), água (87,5%), vitaminas e sais minerais (0,8%).

Dentre todos os minerais que compõem o leite, o cálcio é o de maior importância, pois, é o integrante fundamental dos ossos, sendo necessário em todas as fases da vida humana; na infância até a adolescência quando é essencial para o desenvolvimento e calcificação óssea e na vida adulta com intuito de prevenir a reabsorção óssea, evitando a instalação do quadro de osteoporose. (YAMAGUCHI et al., 2007).

O leite é uma suspensão que possui características organolépticas peculiares, devido à alta quantidade de lactose, quando fresco, possui um sabor levemente adocicado, qual se torna mais agradável à medida que é aumentada a quantidade de gordura (VENTURINE; SARCINELLE, 2007). No que diz respeito ao odor o autor afirma que o leite possui odor suave, brevemente ácido, que remete ao animal que o produziu e quando recém-ordenhado termina por admitir o odor do local em quem foi realizado o trabalho. Contudo este ainda ressalta que tais odores tendem a desaparecer em algumas horas.

O leite também possui uma característica de extrema importância que acredita-se que seja a que mais o identifica, está relacionada a cor, sendo este, de cor branco-amarelado levemente opaca, que está associada a substâncias lipossolúveis como caroteno e riboflavina. A soma das características anteriormente citadas confere um aspecto líquido homogêneo, composto por uma camada fina de gordura que surge quando deixado em repouso (VENTURINE; SARCINELLE, 2007).

3.2 Composição do leite

O leite é um alimento composto por água, lactose, proteínas, gorduras e minerais, sendo todos estes, de alta biodisponibilidade para humanos (Figura 2). Frente a importância, principalmente no que tange a utilização destes componentes no metabolismo bacteriano, torna-se de fundamental importância elencar cada um desses componentes separadamente:

3.2.1 Água

A água é um dos componentes primordiais que integram o leite, embora os arcabouços teóricos abordem sucintamente sobre esse componente, Silva et al.,

(2007) afirma que a água é o constituinte mais importante, pois, nela estão dissolvidos, dispersos ou emulsionados os demais componentes. Vale a pena ressaltar que a maior parte da água é livre, contudo, uma pequena parte está ligada a proteínas, a lactose e substâncias minerais.

Figura 2 – Desenho esquemático dos componentes do leite.



Fonte: Adaptado de Walstra (2001)

3.2.2 Lactose

A lactose encontra-se presente em níveis próximos a 45-50 g/L, representa mais de 99,9% dos glicídios presentes no leite tornando-se assim, o principal componente depois da água (WALASTRA, 2001)

Tal carboidrato é o responsável pelo sabor adocicado do leite e é passível de fermentação por micro-organismos, que podem metaboliza-lo em ácido láctico, álcool etílico ou butírico conforme o agente. (SÁ, 2004; CALDEIRA et al., 2010)

3.2.3 Proteínas

As proteínas presentes no leite têm como percussores para a síntese, os aminoácidos livres do sangue e as proteínas séricas; tais fontes de aminoácidos respondem com 90% e 10% respectivamente. O resultado da síntese na glândula

mamaria é um *pool* de proteínas específicas, dentre as quais a de maior relevância é a caseína, qual responde por 80% das proteínas lácteas sendo as demais (20%), proteínas do soro, como pode ser observado na tabela 1 (GONZÁLES; CAMPOS 2007, LIVNEY, 2010).

Tabela 1 – Principais proteínas do leite

Proteínas	Quantidade no leite g/L
Caseínas	24-28
α s1	12-14
α s2	9-11
β	9-11
κ	3-4
Proteínas do soro	5-7
B-lactoglobulina	2-4
A-lactalbumina	1-1,5
Albumina sérica	0,1-0,4
Imunoglobulinas	0,6-1,0
Lactoferrina	0,1
Membrana dos glóbulos de gordura	0,4
Total de proteínas do leite	30 – 35

FONTE: Adaptado de LIVNEY (2010).

De acordo com Fox e Brodtkorb (2008) 95% da caseína no leite está presente na forma de partículas coloidais, conhecidas como micelas (Figura 3), que é a responsável pela singular estabilidade térmica do leite qual torna possível a produção de produtos lácteos esterilizados e conseqüentemente com vida de prateleira longa.

3.2.4 Gorduras

A gordura do leite, na sua maior proporção, está formada por triglicerídeos (97-98%), pequenas quantidades de esteróis, ácidos graxos livres e fosfolípidios. Os glóbulos de gordura encontram-se protegidos por uma membrana de natureza proteica, na qual ficam associados fosfolípidios, proteínas e outras substâncias (TRONCO, 2008)

3.2.5 Vitaminas

A glândula mamária não pode sintetizar vitaminas, portanto, para sua secreção no leite depende do aporte sanguíneo. As vitaminas podem ser sintetizadas pelas bactérias do rúmen ou podem ser convertidas na forma ativa a partir de provitaminas no fígado, intestino delgado e pele ou proceder diretamente dos alimentos. O leite contém todas as principais vitaminas (tabela 2). As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K são encontradas basicamente na gordura do leite, porém com limitadas quantidades de vitamina K (GONZÁLES; SILVA, 2006).

Das vitaminas hidrossolúveis, aquelas do complexo B são sintetizadas na microflora do rúmen e encontram-se presente no leite, contudo, o colostro contém mais tiamina, riboflavina, vitamina B6, colina, ácido fólico e vitamina B12 que o leite normal (ORDONEZ, 2005; GONZÁLES; SILVA, 2006; TRONCO, 2008)

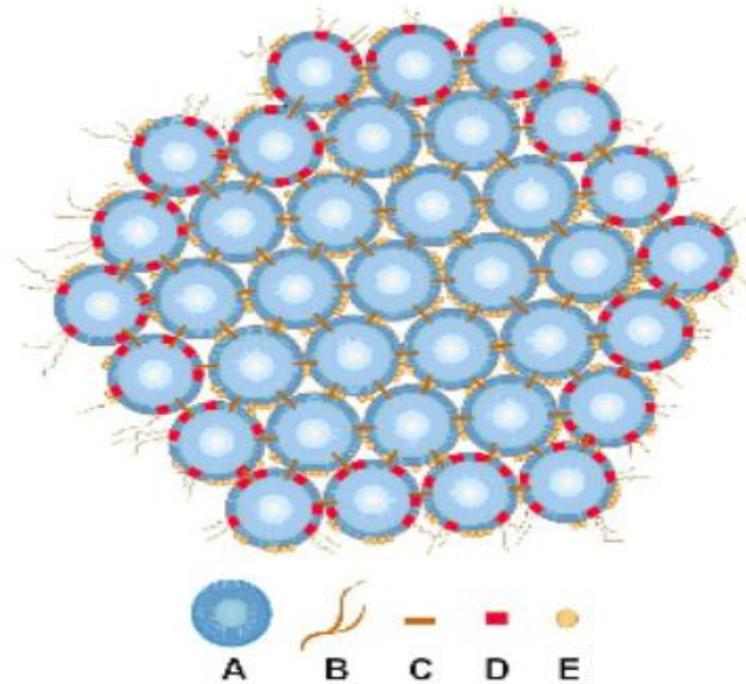
A vitamina C está presente no leite como duas formas ativas: ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico, porém o leite não constitui uma fonte importante de vitamina C, uma vez que grande parte do conteúdo em ácido ascórbico do leite fresco é destruído no processo de pasteurização (VENTURINI; SARCINELLE, 2007).

Tabela 2 – Principais vitaminas do leite de vaca

Vitamina	Conteúdo
(UI/L)	
Vitamina A	1.511
Vitamina D	13,7-33,3
(mg/L)	
Vitamina B6	0,66
Vitamina B12	0,0044
Vitamina E	1,01
Colina	125
Ácido ascórbico	21,8
Ácido pantotênico	3,57
Ácido nicotínico	0,97
Riboflavina	1,81
Inositol	110

FONTE: Adaptado de GONZÁLES; SILVA, (2006).

