

CONTAGEM DE MESÓFILOS E PSICROTRÓFICOS EM AMOSTRAS DE LEITE PASTEURIZADO E UHT¹

Count of mesophilic and psychrotrophic microorganisms in samples of pasteurized and ultra high temperature milk

Erika K. Saeki²
Leopoldo S. Matsumoto³

SUMÁRIO

Os alimentos de origem animal, como o leite, constituem um importante meio de cultura para o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos. Por ser passível de adulterações e contaminações é necessário o monitoramento, a fim de assegurar ao consumidor e a indústria um produto final de boa qualidade. O objetivo deste trabalho foi determinar o nível de contaminação por bactérias mesófilas e psicrotróficas, *Staphylococcus* sp. e *Bacillus cereus* em leite pasteurizado e UHT comercializados no município de Bandeirantes, Paraná. Foram analisadas 9 amostras de leite pasteurizados e 9 de UHT, adquiridas aleatoriamente do comércio local, totalizando 18 amostras. O leite UHT não apresentou contaminação por micro-organismos. Já o leite pasteurizado todas as amostras apresentaram contaminação por mesófilos aeróbios, sendo que três amostras ultrapassaram o valor permitido pela Instrução Normativa N°51, além da elevada contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva (até 6,11 log₁₀ UFC/mL) e *Bacillus cereus* (até 5,60 log₁₀ UFC/mL). A alta contagem de mesófilos aeróbios serve de alerta às autoridades de saúde pública para o risco potencial de determinados micro-organismos produtores de toxinas causarem intoxicações alimentares.

Termos para indexação: controle de qualidade; microbiologia; saúde pública.

1 INTRODUÇÃO

As doenças de origem alimentar podem ter como causa os agentes químicos ou microbiológicos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (2002), estima-se que as pessoas são provavelmente, cem mil vezes mais suscetíveis a terem uma doença alimentar de origem microbiana do que por resíduos de pesticidas. No entanto, sabe-se que os dados sobre a incidência e as causas de Doenças Transmitidas pelos Alimentos representam apenas a fração dos casos que ocorrem (LEITE & WAISSMANN, 2006).

Os alimentos de origem animal ou vegetal, frescos ou processados, incluindo a água, podem veicular micro-organismos patogênicos causadores de toxinfecções alimentares. Dentre os alimentos de origem animal, o leite, pela sua riqueza de nutrientes, constitui um importante meio de cultura para o desenvolvimento de um grande número de

micro-organismos (BERSOT et al., 2010; BRASIL, 1996). O principal parâmetro utilizado para se verificar a qualidade desse produto é o seu perfil microbiológico, determinado principalmente pela forma de obtenção, armazenamento e transporte. Alguns grupos específicos de micro-organismos são frequentemente pesquisados como os aeróbios mesófilos, coliformes e psicrotróficos (TEBALDI et al., 2008; NERO et al., 2009; BECKER, et al. 2010).

Um exemplo importante de mesófilo é o gênero *Staphylococcus*, que é composto por uma variedade de espécies associadas a infecções em seres humanos e animais. Dentre elas destacam-se as espécies *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. haemolyticus* (TRABULSI et al., 1999). O *Staphylococcus aureus* está principalmente envolvido com doenças intramamárias de fêmeas em lactação, sendo o principal agente causador da mastite em bovinos, e também responsável pela produção de várias

1 Trabalho de Conclusão de curso da primeira autora.

2 Bióloga Mestranda em Ciência de Alimentos –UEL. Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445, Km 380. Campus Universitário. CEP – 86051-990. Londrina, PR. E-mail: erikaksaeki@gmail.com.

3 Prof. Dr. da Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP/CLM. Rod. Br. 369 Km 54 – Laboratório de Microbiologia Campus Universitário. CEP – 86360-000. Bandeirantes, PR. E-mail: leopoldo@uenp.edu.br.

toxinas extracelulares (SÁ et al., 2004). São necessárias aproximadamente $6 \log_{10}$ UFC/mL (10^6 UFC/mL) de *S. aureus* para que a toxina seja acumulada em níveis capazes de provocar uma intoxicação (JABLONSKY & BOHACH, 1997).

