

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE PASTEURIZADO COMERCIALIZADO EM APUCARANA-PR E REGIÃO

SALVADOR, F. C.¹
BURIN, A. S.²
FRIAS, A. A. T.³
OLIVEIRA, F. S.⁴
FAILA, N.⁵

RESUMO

Por ser um alimento com alto valor nutricional, o leite é consumido principalmente por crianças e idosos. Estes nutrientes tornam este alimento um meio ideal para o crescimento de vários microrganismos considerados patogênicos. A pasteurização é um processo que visa eliminar uma grande quantidade de microrganismos contaminantes presentes no leite. O presente trabalho teve como objetivo analisar as características microbiológicas do leite pasteurizado comercializados na cidade de Apucarana e região, pesquisando Coliformes totais e fecais, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., bactérias Mesófilas, Termófilas e Psicotróficas. A metodologia aplicada foi as da ABNT (Associação Brasileira de Normas e Técnicas) e o Diário Oficial da União do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. As amostras analisadas foram do tipo B e C. Todas apresentaram resultados satisfatórios obedecendo aos valores estabelecidos pela legislação atual. Vale ressaltar que os índices microbiológicos encontrados no leite pasteurizado estão relacionados com a contaminação do leite cru, sendo necessário um maior cuidado com a higiene durante a produção, armazenamento e transporte, por parte do produtor, comerciante e consumidor.

Palavras-chave: Bactéria. Higiene. Leite. Microrganismos. Pasteurização.

ABSTRAT

Being a food with high nutritional value, milk is consumed mostly by children and the elderly. These nutrients make this an ideal food for the growth of various microorganisms considered pathogenic. Pasteurization is a process that aims to eliminate a large amount of micro contaminants in milk. This study aimed to analyze the microbiological characteristics of pasteurized milk sold in the city and region Apucarana, researching and fecal coliform, *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella* sp. Mesophilic, thermophilic and psychrotrophic. The methodology applied was the

¹ Flávia Cristina Salvador. Farmacêutica bioquímica. Bióloga. Especialista em Análises Clínicas. Professora de Microbiologia e Imunologia básica da FAP – Faculdade de Apucarana.

² Amanda das Santos Burin. Discente do curso de Licenciaturas em Ciências Biológicas na FAP – Faculdade de Apucarana.

³ Angélica Albuquerque Tomilheiro Frias. Discente do curso de Licenciaturas em Ciências Biológicas na FAP – Faculdade de Apucarana.

⁴ Fernanda Aparecida Silva de Oliveira. Discente do curso de Licenciaturas em Ciências Biológicas na FAP – Faculdade de Apucarana.

⁵ Nayara Faila. Discente do curso de Licenciaturas em Ciências Biológicas na FAP – Faculdade de Apucarana.

ABNT (Brazilian Association of Standards and Techniques) and the Official Gazette of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Samples were type B and C. All showed satisfactory results obeying the values established by current legislation. It is noteworthy that the microbiological indexes found in pasteurized milk are related to contamination of raw milk, requiring greater care with hygiene during production, storage and transportation, by the producer, trader and consumer.

Keywords: Bacterium. Hygiene. Milk. Microorganisms. Pasteurization.

INTRODUÇÃO

O leite é um alimento considerado de elevado consumo em todo o Brasil, principalmente por crianças e idosos, por apresentar um elevado valor nutricional como vitaminas, gorduras, proteínas, carboidratos, sais minerais e água, podendo ser considerado fundamental para a dieta humana.

Devido a esta riqueza nutricional, o leite torna-se um meio ideal para o crescimento de diferentes microrganismos. Esta contaminação se inicia durante a ordenha pelos microrganismos presentes no teto da vaca, e depois do meio ambiente, pela ordenha realizada de forma manual ou ordenha mecânica por meio dos equipamentos e utensílios utilizados sem a higienização correta, também transporte, armazenamento e distribuição.

No Brasil, de modo geral, o leite é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes, e em consequência, apresenta elevados números de microrganismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico. (CATÃO; CEBALLOS, 2001).