Figura 3 – Desenho esquemático Micela de Caseína



Legenda: A- Submicela; B: cadeias proteicas, C: Fosfato de cálcio, D: k-Caseína, E: grupo fosfato

Fonte: www.food-info.net/images/caseinmicelle.jpg

3.2.6 Minerais

O cálcio e o fósforo são os minerais encontrados em maior abundância no leite, estando em sua maioria associado à estrutura das micelas de caseína, contudo, é necessário ressaltar que uma pequena porcentagem do cálcio, magnésio e fósforo encontram-se livre no leite; 25%, 20% e 44% respectivamente, como pode ser observado na tabela 3. (GONZALES et al., 2011)

Tabela 3 – Principais minerais presentes no leite

Mineral	%do leite total	% em forma solúvel
Cálcio	0.12	24
Fósforo	0.10	44
Potássio	0.15	100
Cloro	0.11	100
Magnésio	0.01	20
Sódio	0.05	100

Fonte: Adaptado de GONZALES et al. (2011).

3.3 Propriedades físico-químicas

De acordo com a instrução normativa Nº62/2011 o leite deve obedecer alguns requisitos físico químicos para ser considerado como em regularidade. O estabelecimento desses níveis visa garantir a preservação da estabilidade da solução e as propriedades organolépticas (BRASIL, 2011).

Segundo Gonzáles et al. (2011), o leite pode ser caracterizado como uma suspensão de micelas de caseína e associado a uma emulsão de glóbulos de gordura, sendo que estas estão suspensas em etapas aquosas que contem além dos componentes supracitados cálcio e fósforo.

Conforme ressalta o Ministério da Agricultura através dos métodos analíticos para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes, o leite deve estar em conformidade quanto à acidez titulável, densidade, ponto crioscópico, teor de gordura, determinação do extrato seco total e determinação do extrato seco desengordurado, e estes tiveram seus valores revisados recentemente pela instrução normativa Nº62/2011 (BRASIL, 2011). Como pode ser observado na tabela 4:

Tabela 4 - Requisitos físico-químicos segundo o anexo IV da Instrução Normativa Nº62 para leite cru refrigerado.

Requisitos	Limites
Matéria Gorda, g/100 g	Teor Original, com o mínimo de 3,0
Densidade relativa a 15/15°C g/ml	1,028 a 1,034
Acidez titulável, ácido láctico/100 g	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado, g/100 g	Min 8,4
Índice Crioscópico	-0,530 ^o H a -0,550 ^o H (equivalentes a -0,512 ^o C -0,531 ^o C)
Proteínas, g /100g	Mín. 2,9

Fonte: Adaptado de Brasil (2011).

3.4 Classificação dos tipos de leite

A legislação vigente legalmente respaldada pela instrução normativa Nº 62/2011 extinguiu tanto o leite do tipo B quanto o C, normatizando o leite em dois tipos

antes de serem processados nos laticínios, sendo estes, classificados como leite cru refrigerado tipo A e leite cru refrigerado. Neste sentido se faz necessário diferenciá-los, entendendo-se por leite cru refrigerado tipo A integral, o ingrediente obrigatório para a obtenção dos demais tipos de leite A, que após o processamento irão assumir nomenclatura de venda como leite pasteurizado tipo A integral, leite pasteurizado tipo A semidesnatado e por fim leite pasteurizado tipo A desnatado (BRASIL, 2011).

De forma que o leite tipo A deve ser produzido, beneficiado e envasado na granja leiteira, sendo que tal propriedade não pode receber leite de outros produtores. A ordenha deve ser obrigatoriamente mecânica e realizada em uma sala própria para este fim, com canalização do leite em circuito fechado e resfriamento em tanques de expansão à no máximo 4°C (BRASIL,2011)

O resultado dessas exigências pode ser percebido na qualidade final do produto, a ausência de contato do leite como meio externo reduz significativamente a possibilidade de contaminação. Já a inexistência da etapa de transporte da matéria-prima faz com que a pasteurização ocorra geralmente em um curto intervalo de tempo depois da ordenha, minimizando as possíveis alterações promovidas por microrganismos durante a refrigeração do leite. Por isso, os parâmetros microbiológicos para o leite pasteurizado tipo A são também mais rigorosos que para o leite pasteurizado resultando, na prática, em um prazo de validade maior para o leite tipo A (BRASIL, 2011; BOZO et al., 2013).

Ainda contextualizando sobre os tipos de leite, entende-se leite cru refrigerado como o produto obtido da ordenha completa, ininterrupta, em técnicas de assepsia. Essa matéria prima deve ser transportada ao laticínio em caminhões isotérmicos e beneficiado num prazo máximo de 48 horas, período no qual deve obrigatoriamente permanecer refrigerado em tanques de expansão (no máximo à 4°C) ou de imersão (no máximo à 7°C), ou ainda ser entregue em temperatura ambiente em até 2 horas após a ordenha. Salienta-se também que após a pasteurização ou esterilização o leite cru refrigerado pode ser destinado ao consumo direto ou para a transformação em derivados lácteos em todos os estabelecimentos de laticínios submetidos à inspeção sanitária oficial (BRASIL, 2011).

3.5 Tratamento térmico para controle da população microbiana no leite

A história do tratamento térmico está associada ao início da utilização do fogo, onde as altas temperaturas promoviam efeitos deletérios sobre os micro-organismos, diminuindo a carga infectante, sendo assim, o tratamento térmico até os dias atuais, vem sendo utilizado com o mesmo interesse: realizar o controle microbiológico diminuindo conseqüentemente os riscos à saúde dos consumidores e prevenindo ou retardando as alterações indesejáveis nos alimentos (GUIMARÃES, 2002 FEHLHARBER; JANETSCHKE, 2005).

Maciel et al. (2008), cita que os micro-organismos potencialmente patogênicos ao ser humano podem ser facilmente encontrados no leite in natura, sua constituição faz com que este se torne um excelente meio de cultura para tais micro-organismos. Dessa maneira, preconiza-se que antes de ser consumido ou processado deve-se proceder algum tipo de tratamento térmico no leite (SILVA et al 2010; HILL et al, 2012).

3.5.1 Pasteurização

A Organização Mundial da Saúde delibera como pasteurização o procedimento aplicado visando reduzir ao mínimo os possíveis perigos para a saúde, proveniente dos micro-organismos patogênicos associados ao leite, mediante tratamento térmico (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2003).

Embora o processo de pasteurização tenha eficácia comprovada na eliminação de patógenos esta não possui a capacidade de recuperar a integridade de um leite de qualidade duvidosa. Sendo assim, devemos ponderar que o leite pasteurizado permanece com uma carga infectante residual em torno de 0,1% a 0,5%, devendo ser consumido em um curto espaço de tempo. Considerando a população microbiana antes do processo de pasteurização devemos lembrar que, quanto maior a carga infectante, antes do processo maior será a carga infectante residual (GUIMARÃES, 2002).

Segundo Silva et al. (2008), a pasteurização aplicada ao leite quando realizada de forma sistemática e obrigatória, reforça a segurança no aspecto sanitário, tornando-se um recurso fundamental para a indústria, de forma que, grande parte dos micro-organismos patogênicos não resiste ao binômio tempo-temperatura a que geralmente o leite é submetido. Deve-se ressaltar as a formas mais comuns de

pasteurização, são: pasteurização lenta (63°C/ 30 minutos) ou rápida (72°C/ 15 segundos).

3.5.1.1 Pasteurização Lenta

A pasteurização lenta em escala industrial é realizada em tanques de parede dupla, onde o vapor hiperaquecido é injetado com o intuito de fazer com que a temperatura do leite atinja no mínimo 60°C e varie até no máximo até os 65°C, permanecendo obrigatoriamente nessas temperaturas durante 30 minutos resfriando-o imediatamente e bruscamente após esse tempo a 5°C ou menos. A vantagem deste sistema é que conserva as propriedades do leite o mais aproximado do seu estado in natura (BRASIL, 2003).

