

EFEITO DA FERVURA DOMÉSTICA NA PESQUISA DE COLIFORMES DO LEITE CRU COMERCIALIZADO SEM INSPEÇÃO

Effect of domestic boiling on coliform research of the raw milk sold without inspection

Marina Lais Sabião de Toledo Piza^{1*}, Bruna Domeneghetti Smaniotto¹,
Tatiane Andréa Lionete¹, Daniela Matono¹

RESUMO

O consumo de leite cru não inspecionado pode trazer riscos à saúde. A presença de coliformes no leite indica condições higiênico-sanitárias precárias durante as etapas de obtenção deste produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência à fervura doméstica de coliformes totais e termotolerantes de leite cru não inspecionado e comercializado de maneira informal. Foram realizadas pesquisas de coliformes totais, termotolerantes e presença de *Escherichia coli* em 10 amostras de leite cru sem inspeção, obtidas de comerciantes da cidade de Bauru – SP, sendo estas analisadas antes e após a fervura doméstica. Como ferramenta estatística, foi utilizado o teste T de Student, software Estatístico R, para comparação de médias de dois grupos pareados: Leite cru e leite fervido. A contagem de coliformes totais e termotolerantes foi menor ($p < 0,05$) no leite fervido quando comparada com a do leite cru. A presença de *E. coli* foi confirmada em 20% das amostras ($n=2$) no leite cru, sendo ausente em 100% das amostras após este tratamento térmico. No entanto, deve-se considerar que estes microrganismos podem, por exemplo, produzir toxinas resistentes ao tratamento térmico e, com isso, colocar em risco a saúde do consumidor.

Palavras-chave: alimento; higiene; leite in natura; saúde pública.

ABSTRACT

Consumption of uninspected raw milk can pose health risks. The presence of coliforms in milk indicates precarious hygienic-sanitary conditions during the stages of obtaining this product. The

1 Universidade Paulista - UNIP, Departamento de Medicina Veterinária, Rua Luís Levorato, 140, Chácaras Bauruenses, 17048-290, Bauru, SP, E-mail: marinalstpiza@gmail.com

*Autor para correspondência

Recebido / Received: 22/05/2023

Aprovado / Approved: 30/10/2023

objective of this work was to evaluate the resistance to domestic boiling of total and thermotolerant coliforms from uninspected and informally sold raw milk. 10 samples of raw milk were purchased without inspection from merchants in the city of Bauru - SP. Research was carried out on total and thermotolerant coliforms and the presence of *Escherichia coli* in raw milk samples and after domestic boiling. As a statistical tool, Student's T test, R Statistical software, was used to compare the means of two paired groups, raw milk and boiled milk. The search for total and thermotolerant coliforms was lower ($p < 0.05$) in boiled milk when compared to raw milk. The presence of *E. coli* was confirmed in 20% of the samples ($n=2$) in raw milk, being absent in 100% of the samples after this thermal treatment. However, it must be considered that these microorganisms can, for example, produce toxins resistant to heat treatment and, therefore, put the health of the consumer at risk.

Keywords: food. hygiene. *in natura* milk. public health.

INTRODUÇÃO

O leite é um alimento frequentemente consumido logo na primeira refeição do dia, além de ser um ingrediente essencial para a preparação de cremes, tortas, bolos e outros produtos de ampla aceitação na mesa dos brasileiros (BRASIL, 2014). O Brasil é o terceiro maior produtor de leite do mundo e, só no ano de 2021, foram comercializados mais de 35,3 bilhões de litros de leite sob algum tipo de inspeção sanitária (IBGE, 2022).

Devido à alta disponibilidade de nutrientes, o leite fornece condições favoráveis para a multiplicação microbiana, que deteriora o produto e altera suas características físico-químicas (SOVINSKI *et al.*, 2014; MOURA *et al.*, 2017; SEQUETTO *et al.*, 2017). O tratamento térmico do leite é de extrema importância para que se obtenha um produto de qualidade e seguro para o consumo (SANTOS; RIBEIRO; FONSECA, 2019). Entretanto, quando o tratamento térmico do leite não é realizado, o consumidor fica suscetível às contaminações por diversos patógenos, como *Escherichia coli*, um dos principais microrganismos responsáveis pelas chamadas doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Tal fato gera uma preocupação e é uma questão de saúde pública (PAIVA *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2020).

O leite cru, ou *in natura*, é aquele que não passou por nenhum tratamento térmico, não sendo permitido, portanto, seu comércio no Brasil, exceto em caráter precário, cuja autoridade local poderá autorizar, desde que cumpridas algumas exigências (BRASIL, 1969). Contudo, o comércio de leite cru ainda ocorre informalmente em alguns

municípios do Brasil, colocando em risco a vida daqueles que o consomem (MONTANHINI; HEIN, 2013; MOTTA *et al.*, 2015).