Um dos maiores problemas, segundo Schuster et al (2006), é a oferta deste produto de forma “in natura” ao consumidor sem qualquer inspeção sanitária. Uma prática comum na região de Apucarana é a venda de leite não pasteurizado, transportado em caminhões, motos e bicicletas, armazenados em garrafas descartáveis sem refrigeração e controle higiênico-sanitário. Para Silva et al (2008), este controle é fundamental, desde a obtenção de leite cru nas propriedades rurais até a embalagem do produto final, pois a sua produção de forma higiênica inadequada torna o alimento um veículo de transmissão de doenças aos consumidores.

A deficiência no controle sanitário do rebanho leiteiro, a falta de higiene durante a ordenha, a ausência de uma infraestrutura adequada de transporte até as indústrias e a precariedade dos sistemas de refrigeração são fatores que contribuem para diminuir a qualidade microbiológica do leite. (PADILHA et al, 2001).

A comercialização de leite cru sem os cuidados necessários de higiene é um problema ligado a aspectos culturais e econômicos, que pode ser amenizado proporcionando uma maior rentabilidade ao produtor de leite e diminuindo o preço do leite pasteurizado, visto que o custo do leite cru é menor.

Em um estudo realizado no Brasil, Nero et al (2004), constataram que sessenta por cento dos indivíduos entrevistados consomem o leite cru por acreditarem que por ser um produto natural contém mais nutrientes sendo “mais forte, gordo e mais confiável”. Outros vinte e quatro por cento das pessoas entrevistadas informaram que compram leite cru, pois é mais barato e de fácil acesso.

O controle microbiológico do leite e produtos lácteos torna-se importante para a saúde do consumidor. A multiplicação de bactérias torna este alimento impróprio para o consumo humano, pois provoca alterações químicas das gorduras, açúcares e proteínas modificando as suas características normais. Esta contaminação com alguns tipos de microrganismos e/ou suas toxinas constitui uma das causas mais frequentes de problemas sanitários e perdas econômicas. (PADILHA et al, 2001).

O leite pode se tornar um alimento seguro para o consumo por meio da pasteurização. Este processo visa à destruição dos microrganismos causadores de doenças presentes no alimento, sem alterar as características próprias do produto. O leite pasteurizado é classificado em A, B, C, de acordo com sua qualidade.

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da normativa nº51 de 18/09/2002, o leite tipo A é aquele produzido, pasteurizado e envasado em indústria que fica na própria propriedade rural, sendo mantido a uma temperatura não superior a 4°C após a pasteurização. Quanto ao número de microrganismos, aceita-se no máximo $1,0 \times 10^3$ UFC/mL (1000/mL) para

contagem padrão em placas; <1/ml para Coliformes totais; ausência de Coliformes fecais e de *Salmonella* spp.

O leite pasteurizado tipo B é obtido através de ordenha mecânica, refrigerado em propriedade rural produtora de leite e nela mantido no máximo por 48h, em temperatura igual ou inferior a 4°C, que deve ser atingida em até 3h após o término da ordenha, transportado para a indústria para ser processado, e deve apresentar no momento de seu recebimento temperatura igual ou inferior a 7°C. Quanto ao número de microrganismos, aceita-se no máximo 8,0x10⁴UFC/mL (80.000/mL) para contagem padrão em placa; 2/ml para Coliformes totais; 1/ml Coliformes fecais e ausência de *Salmonella* spp.

Entende-se por leite tipo C o produto não submetido a qualquer tipo de tratamento térmico na propriedade rural onde foi produzido, transportado em vasilhame adequado (capacidade cinquenta litros) e entregue em estabelecimento industrial até as dez horas do dia de sua obtenção. Na indústria, o leite deve ser mantido em temperatura igual ou inferior a 4°C. Após a pasteurização, o produto deve apresentar como contagem padrão de microrganismos um valor máximo de 3,0x10⁵UFC/mL (300.000/mL); Coliformes totais até 4/ml; Coliformes fecais 2/ml e ausência para *Salmonella* spp.