Mesmo atingindo temperaturas menores que os outros métodos de tratamento térmico a pasteurização lenta consegue eficiência superior a 98%, no entanto possui algumas desvantagens, a de ser um processo demorado, descontínuo e com operação manual (LEITE et al., 2006).

3.5.1.2 Pasteurização Rápida

Na pasteurização rápida tipo alta temperatura curto tempo são utilizadas temperatura mais altas da ordem de 72° a 75°C durante 15' a 20', tal processo é realizado através de placas trocadoras de calor, onde circula vapor d'água hiperaquecido a fim de elevar a temperatura e logo após água resfriada, com intuito de promover choque térmico, sendo tais processos juntos, capazes de destruir micro-organismos, tais como, as bactérias gram-negativas, algumas bactérias gram-positiva e fungos (TRONCO, 2008; BRASIL, 2002).

3.5.2 Esterilização

O processo de esterilização é um método de tratamento térmico que possibilita a inativação de todos os micro-organismos incluindo os esporulados, portanto, esse procedimento garante ao leite e aos seus derivados casos submetidos esse tipo de tratamento, um tempo maior de prateleira (FEHLHARBER; JANETSCHKE, 2005; ORDOÑEZ, 2005).

Quando se trata de esterilização com intuito comercial do leite fluido é citado na literatura dois processos distintos passíveis de serem realizados, o primeiro a ser

descrito é rotineiramente utilizado pela indústria que é denominado por Ultra Alta Temperatura (UAT), já o segundo conhecido como autoclavagem é menos utilizado na indústria, sendo que ambos garantem a viabilidade de consumo do produto até 120 dias após a produção mesmo conservada a temperatura ambiente (TRONCO, 2008).

3.5.2.1 Leite esterilizado e embalado assepticamente

O método de obtenção do leite UAT baseia-se no princípio da troca de calor entre o leite e os dispositivos metálicos (placas ou tubos) quais, tem como fonte de calor, o vapor d'água. Uma das características principais desse método é o fluxo ininterrupto de processamento do leite, qual deve estar devidamente pré-aquecido em temperaturas entre 70°C e 80°C antes de adentrar no circuito. Vale a pena ressaltar que a homogeneização pode ser feita antes ou após a esterilização, ao fim dessa etapa o leite é resfriado e torna apto a ser embalado assepticamente. A principal característica deste tratamento térmico é o emprego de temperaturas entre 140 e 150 °C durante 2 a 4 segundos para esterilização do produto (SÁ; BARBOSA, 1990; TORTORA, 2012; TRONCO, 2008).

Ainda sobre a ótica de Sá e Barbosa um dos fatores determinantes para a conservação da qualidade do leite UAT é a embalagem, feita de papelão na forma tetraédrica esterilizadas por banho de água oxigenada, desenvolvidas por uma associação de alguns pesquisadores e a indústria sueca de embalagens TetraPak. Ainda faz parte do processo o acondicionamento do produto obtido da esterilização, tal processo inicia com o papelão enrolado que aos poucos transforma-se em um tubo sendo nesse momento efetuada a esterilização química com o peróxido de hidrogênio. Por fim as embalagens são cortadas e modeladas, saindo das máquinas prontas para serem acondicionadas em suas embalagens de transporte. (VICENTE et al., 2006).

3.5.2.2 Autoclavagem

A autolavagem consiste no processo em que após embalado o leite é submetido a temperaturas entre 110°C a 120°C durante 10 a 15 minutos e resfriados em seguida a temperatura ambiente. Este método de tratamento térmico garante a inativação de todos os micro-organismos incluído os vegetativos e esporulados (TRONCO, 2008).

3.6 Micro-organismos de interesse no leite

Existem muitas doenças relacionadas ao consumo de alimentos contaminados com micro-organismos potencialmente patogênicos causadores de toxinfecções alimentares, que colocam em risco a saúde dos consumidores. Entre estes micro-organismos podem-se citar: coliformes fecais, *Salmonella* sp. E *Brucella* sp. A pesquisa de coliformes fecais, especialmente *Escherichia coli* (*E. coli*) nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e a indicação da eventual presença de enteropatógenos. *E. coli* é responsável por inúmeros surtos de gastroenterites em humanos após ingestão de alimentos contaminados com este microrganismo, incluindo leite e seus derivados. (NERO, 2003; WELKER, 2010; FERREIRA, 2011).

A contaminação microbiana do leite pode ocorrer por duas vias principais: através da incorporação de micro-organismos que estão presentes no úbere, diretamente para o leite; ou através do contato com utensílios e equipamentos contaminados durante as operações de ordenha ou da coleta e armazenamento. Neste último caso, deve-se ressaltar a importância do homem como principal veiculador de micro-organismos em alimentos de um modo geral (JAY, 2005; FERREIRA, 2007).

Vale salientar que os micro-organismos desempenham papel fundamental nos alimentos, sendo possível classificá-los em três grupos de acordo com a interação entre eles e o alimento: a) Micro-organismos promotores de deterioração dos alimentos (alteração da textura, aroma, aspecto, cor e sabor); b) Micro-organismos patogênicos que refletem condições insuficientes de higiene durante a produção, processamento, armazenamento, distribuição e/ou manuseio (foco deste trabalho) e; c) Micro-organismos presentes ou inoculados propositalmente no alimento, com o intuito de alterar suas características originais a fim de transformá-lo em um novo alimento (SILVA et al., 2010).

Cliver (2002) aponta como componente da microbiota normal do leite as bactérias do gênero *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactococcus* e *Lactobacilos*. Contudo micro-organismos patogênicos no leite são identificados comumente e têm como origem principalmente o úbere, equipamentos e fomitês utilizados durante a ordenha, a água, bem como, a veiculação pessoal por parte dos

ordenadores sendo que o solo, ração animal, plantas, ar e poeira também são descritos como fontes de infecção (WELKER, 2010; MENEZES 2015).

Como citado anteriormente, é importante considerarmos que no período de 2000 a 2014 foram registrados 9.719 surtos de intoxicações ou infecções alimentares, transmitidas por alimentos, no Brasil totalizando 19.803 doentes sendo que os estudos epidemiológicos realizados pelo Ministério da Saúde apontam o leite e seus derivados como responsáveis por 6,9% dessas infecções (SINAN, 2014)

Diante destes fatos torna-se necessário ressaltar que mais de 90% dos casos de Doenças Transmitidas por Alimentos tem como causa base os agentes bacterianos ou suas toxinas (SILVA et al., 2010). Chye et al. (2004), menciona que algumas bactérias patogênicas podem estar intimamente ligadas com o consumo do leite, dentre essas, o autor destaca *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* sp., *Staphylococcus aureus*, *Brucella* sp., e *Mycobacterium* sp. Neste prisma torna-se necessário elencar de maneira mais específica as bactérias supracitadas.

3.6.1 *Brucella* sp.

As bactérias do gênero *Brucella* sp, são as responsáveis por causar a doença conhecida como brucelose bovina, os integrantes desse gênero têm por características serem gram-negativas, não formadoras de esporos morfológicamente semelhantes a cocobacillus, imóveis, intracelulares facultativos, podem se apresentar em cultivos com morfologia colonial lisa ou rugosa. Trata-se de uma enfermidade infecto contagiosa, que acomete inúmeras espécies de animais silvestres e domésticos; possuindo também a capacidade de infectar o homem, sendo que nessa espécie a *B. melitensis* é a mais importante clinicamente. (PESSEGUEIRO et al., 2003, LAWINSK et al., 2010).