A espécie *B. cereus* tem capacidade de produzir toxinas responsáveis por intoxicações alimentares, enzimas extracelulares que determinam o potencial de deterioração, e esporos que podem resistir ao tratamento UHT. As toxinas produzidas são classificadas em quatro grupos: enterotoxinas, hemolisinas (cereolisina e hemolisina II), fosfolipase C (fosfatidilinositol hidrolase, fosfatidilcolina hidrolase e esfingomielinase) e toxina emética (GRANUM, 1994). A presença de *Bacillus cereus* a partir de 10^6 organismos/g em alimentos é indicativo do seu crescimento ativo (GERMANO & GERMANO, 2001). Este micro-organismo tem importância na indústria de alimentos pela capacidade de sobreviver a tratamentos UHT devido a formas esporuladas, que são altamente resistentes ao calor (VIDAL-MARTINS et al., 2006).

As doenças alimentares relacionadas a *B. cereus* manifestam-se, classicamente, sob duas formas clínicas: a síndrome diarreica e a síndrome emética. A síndrome diarreica possui sintomas como a diarreia intensa e dores abdominais, raramente ocorrendo náuseas ou vômitos. A duração da doença é de 12 a 24 h e o período de incubação varia entre 8 a 16 h, sendo os alimentos mais comuns os ricos em proteínas (GRANUM, 1994). A síndrome emética é caracterizada por um período de incubação de 1 a 5 h, seguido por vômitos e náuseas, com 6 a 24 h de duração (MINNARD et al., 2001).

A refrigeração do leite tem como objetivo controlar a multiplicação de aeróbios mesófilos. No entanto, a refrigeração em torno de 4-7°C permite o crescimento de micro-organismos psicrótróficos, que se multiplicam bem nessas temperaturas. Os psicrótróficos encontrados no leite são ambientais, provenientes do solo, água, vegetação, teto/úbere e de equipamentos de ordenha higienizados inadequadamente. São termolábeis, porém suas enzimas são resistentes ao tratamento térmico (SANTANA et al., 2001).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite pasteurizado e UHT comercializados no município de Bandeirantes – Paraná, identificando *Staphylococcus coagulase positiva* e *Bacillus cereus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

A pesquisa foi conduzida no laboratório de microbiologia da Universidade Estadual do Norte

do Paraná – *Campus* Luiz Meneghel, durante o período de outubro de 2008 a junho de 2009.

Foram analisadas 9 amostras de leite pasteurizado e 9 amostras de UHT, totalizando 18 amostras, adquiridas aleatoriamente do comércio local. Os leites pasteurizados foram levados ao laboratório sob refrigeração e as de leite UHT foram mantidas em temperatura ambiente.

Antes de proceder as análises, as embalagens fechadas de leite UHT foram incubadas a 35-37°C durante 7 dias, conforme a recomendação da lei vigente (BRASIL, 1997).

2.2 Contagem de mesófilos aeróbios e psicrótróficos

Realizou-se a técnica de plaqueamento em profundidade (*Pour Plate*) em meio Ágar Padrão para Contagem® (PCA). As placas foram incubadas a 35°C/48h e 7°C/10 dias para determinação de mesófilos aeróbios e psicrótróficos, respectivamente (VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992).

2.3 Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Foi inoculado 0,1 mL em meio seletivo ágar Baird-Parker (BPA) adicionado de emulsão de ovo com telurito de potássio, em placas de Petri previamente preparadas. Após a secagem do inóculo as placas foram incubadas a 35-37°C/24-48h. Para confirmação da espécie foi realizada as provas de DNase e catalase (RODRIGUES et al., 2004; STAMFORD et al., 2006). A técnica está relacionada à capacidade deste micro-organismo de reduzir telurito de potássio a telureto, fazendo com que as colônias apresentem coloração negra, e hidrolisar a gema de ovo, produzindo um halo em torno da colônia.

2.4 Contagem de *Bacillus cereus*

Foi semeado 0,1 mL de cada diluição em placas contendo Ágar seletivo para *Bacillus cereus* adicionado de polimixina B e emulsão gema de ovo. Este material foi incubado em estufa 35°C/18-30 horas. Em seguida, foram submetidos aos testes ágar-gelatina e ágar-amido (AGATA et al., 2002; REZENDE-LAGO et al., 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, não houve contaminação por bactérias mesófilas e psicrótróficas em leite UHT. Apesar de não ter encontrado estes micro-organismos, outros autores tem mencionado bactérias mesófilas, principalmente *B. cereus* em

leite UHT (VIDAL-MARTINS et al., 2005; VIDAL-MARTINS et al., 2006; REZENDE-LAGO et al., 2007; BERSOT et al., 2010). De acordo com Paiva et al. (2009), a presença deste patógeno pode ser resultado de condições higiênico-sanitárias precárias na ordenha, beneficiamento ou transporte do leite, enfatizando-se que apesar do tratamento UHT ser capaz de eliminar totalmente a forma vegetativa do micro-organismo, formas esporuladas, altamente resistentes ao calor poderão persistir e germinar no produto final se presente no leite antes do tratamento térmico.