A quantidade de microrganismos encontrados após o processo de pasteurização é influenciada pela quantidade de microrganismos presentes no leite cru, antes do processo. A pasteurização elimina uma grande quantidade de bactérias, mas não se obtém a esterilização do alimento. Por este motivo, tornam-se imprescindíveis os cuidados com a contaminação do leite durante a ordenha e a refrigeração adequada para diminuir a multiplicação celular microbiana e obter-se um produto de qualidade após a pasteurização.

Qualquer falha no sistema de pasteurização acarretará na distribuição de leite contaminado ao consumidor. A presença de bactérias do grupo Coliformes no leite e produtos lácteos é um indicador das condições sanitárias ou práticas durante a produção, processamento e armazenamento do produto. A contagem de *Escherichia coli*, considerada um coliforme fecal, é utilizada como um índice de contaminação recente e sugere que outros microrganismos de origem fecal, incluindo agentes patógenos possam estar presentes. (SILVA et al, 2001). A

Escherichia coli é responsável por surto de diarreia em crianças e adultos que consumiram água ou alimentos contaminados.

A deficiência de refrigeração oferece uma oportunidade para que a bactéria *Staphylococcus aureus* presente no leite se multiplique. Esta bactéria pode ser encontrada na mucosa, pele, saliva, tubo digestivo sendo responsável pela mastite, uma infecção no teto da vaca. A contaminação do leite e seus derivados por *Staphylococcus* sp. representa um problema de saúde pública pelo risco de causar intoxicação alimentar devido às enterotoxinas produzidas. (BORGES et al, 2008).

A presença de *Salmonella* no leite é preocupante, pois este microrganismo pode causar toxinfecções alimentares graves. Por este motivo, o MAPA (BRASIL, 2002) exige que os resultados nos alimentos sejam ausentes.

Segundo Barancelli et al (2004), entre os métodos para avaliação da carga microbiana do leite, o mais empregado é o de contagem bacteriana total (CTB), que é o total de microrganismos aeróbios Mesófilos, cujo predomínio está em situações em que há falta de condições básicas de higiene de uma maneira geral, bem como a falta de refrigeração do leite.

Também é avaliada presença de microrganismos Termófilos e Psicrotróficos. Os Termófilos são microrganismos com temperatura mínima de crescimento ao redor de 45°C, ótima entre 50° e 60°C e máxima de 70°C ou acima. Psicrotróficos têm ao crescimento favorecido em temperaturas que variam de 4° a 10°C e são esses os tipos de microrganismos relacionados à deterioração de alimentos refrigerados. (FRANCO et al, 1996).

OBJETIVO

A pesquisa da contaminação microbiológica nos alimentos tornou-se um parâmetro importante para a determinação da qualidade do produto sem que este ofereça riscos à saúde dos consumidores. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo analisar as características microbiológicas do leite pasteurizado comercializado na cidade de Apucarana e região, pesquisando Coliformes totais e fecais, *Staphylococcus aures*, *Salmonella* sp., bactérias Mesófilas, Termófilas e

Psicrotróficas, comparando os resultados com os padrões exigidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

METODOLOGIA

As amostras analisadas foram compradas nos supermercados, padarias e mercearias da cidade de Apucarana e região. No total foram analisadas seis amostras dos tipos B e C, de marcas conhecidas produzidas, pasteurizadas e envasadas na região. Após a compra, as amostras foram levadas para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Apucarana - FAP para serem analisadas.

A pesquisa foi realizada em duplicada, em dias e lotes diferentes para melhor confiabilidade e comprovação dos resultados.

A metodologia aplicada foi as da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) MB-3462 e MB-3464, e o Diário Oficial da União do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento com publicação em 18 de setembro de 2003, oficializando os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.