A Organização de Alimentos e Agricultura (FAO – *Food and Agriculture Organization*) junto com a Organização Mundial da Saúde (WHO - *World Health Organization*), concordam que tal enfermidade é de distribuição mundial, também, conhecida por ocasionar perdas de ordem econômica, podendo gerar prejuízos de até 20% na produção bovina de carne e leite, sendo ainda considerada como a zoonose de extrema relevância para a Saúde Pública, em detrimento ao seu caráter ocupacional que termina por expor as pessoas que trabalham na indústria de

processamento de carnes e leite assim como veterinários, empregados rurais e técnicos que lidam diretamente com bovinos, ou ainda, pesquisadores que desenvolvem atividades com o microrganismo isolado em laboratório (BRASIL, 2001, VASCONCELLOS; ITO, 2011).

O consumo do leite e seus derivados quando não tratados termicamente terminam por se tornar fonte de infecção de *Brucella* sp. aos humanos. Estudos realizados por produzido por Huddleson et al. (1927, apud VASCONCELLOS; ITO 2011), destaca que no leite de vacas naturalmente infectadas houve sobrevivência da bactéria com capacidade infectante por 38 dias, à temperatura de 15°C e nos produtos lácteos elaborados com o leite de vacas brucélicas, tais como a manteiga, iogurtes e queijos as brucelas permaneceram viáveis por mais de 40 dias em condições de conservação ambiente. As células desse microrganismo podem infectar cronicamente os linfonodos supra mamários em até 80% dos animais infectados, fazendo com que, estes animais venham a excretar o patógeno e seus fluidos corporais, tais como, o leite. (RADOSTITS et al., 2002)

Vale salientar que os processos de tratamento térmico são as melhores formas de inativar os organismos do gênero *Brucella* sp., tais processo aliados aos Programas de Sanidade Animal do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento tem como objetivo diminuir os impactos negativos destas zoonoses na saúde da comunidade e promover o aumento da sanidade de maneira geral da pecuária nacional (BRASIL, 2003).

Contudo, é descrito na literatura que uma parte da população brasileira, principalmente aquela com baixa renda familiar e diminuto grau de instrução, levam pouco em consideração os aspectos higiênico/sanitários, admitindo o hábito de ingerir leite cru ou de produtos lácteos fabricados com leite cru, sendo provável que uma parcela dos casos que acometem esta população não esteja sendo diagnosticada (MACIEL et al., 2008; VASCONCELOS; ITO, 2011).

3.6.2 *Mycobacterium bovis*.

Mycobacterium bovis é o agente causador da tuberculose nos bovinos e apesar dos indivíduos dessa espécie serem considerados seu verdadeiro hospedeiro, este gênero de bactérias acomete inúmeras outras espécies de aves e mamíferos, sendo que nos humanos, é responsável por parte dos casos da doença. A bactéria tem por

característica admitir forma bacilar, ser álcool-ácido resistente (BAAR), imóvel, não formadoras de esporos e de caráter intracelular facultativo (TORTORA, et al., 2012).

A zoonose promovida pela bactéria é caracterizada pela formação de lesão do tipo granulomatosa, de aspecto nodular, denominada “tubérculo”, cujo hospedeiro primário é o bovino. Outro aspecto importante a ser considerado é a cadeia epidemiológica do patógeno, que é tida como uma das mais amplas entre os micro-organismos causadores de doenças que se tem conhecimento; e o homem dentro desta cadeia, pode tanto contrair a doença de diferentes espécies animais quanto transmitir-lhes a infecção. (ABRAHÃO et al., 2005; VASCONCELLOS; ITO, 2011)

Organização Mundial da Saúde (WHO, 1997) estima que cerca de 95% dos casos de Tuberculose ocorrem nos países em desenvolvimento sendo que nesses países se dão 98% dos óbitos pela doença. Ainda é digno de ressalva o fato que 80% dos casos estimados no mundo ocorrem em 22 países, entre os quais encontra-se o Brasil, ocupando o 10º lugar. Contudo é necessário concordar com Abrahão, Nogueira e Malucelli (2005), quanto a falta de informações que elucidem a prevalência da tuberculose causada por *M. bovis* no Brasil, ainda sim o autor supracitado atribui 10% dos casos de tuberculose clínica em humanos ao patógeno em questão (WHO, 1997, ABRAHÃO et al., 2005).

Radostits et al., (2002) afirma que, o bovino elimina o bacilo da tuberculose de forma viável no leite, no ar expirado, no corrimento nasal, nas fezes, urina, nas secreções vaginais e uterinas, e pelo sêmen. Dessa maneira tanto o leite quanto os produtos lácteos provenientes de vacas tuberculosas, quando não tratados termicamente constituem uma das principais formas de infecção humana pelo *Mycobacterium bovis*.

A doença promovida pelo *M. bovis* pode apresentar duas apresentações clínicas distintas em humanos; a primeira, tida como extrapulmonar é conhecida por ser comum em crianças, envolve linfonodos cervicais, o trato intestinal ou as meninges, resultando em apresentação clínica localizada em gânglios, tecidos ósteo-articular ou como meningite; e a segunda, denominada tuberculose pulmonar, transmitida do animal para o humano diretamente pela via aerógena a partir da inalação do *M. bovis* ou indiretamente pelo consumo de leite e seus derivados não fervidos ou pasteurizados (ABRAHÃO et al, 2005)

A tuberculose tem sua relevância social aumentada quando consideramos a infecção do *M. bovis* secundária a infecção do HIV/AIDS. Tal combinação é

responsável por promover elevadas taxas de mortalidade humana, pesquisadores têm alertado para o risco de consumo de leite e produtos derivados crus por pessoas soropositivas para HIV, principalmente em países em desenvolvimento, onde as prevalências de tuberculose bovina são significativas. A referida combinação é vista com muita preocupação, principalmente para países em desenvolvimento, por poder complicar tanto a epidemia humana de tuberculose causada por *M. bovis*, como a situação da tuberculose bovina, já que o bacilo pode ser retransmitido de pessoas a bovinos (COSIVI et al., 1998)

Visando diminuir o impacto negativo que essa zoonose vinha causando a sociedade o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento lançou em 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose, com a proposta de não ser apenas mais um programa do governo federação e dos estados, mas sim um projeto que visa o envolvimento de todo setor produtivo e suas comunidades, ou seja, o setor público deverá atuar como agente certificador dentro de um processo que envolve diretamente toda a cadeia produtiva. Desta forma, as ações deste programa, estão sendo implementadas em todo o país, que resultarão em amplo debate sobre o problema e incorporará a opinião de técnicos e entidades envolvidas (BRASIL, 2001).

Contudo para ter sucesso e cumprir de fato a proposta que carrega e seu nome, o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose precisa instituir concomitante as ações sanitárias, ações educacionais, a fim de elucidar tanto para o produtor quanto para as demais esferas da sociedade os objetivos do projeto; tornando mais fácil a execução das medidas sanitárias de controle contidas no programa. Nesse momento devemos ressaltar para o papel primordial que as autoridades regionais de saúde pública devem assumir (VASCONCELOS; ITO, 2011).

3.6.3 *Salmonella* spp.