Os resultados das contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios e psicotróficos em leite pasteurizado encontram-se na Tabela 1. Os padrões microbiológicos das análises realizadas foram comparados com os previstos pela Instrução Normativa nº51 de 18 de setembro de 2002 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2002).

Tabela 1 – Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios e psicotróficos em leite pasteurizado comercializados no município de Bandeirantes, Paraná.

Amostra	Micro-organismos	
	Mesófilos aeróbios (log ₁₀ UFC/mL)	Psicotróficos (log ₁₀ UFC/mL)
1	1,60	1,40
2	1,00	1,00
3	4,70	4,28
4	0,69	1,18
5	5,20	2,00
6	5,28	3,47
7	5,30	3,90
8	1,00	1,00
9	1,88	1,00

De acordo com os limites estabelecidos por Brasil (2002) é permitida a presença de até 4,90 log₁₀ UFC/mL para mesófilos aeróbios em leite pasteurizado. Na presente pesquisa, os resultados variaram de 1 a 5,30 log₁₀ UFC/mL, sendo que das 9 amostras de leite pasteurizado 3 (33,3%) apresentaram valores acima do permitido, sendo indicativo de leite de baixa qualidade higiênico-sanitária.

Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram descritos por Rossi Júnior et al. (2006) que obtiveram valores para micro-organismos mesófilos de até 5 log₁₀ UFC/mL em leite pasteurizado. Silva et al. (2008) ao analisarem 348 amostras de leite pasteurizado, 87 (25,0%) apresentaram contagens de bactérias mesófilas, acima do permitido pela legislação em vigor. Já Tamanini et al. (2007), ao pesquisarem

leites pasteurizados encontram 21,15% fora do padrão exigido pela IN nº51/2002 para mesófilos. Segundo Rossi Júnior et al. (2006) e Silva et al. (2008) os principais fatores que afetam a qualidade do leite pasteurizado são: qualidade do leite cru, rigor no tratamento térmico, contaminação pós-pasteurização e temperatura de estocagem.

Antes da introdução da refrigeração na cadeia do leite, a principal microbiota deterioradora do leite eram as bactérias mesófilas fermentadoras da lactose, que causavam rápida acidificação em leite não refrigerado. O uso da refrigeração associado aos longos períodos de armazenamento selecionou a microbiota psicotrófica lipolítica e proteolítica (SANTOS et al., 2009).

Na presente pesquisa foram encontrados valores de micro-organismos psicotróficos entre 1,0 a 4,28 log₁₀ UFC/mL (Tabela 1). Contagens de psicotróficos a partir de 6 log₁₀ UFC/mL permitem modificações em leite e derivados, encurtando a vida útil dos mesmos (MAHIEU, 1991). A legislação brasileira não estipula um limite para a população de psicotróficos, no entanto de acordo com Pinto et al. (2006) não é recomendável a fabricação de produtos lácteos a partir do leite cru com contagem de psicotróficos superior a 6,7 log₁₀ UFC/mL. Champagne et al. (1994) relataram que normalmente é preciso que o leite tenha uma contagem acima de 6 log₁₀ UFC/mL de microrganismos psicotróficos para que se torne perceptível as mudanças de aroma e sabor do leite.

Silva et al. (2008) encontraram contagens de psicotróficos de até 6 log₁₀ UFC/mL em seus experimentos. Por sua vez, Rossi Júnior et al. (2006) verificaram contagens de 2 a 3 log₁₀ UFC/mL no leite pasteurizado e UHT. A presença de psicotróficos no leite é um fato preocupante, pois o grupo possui a capacidade de produzir enzimas lipolíticas e proteolíticas termoresistentes, que mantêm sua atividade após a pasteurização ou mesmo após o tratamento por UHT. Problemas relacionados à qualidade dos produtos lácteos como alteração de sabor e odor, perda de consistência e gelatinização ao longo da vida comercial do leite UHT, podem estar associados à ação das enzimas de origem bacteriana (ROSSI JÚNIOR et al., 2006).