No laboratório, as amostras foram pesadas e diluídas da seguinte forma: 25 ml da amostra adicionadas a 225 ml de solução salina peptonada 0,1%, diluições até 10^{-3} para contagem de *Staphylococcus aureus*, Mesófilo, Termófilos e Psicrotróficos e 10^{-1} para a pesquisa de Coliformes Totais e Fecais.

Para a contagem de *Staphylococcus aureus*, as amostras diluídas foram inoculadas na superfície de placas contendo ágar Baird-Parker. Após o término das operações, as placas foram incubadas em posição invertida, à temperatura de 35°C ou 37°C, por 48 horas. Foram contadas as placas que continham entre 20 e 200 colônias suspeitas de *Staphylococcus aureus*. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) de *Staphylococcus aureus* por mL da amostra. Para a identificação foi feita a coloração de Gram, prova da catalase e coagulase.

Após a inoculação de Mesófilo, Termófilo, as placas foram incubadas, conforme os microrganismos, sendo a temperatura de $(32\pm 2)^\circ\text{C}$ para Mesófilos;

(55 ± 2)^oC para Termófilos por 48 horas e (7 ± 2)^oC para Psicrotróficos por 10 dias, sendo obrigatória a inoculação em superfície. O resultado foi expresso de acordo com o número de colônias, de acordo com MB-3462, em unidade formadora de colônias (UFC) por mililitro da amostra.

Para a pesquisa de Coliformes Totais e Fecais, as amostras foram inoculadas em tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose, considerando resultado positivo os que apresentaram gás nos tubos de Durham. A confirmação da presença de Coliformes Totais foi feita por meio da inoculação das colônias que cresceram em caldo Verde Brilhante Bile Lactose 2% e posterior incubação 36 ± 1 °C por 24 a 48 horas. A presença de gás nos tubos de Durham do caldo verde brilhante evidenciou a fermentação de lactose presente no meio. A confirmação da presença de Coliformes Fecais foi feita por meio da incubação em caldo EC, com incubação em temperatura $45\pm 0,2$ °C em banho-maria com agitação por 24 a 48 horas. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram gás nos tubos de Durham. Os resultados foram liberados por presença ou ausência de Coliformes totais e fecais.

A pesquisa de *Salmonella* baseou na fase de pré-enriquecimento com incubação, a 36 ± 1 °C por 16 a 20 horas, de 25 ml da amostra, adicionada em 225 ml de solução salina peptonada 1% tamponada. A partir deste procedimento, foram pipetadas alíquotas desta amostra para tubos contendo caldo Rappaport Vassiliadis, e em tubos contendo caldo Selenito Cistina. Ambos os meios foram incubados a $41\pm 0,5$ °C em banho-maria com agitação por 24 a 30 horas. A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, foram feitos repiques sobre a superfície de placas com ágar BPLS, estriando de forma a obter colônias isoladas. Foram obtidas 2 placas de BPLS para cada tubo de caldo. Essas placas foram inoculadas a 36 ± 1 °C por 18 a 24 horas.

As colônias selecionadas foram repicadas em EPM, MILI e CITRATO para confirmação bioquímica, além do teste da oxidase. Os resultados positivos foram testados com soro *anti-Salmonella* polivalente "O", emitidos como presença ou ausência para *Salmonella* sp.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Obtenção de amostras de leite livre de contaminação por microrganismos não é possível porque as bactérias presentes na glândula mamária e no canal do teto são eliminadas junto com o leite. Portanto, a pasteurização deste alimento faz-se necessária para diminuir, de forma relativa, os microrganismos presentes.

O método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos é a contagem Total de Mesófilos em placa, também denominada Contagem Padrão em Placas. Esse método é utilizado para obter informações gerais sobre a qualidade de produtos, práticas de manufaturas, matérias-primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira, não diferenciando os tipos de bactérias. Por não estar relacionado à presença de patógenos ou toxinas, não é um indicador de segurança.

A pesquisa das bactérias Termófilas e Psicrotróficas também é importante, pois estas possuem a capacidade de se multiplicarem em temperaturas consideradas ótimas, pela maioria dos consumidores, para a diminuição do crescimento celular, mas as temperaturas elevadas (50° A 60°C) e as baixas (4° a 10°C) são as que estes microrganismos necessitam para crescerem, respectivamente.