Devido a capacidade que as bactérias desse gênero têm de produzir infecções que, que vão de gastroenterites a septicemias, todas as salmonelas são motivo de preocupação à saúde pública. Tais bactérias tem por característica serem bastonetes Gram-negativos não produtores de esporos, são anaeróbios facultativos e a maioria é móvel através de flagelos peritricílios (LEITE, et al., 2006; TORTORA, et al., 2012)

As doenças causadas por *Salmonella* sp. costumam ser subdivididas em três grupos: a febre tifoide, causada por *Salmonella typhi*, as febres entéricas, causadas por *Salmonella paratyphi* A, B e C, e as enterocolites ou salmoneloses, causadas pelas demais salmonelas (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O período médio de incubação da doença é de 18 horas, contudo o período entre 5 a 72 horas pode ser considerado até o aparecimento dos primeiros sintomas ou sinais como diarreia, dor abdominal, calafrios, febre, vômitos, desidratação, prostração, anorexia, cefalalgia e mal-estar são os sinais e sintomas clínicos mais comuns, podendo haver também septicemia e infecção focal (osteomielite, meningite, pneumonia, pielonefrite, endocardite e artrite supurativa). Em crianças, idosos e pessoas imunodeprimidos, a salmonelose pode apresentar um quadro grave e, inclusive, levar à morte (FRANCO et al., 2000, FRANCO; LANDGRAF, 2005)

Salmonelas são primariamente patógenos de animais como aves domésticas, bovinos, suínos, pássaros, ovinos, focas, macacos, lagartos, tartarugas e serpentes; que constituem as principais fontes de salmoneloses não-tifoides em humanos. É interessante notar que os humanos são os únicos reservatórios conhecido de *S. typhi* (KONEMAN et al., 2008). As aves e bovinos são responsáveis pela maior disseminação desse agente patogênico de forma que as infecções por *Salmonella* em bovinos leiteiros são comuns, a contaminação quase sempre se origina em uma vaca que elimina o agente com as fezes, podendo também ser eliminado pelo leite, (RADOSTITS et al, 2002)

Surtos de salmonelose humana foram relatados em diversos países que tiveram o leite e derivados como alimentos implicadores, sendo encontrada associação com o consumo de leite cru, leite em pó, sorvetes, leite pasteurizado, queijos frescos elaborados a partir de leite pasteurizado ou cru e queijos diversos (MARTH; STEELE, 2001). Levantamentos epidemiológicos realizados em vários países situam as salmonelas entre os agentes patogênicos mais frequentemente encontrados em surtos de doenças transmitidas por alimentos, tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento, sendo que os produtos lácteos ainda figuram entre os principais veículos de transmissão de *Salmonella* spp. Neste âmbito devemos salientar que a maioria das infecções foram atribuída ao leite ou queijo não pasteurizados, oriundos de bovinos, tornando crescentes os relatos de envolvimento de produtos contaminados pós-pasteurização (FRANCO et al., 2000, LEITE et al., 2006)

No Brasil dados apresentados pelo Ministério da Saúde estimam que de 2000 a 2014 ocorreram 1.564 surtos de doenças transmitidas por alimentos causada por *Salmonella spp.*, tal patógeno responde por 38,2% das DTA's, colocando-as assim no primeiro lugar em ocorrências em território nacional (SINAN, 2014), sendo consumo de carne, leite e seus derivados quando não tratados termicamente, posteriormente contaminados ou mal conservados os maiores implicadores de novos surtos(MARTH; STEELE, 2001; SILVEIRA; BERTAGNOLLI, 2014).

3.6.4 *Escherichia coli* O157:H7

A *E. coli* ocorre tanto em mamíferos como em aves, tendo como característica ser uma bactéria anaeróbica facultativa, Gram-negativa e pertencente à família Enterobacteriaceae (TORTORA et al., 2012). Podendo assim, provocar patologia tanto nos homens como nos animais (MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006, BARROS et al., 2013).

A constatação da *E. coli* O157:H7 como um patógeno ocorreu em 1983 quando foi observado uma doença gastrointestinal que apresentava dor abdominal severa, diarreia líquida inicialmente e sanguinolenta após, e em alguns caso a presença de pouca febre; após terem ingerido hambúrgueres pouco cozidos em um restaurante de venda de fast-food (MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006 SES/SP, 2011).

A *Escherichia coli* do sorotipo O157: H7, é comumente encontrando no trato gastrointestinal de bovinos saudáveis, dessa forma, observa-se que ele é o principal reservatório para a continuidade da existência da doença (FORSYTHE, 2013).

A contaminação ocorre quando há contato da glândula mamária da vaca leiteira, com o conteúdo fecal do bovino, e também pode ocorrer através da utilização de equipamentos contaminados na retirada do leite. No humano, o contágio pode ocorrer principalmente através do consumo de alimentos contaminados como a carne crua ou malcozida e o leite que não passou pelo tratamento térmico. Além disso, outras formas de transmissão para o humano são a água e outros alimentos contaminados por conteúdo fecal, pode ocorrer a contaminação cruzada a partir da manipulação dos alimentos e ainda por contanto direto entre as pessoas (RADOSTITS et al., 2002).

A *Escherichia coli* O157: H7 quando desenvolvem doenças em humanos, são conhecidas como entero-hemorrágicas (ECEH) ou também por verotoxinas (ECVT).

Essa cepa patogênica pode causar doenças como a colite hemorrágica e quando apresenta seu estágio mais grave desenvolve a Síndrome Hemolítica Uremia (SHU) A SHU pode provocar falência renal e morte nos contaminados (RIBEIRO et al., 2009)

No rebanho bovino a *E. coli* provoca uma infecção na glândula mamaria chamada de mastite, agindo de forma aguda e de curta duração, sendo um risco para a saúde do animal contaminado, que termina por tornar-se, um disseminador crônico da doença para todo o rebanho, bem como fonte importante de infecção para o leite (RADOSTITS et al., 2002).

A *E. coli* sorotipo O157:H7 apresenta diferentes comportamentos quando exposta a temperaturas e armazenamentos variáveis, quando colocadas em temperaturas baixas principalmente entre 12°C a 22°C, apresentam resistência e multiplicação da cepa. Essa característica, favorece o desenvolvimento em leites não pasteurizados e mantidos em baixa temperatura (MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006).

Não há dados sistematizados sobre a *E. coli* O157:H7 no Brasil e nem sobre a SHU. Entretanto, estudos demonstraram a presença de *E. coli* O157:H7 em fezes de bovinos provenientes da Região do Norte Fluminense constatando-se assim, a possibilidade de veiculação desse agente pelo leite fluido cru ou por derivados elaborados a partir de leite não processado termicamente, ou mediante contaminação desses alimentos por excremento animal ou humano, de indivíduos que estejam infectados ou estejam portando a doença (GONZÁLEZ et al., 2010, BATISTA et al., 2014).

3.6.5 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é responsável por um dos tipos mais frequentes de intoxicação alimentar, comumente veiculada por leite e derivados. São descritos como micro-organismos mesófilos com temperatura de crescimento entre 7 e 47,8°C e podem produzir enterotoxinas termo resistentes a temperaturas entre 10 e 46° C, com temperatura ótima entre 40 e 45° C. Este grupo de micro-organismos ainda tem a capacidade de sobreviver e se multiplicar em uma concentração de cloreto de sódio de até 15% e a produção de enterotoxinas acontece em concentrações de sal de até 10%, o que faz com que os alimentos curados também sejam veiculadores potenciais de intoxicação (DE SANTANA et al., 2010)

A produção de enterotoxinas (EE) por outras espécies de estafilococos coagulase positivos (ECP), como *S. intermedius* e *S. hyicus*, e outras espécies de estafilococos coagulase negativos (ECN) já foi relatada. Porém, os surtos de intoxicação alimentar estão relacionados à contaminação de alimentos por *S. aureus* enterotoxigênicos. (SES/SP, 2014). A importância dos ECN em diversas patologias de seres humanos e animais é indiscutível, mas sua participação em surtos de intoxicação alimentar não tem sido verificada (CARVALHO, 2002; TEBALDI et al., 2008)

O homem e os animais são os principais reservatórios de *S. aureus*, sendo a cavidade nasal do homem seu principal habitat, de forma que, o micro-organismo pode ser isolado em 30% a 50% dos indivíduos saudáveis. É a partir da cavidade nasal que o patógeno atinge a epiderme, ar, água, solo, alimentos, ou qualquer outro objeto que entre em contato com o indivíduo contaminado, sendo que os carreadores nasais de *S. aureus* ao manipularem alimentos terminam por tornar-se a principal fonte de contaminação (FRANCO; LANDGRAF, 2005; DE SANTANA et al., 2010).