Os resultados das contagens de *S. aureus* e *B. cereus* do leite pasteurizado encontram-se na Tabela 2.

Apesar de não existir legislação para contaminação por *Staphylococcus coagulase positiva* e *Bacillus cereus* em leite pasteurizado, todas as amostras de leite pasteurizado apresentaram contaminações por estes grupos de bactérias, variando de 4 a 6,11 log₁₀ UFC/mL para *Staphylococcus sp.*, e de 1 a 5,60 log₁₀ UFC/mL para *B. cereus*.

Tabela 2 – Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Bacillus cereus* (\log_{10} UFC/mL) em Leite Pasteurizado comercializados no município de Bandeirantes, Paraná.

Amostra	Micro-organismos	
	<i>Staphylococcus</i> sp. (\log_{10} UFC/mL)	<i>Bacillus cereus</i> (\log_{10} UFC/mL)
1	4,17	3,07
2	3,54	1,00
3	6,11	5,60
4	4,00	0,70
5	5,30	4,20
6	5,54	5,28
7	4,30	5,30
8	3,48	1,00
9	3,04	1,87

A elevada contagem de *Staphylococcus* sp. é um fator preocupantes para saúde pública, pois concentrações desses micro-organismos variando entre 5 e 6 \log_{10} UFC/mL são consideradas suficientes para a produção de toxinas prejudiciais a saúde humana (ASSUMPÇÃO et al., 2003). Neste trabalho, o maior valor encontrado foi de 6,11 \log_{10} UFC/mL, ou seja, possível de ocorrer intoxicação estafilocócica.

Em um estudo feito por Borges et al. (2008) foi encontrado valor menor que 1 \log_{10} UFC/mL de *Staphylococcus* coagulase positiva para leite pasteurizado. A espécie *Staphylococcus* sp. destaca-se pela importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos (FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004). Entre as fontes de contaminação deste patógeno, os manipuladores de alimentos, portadores de cepas enterotoxigênicas são os grandes responsáveis, sendo as fossas nasais o principal reservatório (PERESI et al., 2004; GRANDO et al., 2008).

Além disso, de acordo com Zeconi; Hahn (2000), para diminuir o risco da presença do *Staphylococcus* sp. é necessário implementar medidas para reduzir a prevalência das infecções intramamárias (mastite) nos bovinos. Estas infecções são frequentes em rebanhos leiteiros, sendo responsável por grandes prejuízos à pecuária leiteira, pois ocasionam redução na produção de leite, gastos com medicamentos e assistência veterinária, além da possibilidade de veiculação deste micro-organismo, toxinas e resíduos de antimicrobianos no leite (FREITAS et al., 2005).

Verificou-se a presença de *B. cereus* com concentrações de até 5,60 \log_{10} UFC/mL, demonstrando a necessidade de maior controle na produção de leite. A presença de *Bacillus cereus* a partir de 6 \log_{10} UFC/mL em alimentos indica crescimento ativo do micro-organismo e é um

risco potencial a saúde (GERMANO & GERMANO, 2001). As intoxicações alimentares iniciam quando o alimento é sujeito a abusos de tempo-temperatura, propiciando que um nível baixo de organismos se multiplique até níveis ($> 5 \log_{10}$ UFC/mL) significativos (SOTO et al., 2005).

Em trabalhos semelhantes, Rezende-Lago et al., (2007) e Vidal-Martins et al., (2006) encontraram 96,7%, 91,7%, respectivamente, de amostras positivas para *B. cereus* em leite pasteurizado.

A ausência de contaminação em leite UHT é de extrema importância, devido ao seu crescente consumo nas últimas décadas. Esta participação elevada do leite UHT na comercialização de leites fluidos no Brasil é devido, principalmente a sua praticidade e maior vida de prateleira (ROSSI JÚNIOR et al., 2006; BERSOT et al., 2010).

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho servem de alerta às autoridades de saúde pública para o risco potencial de determinados micro-organismos produtores de toxinas causarem intoxicações alimentares, justificando, assim, a criação de programas efetivos de controle e prevenção destes agentes.