De acordo com o MAPA (BRASIL, 2002), o leite cru do tipo A, B e C deve ser submetido a uma temperatura de 72° a 75°C por um tempo de 15 a 20 segundos no processo de pasteurização, temperatura exata para eliminar os microrganismos inclusive os Termófilos. Em seguida o produto é resfriado a uma temperatura não superior a 4°C, para impedir a multiplicação celular, principalmente das bactérias Psicrotróficas.

Tabela 1 - Contagem estimada de Mesófilo, Termófilo e Psicrotrófilo no leite pasteurizado

AMOSTRAS	MESÓFILO	TERMÓFILO	PSICROTRÓFILO
1 – Tipo B	2,3x10 ² UFC/ml	< 1,0x10 UFC/ml	3,5x10 UFC/ml
2 – Tipo B	1,3x10 ² UFC/ml	< 1,0x10 UFC/ml	3,0x10 ² UFC/ml
3 – Tipo C	7,2x10 ² UFC/ml	< 1,0x10 UFC/ml	7,0x10 UFC/ml
4 – Tipo C	8,2x10 ² UFC/ml	< 1,0x10 UFC/ml	4,0x10 UFC/ml
5 – Tipo C	9,7x10 ² UFC/ml	< 1,0x10 UFC/ml	2,1x10 UFC/ml
6 – Tipo C	9,7x10 ² UFC/ml	< 1,0x10 UFC/ml	7,0x10 UFC/ml

Fonte: Autoras da pesquisa, 2011.

De acordo com a tabela 1, é possível observar que todas as amostras se encontram dentro dos padrões exigidos pelo MAPA, sendo $8,0 \times 10^4$ UFC/mL para leite pasteurizado tipo B e $3,0 \times 10^5$ UFC/mL para leite tipo C. Embora não tenha os valores permitidos para as bactérias Termófilas e Psicrótróficas, é válido ressaltar que estes microrganismos são responsáveis pela deteriorização de alimentos mal cozidos e refrigerados.

Os maiores índices de contaminação encontrados foram nas amostras 3, 4, 5 e 6, todas do tipo C. Estes resultados podem ser explicados devido a estes produtos não serem submetidos a nenhum tratamento térmico depois da ordenha e o longo tempo (até dez horas) para serem pasteurizados. Comprova-se que a baixa temperatura a qual o leite é armazenado e transportado é de grande importância para o controle de multiplicação destes microrganismos. Estes valores encontrados podem aumentar se o consumidor não guardar o produto na geladeira, e diminuir se o leite for fervido antes de consumi-lo.

Um número crescente de laticínios e cooperativas vêm remunerando o produtor de leite de acordo com a qualidade de matéria-prima fornecida à indústria. (BARANCELLI et al, 2004).

Tabela 2 - Contagem estimada no leite pasteurizado de *Staphylococcus aureus*

AMOSTRAS	VALORES <i>Staphylococcus aureus</i>
1 – Tipo B	< $1,0 \times 10$ UFC/ml
2 – Tipo B	$2,0 \times 10^2$ UFC/ml
3 – Tipo C	$7,0 \times 10$ UFC/ml
4 – Tipo C	< $1,0 \times 10$ UFC/ml
5 – Tipo C	< $1,0 \times 10$ UFC/ml
6 – Tipo C	< $1,0 \times 10$ UFC/ml

Fonte: Autoras da pesquisa, 2011.

A legislação atual não descreve os valores permitidos para esta bactéria no leite pasteurizado, o que dificulta a análise dos resultados. A contaminação encontrada pode ser considerada baixa em relação aos outros microrganismos

pesquisados, lembrando que a toxina produzida no leite cru, antes da pasteurização, é altamente resistente podendo suportar tratamentos térmico severos.