S. aureus é um dos principais agentes causadores de infecções na glândula mamária de vacas produtoras de leite, sendo considerado o micro-organismo patogênico mais frequentemente isolado de leite cru e em quadros de mastite, apesar do *Staphylococcus aureus* já possa estar presente no leite principalmente daqueles provenientes de vacas infectadas, o isolamento do patógeno também pode ser causado por uma contaminação posterior, pois o tratamento térmico é eficiente para eliminar células viáveis dessas bactérias. (RADOSTITS et al, 2002; DE SANTANA et al., 2010)

Em estudo realizado por Carvalho et al. (2002), onde foram recuperadas 31 amostras de leite *in natura* e 64 alimentos envolvidos em intoxicações alimentares, constatou-se que quase a totalidade das amostras, eram positivas para a produção de ao menos uma das EE's testadas, sendo a Toxina da Síndrome do Choque Tóxico (TSST-1) mais frequente em leite (87,10%) e Enterotoxina Estafilocócica B (EEB) prevalecendo nas amostras dos surtos (65,63%).

Medidas para eliminar completamente *S. aureus* são inviáveis devido a sua ampla difusão, sendo assim devem ser instituídas práticas de fabricação que evitem a contaminação e subseqüentes proliferação do microrganismo em alimentos (ROCOURT et al., 2001).

As toxinfecções alimentares devem ser preocupação constante na indústria de laticínios, pois as oportunidades de contaminação são muitas e o leite e seus derivados são alimentos propícios ao crescimento microbianos. Portanto é importante que no momento da fabricação seja feito um controle das etapas do processo de fabricação que possam comprometer a qualidade microbiológica do produto (LEITE; WAISSMANN, 2012).

3.6.6 *Listeria monocytogenes*

De acordo com Silva et al., (2010), uma série de características faz com que *Listeria sp.*, especialmente *L. monocytogenes*, sejam micro-organismos emergentes de interesse na área de alimentos. Vários surtos e casos esporádicos de listeriose de origem alimentar ocorrido no Canadá, Estados Unidos e Europa fizeram com que aumentasse o interesse em detecção de *L. monocytogenes*, ocupando um importante papel no controle de qualidade na indústria de alimentos. Tais bactérias tem por característica a presença de flagelos peretríquios, que causam movimentos celulares rotatórios ou de tombamento, Gram-positivo, não esporulado, não-produtor de ácidos, aeróbio e anaeróbio facultativo, fermentadores de glicose e sem produção de gás (SILVA et al., 2007).

A *L. monocytogenes* está amplamente distribuída no meio ambiente, devido principalmente a sua capacidade de se desenvolver entre 0°C e 44°C, tal microrganismo pode ser isolado de várias fontes, incluindo água, solo, vegetação, nas fezes dos animais e dos do homem, sendo todas estas fontes de contaminação podem promover a infecção do leite, principalmente do in natura (JAY, 2005; SILVA et al., 2007).

As bactérias do gênero *Listeria sp.* estão ocasionalmente associadas a mastite em bovinos, tornando-se assim um risco para os consumidores de leites e produtos lácteos não tratados termicamente. Além do leite a *L. monocytogenes* pode ser encontrada em queijos com alta umidade, carnes frescas ou congeladas, frangos, estabelecendo que qualquer alimento fresco de origem animal ou vegetal pode apresentar número variado de *L. monocytogenes* (RADOSTITS et al, 2002; SILVA et al., 2010).

Ao contrário da maioria dos patógenos de origem alimentar, que geralmente provocam sintomas gastrointestinais, as principais manifestações clínicas da listeriose

são, inicialmente, semelhantes a um resfriado. A sintomatologia mais frequente é hipotermia, fadiga, podendo progredir para meningite, meningoencefalite, septicemia, aborto ou parto pré-maturo. A taxa de mortalidade encontra-se na faixa de 20-30% dos casos diagnosticados (RADOSTITS et al., 2002; DE SANTANA, 2010).

A listeriose ocorre em casos esporádicos ou em surtos epidêmicos, de forma que a ingestão de 100 a 1000 células de *L. monocytogenes* pode ser letal para fetos, crianças e imunodeprimidos. O número mínimo de células que deve ser ingerido para causar doença em indivíduos normais não é conhecido, variando conforme a suscetibilidade do hospedeiro, pH do suco gástrico e a virulência da cepa bacteriana. Indivíduos saudáveis consomem alimento contendo o microrganismo em pequeno número e não apresentam sinais de listeriose (ROCOURT et al., 2001; SILVA et al., 2007; LUZ et al., 2011).

Em estudo realizados, a respeito da qualidade microbiológica do leite recém-pasteurizado e leite ensacado de uma usina de beneficiamento em Campina Grande – Paraíba, enfatizando a detecção de *Listeria* spp. Levou os autores a observar que 33 (73,3%) das 45 amostras de leite cru, provenientes de 3 produtores e 9 (30%) das 30 amostras de leite pasteurizado (4 recém pasteurizadas e 5 ensacadas) estavam contaminadas com *Listeria* spp., sendo identificadas *L. monocytogenes* em 17 (51,5%) amostras de leite cru e em 9 (100%) de leite beneficiado (CATÃO; CEBALLOS 2001).

Nesse mesmo estudo foi observado também a variedade de espécies do gênero no leite *in natura*, de forma que foi constatado a presença de *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri* e *L. grayi*. Nas amostras de leite recém-pasteurizado, foram encontradas *L. monocytogenes* e nas de leite ensacado, *L. monocytogenes* e *L. innocua*, sugerindo a possibilidade de contaminação pós-pasteurização.

Sendo assim, ao considerar as informações anteriormente citadas fica visível problema de saúde pública, que pode ser causado pela *Listeria monocytogenes*, principalmente quando questionamos o consumo dos produtos lácteos por integrantes dos grupos de risco, recomendando-se cautela no consumo desses produtos aos indivíduos dessa população, principalmente quando não se conhece a origem do mesmo (CATÃO; CEBALLOS, 2001; ROCOURT et al., 2001; LUZ et al., 2011).

3.6.7 *Campylobacter* sp.

As espécies do gênero *Campylobacter* sp são conhecidas no meio científico por seu caráter ubiquitário, algumas como *Campylobacter jejuni*, *C. coli* e *C. lari* são isolados frequentes a partir de casos de gastroenterite humana, sendo *C. jejuni* a principal espécie associada as Doenças de Transmissão Alimentar. Estudos reportam o isolamento do microrganismo no trato gastrintestinal de diversos animais, o que pode contribuir para a contaminação de alimentos de origem animal, representando um risco potencial para a saúde pública. (BRASIL, 2011)

Campylobacter de acordo com Tortora et al. (2012), são bactérias gram negativas, microaerófilas, curvadas em espiral, que exigem condições de cultivo com baixo teor de oxigênio e alto teor de dióxido de carbono desenvolvido em sistemas especiais de cultivo; que antes de serem elucidados e devidamente aplicados, fazia com que tal gênero de microrganismo não fosse considerado patogênico, muito menos de importância para a área de alimentos.

Clinicamente os micro-organismos do gênero *Campylobacter* tem-se constituído como agente causador da enterocolite humana causada por alimentos em diversas partes do mundo. Nos Estados Unidos, Canadá, Suécia, Escócia e Inglaterra, onde *C. jejuni* e *C. coli* vem sendo isoladas de pacientes diarreicos, pode-se comprovar taxas de infecção maiores que as por *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. juntas. A taxa de hospitalizações por *Campylobacter* spp. nos EUA é estimada em 10,2% e os casos fatais em 0,10%. Sobre a importância dos alimentos nos surtos humanos, nos países desenvolvidos, embora surtos oriundos da ingestão de água ocorram, a transmissão por alimentos contribui para a maioria (80%) dos surtos esporádicos (BRASIL, 2011; CDC, 2012)

Atualmente o *Campylobacter jejuni* e a espécie de maior importância médica dentro da família Campylobacteriaceae, considerado emergente nas enterites humanas no mundo desde a década de 70. Esse patógeno zoonótico é encontrado no fígado, intestino e vesícula biliar dos seguintes reservatórios: pássaros selvagens, aves domésticas, coelhos, roedores, ovelhas, cavalos, bovinos, suínos, cães e gatos (RADOSTITS et al., 2002; CERVA, 2014).