A contaminação por mesófilos, psicrotrofos, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Bacillus cereus* em leite pasteurizado são fatores preocupantes já que este tipo de leite é utilizado como matéria-prima de outros produtos alimentícios como para a fabricação do queijo.

Estes resultados provavelmente são decorrentes da qualidade do leite cru, deficiência da pasteurização ou contaminação pós-processamento, sendo o homem agente transmissor de maior importância. Isso deve servir de alerta aos responsáveis técnicos para que sejam analisados os procedimentos padrões de higiene dos empregados nas propriedades e na indústria. A fim de evitar que a população consuma leite de má qualidade.

Os Leites UHT analisados não apresentaram contaminantes microbianos, o que demonstra eficiência na sua produção e também a utilização de leite cru de boa qualidade.

SUMMARY

Food of animal or vegetable origin can serve various pathogenic microorganisms. The food of animal origin, milk constitutes an important medium of culture for the development of a large number of microorganisms. It is also susceptible to tampering and contamination, which makes quality monitoring a necessity, to ensure an adequate final product both to the consumer and industry. This study aimed to determine the level of contamination of

pasteurized and UHT milk by psychrotrophic and mesophilic, *Staphylococcus* sp. and *Bacillus cereus*. Were analyzed 9 samples of pasteurized and 9 samples of UHT milk, randomly purchased from supermarket, totaling 18 samples. The UHT milk showed no contamination by microorganisms, pasteurized milk was contaminated by mesophiles, and in three of the samples exceeded the amount allowed by law; and a high contamination by *Staphylococcus* sp. (until 6,11 log₁₀ UFC/mL) and *Bacillus cereus* (until 5,60 log₁₀ UFC/mL). The high counts of mesophilic serve to alert public health authorities to the potential risk of certain bacteria that produce toxins causing outbreaks.

Index terms: quality control, microbiology, public health.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGATA, N.; OHTA, M.; YOKOYAMA, K. Production of *Bacillus cereus* emetic toxin (cereude) in various foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 73, p. 23-27, 2002.
- ASSUMPTÃO, E. G.; PICCOLI-VALLE, R. H.; HIRSCH, D.; ABREU, L. R. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 3, p. 366-370, 2003.
- BECKER, T. A.; NEGRELO, I. F.; RACOLTE, F.; DRUNKLER, D. L. Avaliação da qualidade sanitária de leite integral informal, pasteurizado, UHT e em pó comercializados na cidade de Medianeira e Serranópolis do Iguacu – Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 707-716, 2010.
- BERSOT, L. S.; GALVÃO, J. A.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; PINTO, J. P. A. N.; MAZIERO, M. T. Avaliação microbiológica e físico-química de leites UHT produzidos no Estado do Paraná – Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 645-652, 2010.
- BRASIL. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29/03/52, alterado pelo decreto nº 1.255, de 25/06/62, alterado pelo decreto nº 1.812, de 08/02/96. **Diário Oficial da União**, Brasília, 09/02/96, seção I, p.2241-2243, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 415, 19 de setembro de 1997. Regulamentos Técnicos.
- Princípios Gerais para Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 set. 1997. Seção 1, p. 21005-210112, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002. Seção 1, Brasília, 21 set. 2002.
- BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; PEREIRA, J. L.; ANDRADE, A. P. C.; KUAYE, A. Y. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38. n. 5, p. 1431-1438, 2008.
- CHAMPAGNE, C. P.; LAING, R. R.; ROY, D.; MAFU, A. A.; GRIFFITHS, M. W. Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 34, n. 1, p. 1-30, 1994.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1315-1320, 2004.
- FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO, S. S.; SILVA, D. R.; DA SILVEIRA FILHO, V. M.; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J. L. MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus coagulase* positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 171-177, 2005.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. 655 p.
- GRANDO, W. F.; SCAPIN, D.; MELHEIROA, P. S.; ROSSI, E. M.; TONDO, E. C. Suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de manipuladores de Indústria de Laticínios. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 467-471, 2008.
- GRANUM, P. E. *Bacillus cereus* and its toxins. **Journal of Applied Microbiology**, v. 76, p. 61-66, 1994.