A contagem de *Staphylococcus aureus* em alimentos envolve três objetivos: confirmar o envolvimento em surtos de intoxicação alimentar, verificar se o alimento é uma fonte potencial de *Staphylococcus aureus* ou indicar uma contaminação pós-processo. (SILVA et al, 2007).

Baruffald et al (1984) descreveram o leite destinado ao consumo nunca é isento, totalmente, de microrganismos, havendo limites tolerados do número máximo permitido de bactérias não patogênicas, por mililitro.

A tabela 3 descreve a presença ou ausência de bactérias responsáveis por surtos de toxinfecções alimentares como Coliformes Totais, Fecais e *Salmonella sp.*

Tabela 3 - Resultados encontrados nas amostras de leite pasteurizado de Coliformes Totais, Fecais e *Salmonella sp*

AMOSTRAS	COLIFORMES TOTAIS E FECALIS	<i>Salmonella sp.</i>
1 – Tipo B	Ausência	Ausência
2 – Tipo B	Presença	Ausência
3 – Tipo C	Presença	Ausência
4 – Tipo C	Ausência	Ausência
5 – Tipo C	Ausência	Ausência
6 – Tipo C	Ausência	Ausência

Fonte: Autoras da pesquisa, 2011.

Os coliformes são sempre indesejáveis no leite, principalmente pelo fato que o habitat preferencial dessas bactérias é o solo, água e intestino de animais. Estas bactérias diminuem a qualidade e a vida do leite e derivados.

Embora se tenha somente os valores qualitativos, é possível observar que as amostras 2 e 3 sofreram maiores contaminações, comparando também com os resultados do quadro 2, pois foram as únicas que apresentaram resultados positivos para Coliformes Totais e Fecais.

Quando aos resultados para *Salmonella* sp., todas as amostras apresentaram ausência deste microrganismo podendo descrever que o processo de pasteurização foi eficiente para sua eliminação.

As manifestações clínicas mais comuns de salmoneloses vão desde o portador assintomático, passando pela gastroenterite (vômito, diarreia líquida, dor abdominal, febre), podendo evoluir para uma enterocolite com fezes amolecidas contendo muco e sangue e chegando à bacteremia. (FRANZOLIN, 2005).

CONCLUSÃO

O processo de pasteurização mostrou-se eficaz na pesquisa destas amostras de acordo com a legislação vigente. Estes resultados foram satisfatórios, pois as marcas de leite pasteurizado analisadas são de alto consumo pela população e dependendo da quantidade de microrganismo encontrados pode causar intoxicações e/ou infecções alimentares graves.

REFERÊNCIAS

BARANCELLI, V. G. et al. Avaliação de métodos para enumeração de microrganismos aeróbios mesófilos e coliformes em leite cru. **Revista Higiene Alimentar**, 18(120), maio, 2004.

BORGES, M. F.; RENATA, T. N.; PEREIRA, L. L. Perfil de contaminações por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, 38(5), agosto, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º.051, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 set. 2002.

BARUFFALDI, R. et al. Condições higiênico- sanitárias do leite pasteurizado tipo “B” vendido na cidade de São Paulo, SP (Brasil), no período de fevereiro a agosto de 1982. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, 18(5), outubro, 1984.

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**, Campinas, 21(3):282-287. Set-Dez.2001.

FRANCO, B. et al. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

FRANZOLIN, M. R. et al. **Salmoneloses**: Tratado de Infectologia. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

NERO, L. A. et al. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, 35(3), jul/set. 2004.

PADILHA, M. R. F. et al. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, 34(02), Mar-Abril, 2001.

SCHUSTER, C. et al. Avaliação de equipamento alternativo para pasteurização lenta de leite previamente envasado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26(4):828-831, Out-Dez.2006.

SILVA, Z. N. et al. Isolation and serological identification of enteropathogenic *Escherichia coli* in pasteurized milk in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, 35(4), Ago., 2001.

SILVA, N. et al. Contagem total de aeróbios mesófilos e psicrotóxicos em placas. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007.

SILVA, M. C. D. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 28(1):226-230, Jan-Mar., 2008.