Os principais alimentos envolvidos em surtos humanos de campilobacteriose são: leite cru, fígado e carne de bovinos, mariscos crus, vegetais, água, carne de

frango insuficientemente cozida, leite não tratado termicamente ou pasteurizado contaminado e hambúrguer cru. (CDC, 2012; CERVA 2014).

A fonte de contaminação do leite a partir do animal pode ser explicada quando ponderamos o fato dos bovinos geralmente conterem *C. jejuni* em suas fezes, ocorrendo contaminação das carcaças durante os procedimentos de abate e evisceração. De modo semelhante, o leite pode ser contaminado a partir das fezes, a infecção acidental por negligências durante os procedimentos de produção são comuns, e caso haja ausência ou falhas no tratamento térmico, o leite passa a ser uma fonte de contaminação importante (DE GODOI, 2010).

Em estudo realizado em Curitiba – Paraná a respeito da ocorrência de *Campylobacter jejuni* em leite cru e pasteurizado levou a concluir que o processamento térmico é eficiente na inativação das bactérias visto que em nenhuma das amostras de leite pasteurizado foi constatada a presença de *C. jejuni*; porém a presença do patógeno foi evidenciada em 13,33% (2/15) das amostras de leite cru e a contagem variou de $4,0 \times 10^1$ a $1,65 \times 10^2$ UFC/ml (NARCIZO; MONTANHINI, 2014).

Se consideramos a dose mínima infectante de 500 células descrita por Silva (2007), este produto poderia representar um perigo à saúde do consumidor caso fosse consumido in natura ou utilizado na fabricação de derivados lácteos sem tratamento térmico adequado. Vale ressaltar que o consumo de leite cru é uma prática comum em diversas regiões do Brasil, o que pode veicular zoonoses além de outras doenças transmitidas por alimentos (MACIEL et al., 2008).

3.7 Considerações Finais

O estudo a respeito dos principais micro-organismos passíveis de transmissão pelo leite fluido, elucida que, quando não tratado termicamente ou quando existem falhas nesse processo, quando negligenciadas as boas práticas de fabricação e armazenamento, o leite termina por tornar-se um agravo importante a saúde pública, podendo estar diretamente relacionado a veiculação tanto das bactérias quanto das suas toxinas. Consideraremos como principais bactérias passíveis de veiculação pelo leite a *Brucella* sp., *Mycobacterium bovis*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* sp.

Outro fator relevante é que todas as bactérias supracitadas são virulentas o suficiente para promover o óbito do indivíduo que venha a ter contato de forma direta ou de forma indireta por meio da ingestão do leite ou de seus subprodutos contaminados.

Consideraremos ainda que os produtos lácteos de uma forma generalista são frequentemente consumidos pela população suscetível, formada por indivíduos que devido a questões fisiológicas, iatrogênicas, ou patológicas estão com capacidade imune diminuída. Tal evento leva-nos a perceber a real importância que o leite como fonte de infecção tem para a saúde pública, devendo obrigatoriamente estar isento de qualquer um dos micro-organismo citado anteriormente bem como, estar isento também das suas toxinas. Frente a isso responsabilizaremos o Estado, (embasando-nos no Artigo 196 complementado pela lei 8.080/90 da Constituição Federal vigente), a responsabilidade de garantir a inocuidade dos alimentos.

Na atual conjuntura onde programas de sanidade e incentivo à produção vem sendo instituídos pelo Governo Federal, nos faz perceber que existe interesse deste órgão em melhorar a qualidade do produto final oferecido a população, subsequente ao aumento da produtividade. Contudo os Programas Institucionais Federais esbarram em parte, na não colaboração do produtor, que por desconhecimento, acredita que os possíveis ônus ocasionados das medidas zoonosológicas de controle, presentes nos programas são maiores que os perniciosos, porém invisíveis prejuízos desencadeados pelos agentes etiológicos, que seguem ceifando parte da capacidade produtiva do país.

Contudo a população também deve ser incluída na lista dos responsáveis pelos atuais problemas produtivos e sanitários que a cadeia leiteira enfrenta. Pois uma parte

razoável dessa população, muito por desinformação, termina por preferir produtos de origem duvidosa, colocando-se em situação de risco e instituindo conseqüentemente, concorrência desleal com os produtores que certificam sua cadeia produtiva em órgãos de fiscalização oficial.

A elucidação desses fatos nos faz refletir a respeito dos problemas, fazendo-nos ponderar que o rumo para a resolução, talvez esteja mais associado a fatores socioeducacionais que zoosanitários estritos.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, R. M. C. M.; et al. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, 2005.
- BARROS, L.S.S. et al. *Escherichia coli* from cellulitis lesions in broilers. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 7, p. 40-45, 2013.
- BATISTA, A. S. et al. *Escherichia coli* O 157: H7 em leite produzido no Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 2, p. 87-111, 2014.
- BELOTI, V., et al. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado em Cornélio Procopio, Paraná. Controle do consumo e da comercialização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 20, n. 1, p. 12-15, 2009.
- BOZO, G.A. et al. Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 2013, vol.65, n.2, pp. 589-594. ISSN 0102-0935.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011**. Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília, 2011
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Departamento de Defesa Animal. **Programa nacional de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose (PNCEBT)**. 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 20 abr. 2015.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Departamento de Defesa Animal. **Plano mais pecuária**. 2014 Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/Publicacao_v2.pdf>. Acesso em 20 abr. 2015
- BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. **Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite**. Brasília, 2003. 54p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n.275, de 21 de outubro de 2002**. Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 23 outubro 2002. Seção 1, p. 126.
- CALDEIRA, L. A. et al. Caracterização do leite comercializado em Janaúba–MG Characterization of milk commercialized in Janaúba–MG. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 2, p. 191-196, 2010.

CARVALHO, S. A. et al. Pesquisa de enterotoxinas e de substâncias antagonistas produzidas por *S. aureus* recuperados de leite bovino in natura e de outros alimentos. **Anais da III Semana de Pós Graduação da UFMG**, 21 a 23 de fevereiro, 2002.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria* spp., coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 21, n. 3, p. 281-287, 2001.

CDC. Center For Diseases Control – US, 2011. **Food Safety**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodnet/pdfs/2011_annual_report_508c.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2015.

CERVA, C. et al. Food safety in raw milk production: risk factors associated to bacterial DNA contamination. **Tropical animal health and production**, v. 46, n. 5, p. 877-882, 2014.

CHAPLIN, Charles. **História da minha vida**. São Paulo: José Olympio, 1965.

CHYE, F.Y; et al. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. **Food Microbiology**, v.1, p.535–541, 2004

CLIVER, D.O.; REIMANN, H. P. **Foodborne Diseases**. 2ed. New York: Elsevier Science, 2002.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CAC). Hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application. *In*: **Recommended international code of practice/general principles of food hygiene**. CAC/RCP 1-1969, Rev 4. Roma: FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, 2003. 68 p.

COSIVI, O. et al. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. **Emerging infectious diseases**, v. 4, n. 1, p. 59, 1998.

COSTA, L. A HISTORIA DO LEITE. NET Minas Gerais, Abr. 2006. **Seção Artigos**. Disponível em: <<http://www.cienciadoleite.com.br/?action=1&a=42&type=1>> Acesso em: 25 de Abr. 2015.

COUSINS, C. M; BRAMLEY, A. J. **Microbiologia de la leche cruda**. In: ROBINSON, R.K. Microbiologia lactológica. 3.ed. Zaragoza: Acribia, Cap.6, p.209-249, 2007

DE GODOI, H. S. et al. *Campylobacter* spp EM ALIMENTOS. UMA REVISÃO. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 13, n. 1, 2010.

DE SANTANA, E. H. W. et al. *Estafilococos* em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545-554, 2010.

FEHLHARBER, K; JANETSCHKE, P. **Higiene Veterinaria de los alimentos**. 5.ed. Zaragoza: Acribia, 755p, 2005

FERRÃO, S. P. B et al. Leite informal: uma abordagem qualitativa junto aos consumidores de Itapetinga, Bahia. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v. 58, n 333, p.245- 247, 2003.