- JABLONSKY, J. M.; BOHACH, G. A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE M. H.; BEUCHAT L. R.; MONTVILLE T. J. **Food microbiology: Fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, p. 353-375, 1997.
- LEITE, L. H. M.; WAISSMANN, W. Doenças transmitidas por alimentos na população idosa: riscos e prevenção. **Revista de Ciências Médicas**, Campinas, v. 15, n. 6, p. 525-530, 2006.
- MAHIEU, H. **Modificaciones de la leche despues de su recogida**. In: LUQUET, F. M. *Leche y Productos Lacteos*. La leche de la Mama a la Lecheria. Zaragoza: Acribia, S. A., p. 181-226, 1991.
- MINNARD, J., HUMEN, M., PÉREZ, P. F. Effect of *Bacillus cereus* exocellular factors on human intestinal epithelial cells. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 10, p. 1535-1541, 2001.
- NERO, L. A.; VIÇOSA, G. N.; PEREIRA, F. E. V. Qualidade microbiológica do leite determinada por característica de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 386-390, 2009.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Segurança Básica dos Alimentos para Profissionais de Saúde**. São Paulo: Roca, 2002.
- PAIVA, E. P.; FAI, A. E. C.; SOARES, D. S.; STAMFORD, T. L. M. *Bacillus cereus* e suas toxinas em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 170/171, 2009.
- PERESI, J. T. M.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; TEIXEIRA, I. S. C.; LIMA, S. I.; CARNICEL, F. A.; HOFFMANN, F. L. Surtos de doenças transmitidas por alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus*, ocorridos no período de dezembro de 2001 a abril de 2003, na região de São José do Rio Preto – SP. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 2, p. 232-237, 2004.
- PINTO, C. J. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotóficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 645-651, 2006.
- REZENDE-LAGO, N. C. M.; ROSSI JR., O. D.; VIDAL-MARTINS, A. M. C.; AMARAL, L. A. Ocorrência de *Bacillus cereus* em leite integral e capacidade enterotoxigênica das cepas isoladas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1563-1569, 2007.
- RODRIGUES, M. M.; BERTIN, B. M. A.; ASSIS, L.; DUARTE, E. B.; AVELAR, A. M. O.; PAIXÃO, J. T. S.; MATTOS, M. C.; SOUZA, M. M. S. Indícios de Rotavirus na Etiologia de um surto de infecção de origem alimentar. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 88-93, 2004.
- ROSSI JUNIOR, O. D., VIDAL-MARTINS, A. M. C.; SALOTTI, B. M.; BURGER, K. P.; CARDOZO, M. V.; CORTEZ, A. L. L. Estudo das características microbiológicas do Leite UAT ao longo de seu processamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 27-32, 2006.
- SÁ, M. E. P.; CHUNHA, M. L. R. S.; ELIAS, A. O.; VICTÓRIA, C.; LANGONI, H. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 320-326, 2004.
- SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PEREIRA, M. S. Microrganismos psicrotóficos em leite. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 88, p. 27-33, 2001.
- SANTOS, P. A.; SILVA, M. A. P.; SOUZA, C. M.; ISEPON, J. S.; OLIVEIRA, A. N.; NICOLAU, E. S.; Efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no desenvolvimento de microrganismos psicrotóficos em leite cru coletado na macroregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 4, 2009.
- SILVA, M. C. D.; SILVA, J. V. L.; RAMOS, A. C. S.; MELO, R. O.; OLIVEIRA, J. O. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 226-230, 2008.
- SOTO, F. R. M.; RISSETO, M. R.; FONSECA, Y. S. K. F.; DIAS, A. M. G. Toxinfecção alimentar por *Bacillus cereus*: Relato de caso. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 130, 2005.
- STAMFORD, T. L. M. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp. isolados de leite in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 41-45, 2006.

TAMANINI, R.; SILVA, L. C. C.; MONTEIRO, A. A.; MAGNANI, G. F.; BARROS, M. A. F.; BELOTI, V. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo "C" produzido na região norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 449-454, 2007.

TEBALDI, V. M. R.; OLIVEIRA, T. L. C.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. 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**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 753-760, 2008.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium od methods for the**

microbiological examination of foods. 3. ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219 p.

VIDAL-MARTINS, A. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; REZENDE-LAGO, N. C. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 3, p. 396-400, 2005.

VIDAL-MARTINS, A. M. C.; ROSSI JUNIOR, A. D.; BURGER, K. P.; CARDOZO, M. V.; SALLOT, B. M. CORTEZ, A. L. L. *Bacillus cereus* enterotoxigênicos em diferentes fases do processamento de leite UAT. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 32-36, 2006.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v. 345, p. 15-18, 2000.