FERREIRA, M. A. **Análises microbiológicas para leite fluido**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007. 18 p. Dossiê Técnico

FERREIRA, M. A. **Controle de qualidade físico químico em leite fluido**. Brasília: Universidade de Brasília, 2011. 17 p. Dossiê Técnico

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FOX, P. F. BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. **International Dairy Journal**, Canada, v. 18, p. 677- 684, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005, p 34-60.

FRANCO, R. M. et al. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Hig. aliment**, v. 14, n. 68/69, p. 70-77, 2000.

GONZÁLEZ C. U. et al. Calidad de la leche cruda, In: PRIMER FÓRO SOBRE GRANADERIA LECHERA DE LA ZONA ALTA DE VERACRUZ, 1, **Anais eletrônicos...** Madrid: Universidad Veracruzana, 2010, p. 64-69. Disponível em: <<http://www.uv.mx/agronomia/documents/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf>> Acesso em 19 abr. 2015.

GONZÁLEZ F. H. D. et al. **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**, UFRGS, Porto Alegre, 2011. (Online) disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/26656/000308502.pdf?sequence=1> Acesso em 18 de abr. 2015

GONZÁLEZ F.H.D.; SILVA S.C. **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária**. 2.ed. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS. 2006.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1, **Anais eletrônicos...** Porto Alegre: UFRGS, 2007, p. 31-34 Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/13176/000386500.pdf>> Acesso em 23 mar. 2015.

GUIMARÃES, R. Importância da matéria-prima para a qualidade do leite fluido de consumo. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 102-103, p. 25-34, 2002.

HILL, B. et al. Microbiology of raw milk in New Zealand. **International journal of food microbiology**, v. 157, n. 2, p. 305-308, 2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária**. CEPAGRO – Comissão Especial de Planejamento, Controle e Avaliação Agropecuárias. Setembro de, 2014.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Atmed. 2005

KONEMAN, E. W; et al. **Diagnostico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LAWINSKY, M. L. J. et al. Estado da arte da brucelose em humanos. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 4, p. 75-84, 2010.

LEITE, L. H. M.; WAISSMANN, W. Doenças transmitidas por alimentos na população idosa: riscos e prevenção. **Revista de Ciências Médicas**, v. 15, n. 6, 2012.

LEITE, Z. T. C. et al. **Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade**. São Paulo, Química Nova, , v. 29, n. 4, p. 876-880, 2006.

LIVNEY, Y. D. Milk proteins as vehicles for bioactives. **Current Opinion in Colloid & Interfaces Science**, Israel, v. 15, p. 73–83, 2010.

LUZ, D. F. et al. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense. **Agrarian**, v. 4, n. 14, p. 367-374, 2011.

MACIEL, J. F. et al. Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 3, 2008.

MARTH, E H.; STEELE, J. **Applied dairy microbiology**. New York: Marcel Dekker, 2001. 736p.

MARTINS, P.C. do; CARVALHO, M.P. de. **A Cadeia Produtiva do Leite em 40 Capítulos**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, 2005.

MENEZES, I. R. et al. Qualidade microbiológica do leite cru produzido no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 22, n. 1, 2015.

MITTELSTAEDT, S.; CARVALHO, V. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157: H7-revisão. **J. Health Sci. Inst**, v. 24, n. 3, 2006.

NARCIZO, D. K.; MONTANHINI, M. T. M. Ocorrência de *Campylobacter jejuni* em leite cru e pasteurizado comercializado em Curitiba. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 5, p. 341-347, 2014.

NASCIMENTO, G. G. F. et al. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em comercializado em Piracicaba. Piracicaba, **Rev. Nutr**, v. 14, n. 2, p. 119-124, 2010.

NERO, L. A. et al. Hábitos alimentares do consumidor de leite cru de Campo Mourão–PR. Paraná, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 21-26, 2003.

ORDOÑEZ, J.A.P., **Tecnologia em Alimentos**, vol. 2, Alimentos de Origem Animal, Ed.Artmed, Porto Alegre, 2005.

PESSEGUEIRO, P.; BARATA, C.; CORREIA, J. **Brucelose: uma revisão sistematizada**. Medicina Interna, v.10, n.2, p.91-100, 2003. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/u86gBpfGskFkxDw_2013-6-24-15-23-13.pdf> Acesso: 19 de mar. 2015

RADOSTITS O. M. et al. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002

RIBEIRO, M. P. et al. Escherichia Coli 0157: H7 em carne de hambúrguer, leite e outros gêneros alimentícios associados à colite hemorrágica e síndrome urêmico-hemolítica. Hig. aliment, v. 13, n. 66/67, p. 88-99, 2009.

ROCOURT, J.; COSSART, P. *Listeria monogytogenes* In: DOYLE, Michael P.; BEUCHAT, Larry R.; MONTVILLE, Thomas J. **Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras**, p. 337-352. Acribia, 2001.

SÁ, E. Análises realizadas para o controle da qualidade de leite in natura de acordo com os parâmetros legais. **Leite e Derivados**, São Paulo, v. 81, p. 66-72, 2004.

SANTANA, E. H. W. et al. Contaminação do leite em diferentes pontos da produção leiteira: ii) microrganismos mesófilos, psicrotróficos e proteolíticos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 4, p. 349-358, 2004.

SES/SP, CVE/SP, CVS/SP, IAL/SP, IIER/SP. **Manual das doenças transmitidas por água e alimentos: Escherichia coli 0157:H7 – enterohemorrágica (EHEC)**. Informe NET – DTA (série eletrônica) 2011. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/doc/10EHEC_rev2011.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2015.

SES/SP, CVE/SP, CVS/SP, IAL/SP, IIER/SP. **Manual das doenças transmitidas por água e alimentos: Staphylococcus aureus**. Informe NET – DTA (série eletrônica) 2014. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/doc/11S_AUREUSrev2014.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2015

SILVA, E. P. et al. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil: 2005 a 2008. BEPA. **Boletim Epidemiológico Paulista** (Online), v. 7, n. 77, p. 04-10, 2010.

SILVA, M. C. D. da, et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, n. 28, p. 226-230, 2008.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2007. 317p.

SILVEIRA, M. L. R.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria-RS. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 2, n. 2. 2014.

SINAN. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação** (SINAN net). Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Coordenação Geral de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília, 2014.

SOARES, K. M. P, et al. Hábitos de Consumo de leite em três municípios do Rio Grande do Norte. **Revista Verde**, Mossoró–RN, v.5, n.3, p.160-164, 2010.

TEBALDI, V. M. R. et al. Isolamento de coliformes, *estafilococos* e *enterococos* de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 753-760, 2008.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 10.ed. Rio de Janeiro: Artmed. 2012, 240p.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Editora UFSM, 3º ed., 2008. 203p.

VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H. Principais zoonoses transmitidas pelo leite – Atualização. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 9, n. 1 (2011), p. 32–37, 2011.

VENTURINI, K.S. & SARCINELLE, M.F. **Características do leite**. Espírito Santo, Boletim Técnico. Centro de Ciências Agrárias da UFES, 2007.

WALSTRA, P. **Ciência de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Spain: Zaragoza, Acribia, 2001.

WELKER, C. A. D. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, 2010.

WHO (World Health Organization). The World Health Organization's. Infant-Feeding recommendation. **Bulletin of the World Health Organization**, p.165-174, 1997.

YAMAGUCHI, L. C. T et al. **Sistema para análise de custos da atividade leiteira segmentada-dos em setores de produção e serviços–SisSeg**. 2007. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/595391/1/Doc123.pdf>> Acesso: em 23 de abril de 2015.

ZOOCAL, R.; GOMES, A.T.; Zoneamento da produção de leite no Brasil. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural**, 43,. 2005, Ribeirão Preto, **Anais**. Ribeirão Preto: FARP/USP, PENSA/USP FUNDACE, 2005.