Estudos apontam que mais de 70% das pessoas sabem da transmissão de doenças por meio do consumo do leite cru, mesmo assim, o praticam (CUNHA *et al.*, 2016). Apesar disso, a maioria realiza tratamento térmico de forma caseira antes de consumi-lo, por meio de fervura (LIRO; GRANJA; ZOCHE, 2011; FERREIRA *et al.*, 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência à fervura doméstica de coliformes totais e termotolerantes de leite cru não inspecionado e comercializado de maneira informal na cidade de Bauru – SP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram adquiridas 10 amostras de leite cru sem inspeção, de origem bovina, comercializados de maneira informal na cidade de Bauru, do estado de São Paulo (SP). Estas amostras foram escolhidas aleatoriamente e adquiridas pela manhã, sendo o leite ordenhado no mesmo dia da aquisição. As amostras eram comercializadas em garrafas de politereftalato de etileno (PET) de um ou dois litros e, na maioria das vezes, eram reutilizadas de refrigerantes, sucos ou iogurtes, a depender do vendedor.

As amostras de leite cru adquiridas foram mantidas em suas embalagens originais, identificadas e transportadas ao Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paulista (UNIP), Campus Bauru, São Paulo, em caixas isotérmicas com gelo

reutilizável rígido, para realização das análises microbiológicas. As análises foram realizadas imediatamente após a aquisição de cada amostra de leite.

Para iniciar as análises microbiológicas foi realizada a desinfecção externa de cada garrafa adquirida com álcool 70%. Em seguida, foram realizadas as pesquisas de coliformes totais e termotolerantes nas amostras de leite cru e após a fervura doméstica. Também foi feita análise para verificar se havia a presença de *E. coli* nas amostras de leite cru e fervido.

A determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes foi realizada segundo metodologia do Ministério da Agricultura e Pecuária (BRASIL, 2003). Uma alíquota de 25 mL de cada amostra de leite cru foi adicionada em 225 mL de água peptonada estéril a 0,1% (m/v), a fim de obter-se a diluição inicial de 10^{-1} . Posteriormente, foram realizadas diluições decimais seriadas com adição de 1 mL da diluição inicial (10^{-1}), de cada amostra, em tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril, e assim, sucessivamente até a obtenção da diluição 10^{-3} (BRASIL, 2003). Em seguida, 1 mL de cada uma das diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} foi transferido para tubos de ensaio, em triplicata, contendo 9 mL do caldo lauril sulfato triptose (caldo LST) e tubo de Duhram.

Após a incubação a 37°C por 24 h, dos tubos de caldo LST positivos para produção de gás, foi transferida uma alçada para dois tubos, também em triplicata, um contendo 9 mL de caldo verde brilhante (caldo VBB) e tubo de Duhram que foi incubado a 37°C por 24 h, com objetivo de verificar a presença de coliformes totais. O outro continha 8 mL de caldo *Escherichia coli* (caldo EC) e tubo de Duhram, que foi incubado em estufa a 45°C por 24 h para avaliar a presença de coliformes termotolerantes. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram turvação e presença de gás. Para a leitura dos resultados dos coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a Tabela de Mac Crady (BRASIL, 2003).

Para a confirmação da presença de *E. coli* nas amostras foi utilizada a menor diluição positiva no caldo EC para plaqueamento em ágar MacConkey (MAC), e posterior incubação a 45°C por 24 h.

Em seguida, as colônias suspeitas no ágar MAC, de cor rosa, pequenas e secas, equivalentes à medida de 1 a 3 mm de diâmetro, foram inoculadas em ágar lisina ferro (LIA), urease, fenilalanina, ágar triplice açúcar ferro (TSI) e ágar citrato de Simmons (CIT) e incubadas a 40°C por 24 h para a identificação de *E. coli*. Foram classificadas como *E. coli* aquelas positivas para LIA e produção de gás a partir da fermentação da glicose e negativas para urease, fenilalanina, sulfeto de hidrogênio (H₂S) e CIT.

Para o tratamento térmico caseiro (fervura doméstica), 200 mL de cada amostra de leite cru foram individualmente aquecidas por calor direto em bico de Bunsen em recipientes estéreis até atingirem o ponto de ebulição de aproximadamente 100°C. Durante todo este processo, a temperatura foi monitorada com o auxílio de um termômetro (TREMONTTE *et al.*, 2014). Posteriormente, as amostras foram resfriadas naturalmente em temperatura ambiente até 40°C e foram realizadas as análises conforme descritas anteriormente para o leite cru.

Os dados foram analisados utilizando o teste T de Student, ao nível de 5% de probabilidade para comparação de médias de dois grupos pareados, antes e após a fervura (leite cru e fervido, respectivamente). As análises foram realizadas no software Estatístico R (R CORE TEAM, 2022).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de coliformes totais no leite cru foram maiores que 1.100 número mais provável por mililitro de leite (NMP/mL) em 60% das amostras analisadas. A contagem média de coliformes totais nas 10 amostras analisadas foi de 676 NMP/mL. Após a fervura doméstica, 100% das amostras analisadas apresentaram menos de 3 NMP/mL para a pesquisa de coliformes totais. Essa redução no número de coliformes totais após a fervura doméstica foi significativa ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Os resultados da contagem dos coliformes termotolerantes do leite cru e do fervido foram idênticos aos resultados dos coliformes totais (Tabela 1).

Quanto à bactéria *E. coli*, foi confirmada sua presença nas amostras de leite 3 e 5, antes da fervura doméstica, sendo ausente em 100% das amostras após o tratamento térmico empregado.

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram obtidos por Guth *et al.* (2022), que avaliando a qualidade microbiológica do leite cru

refrigerado de propriedades leiteiras da região do Médio Alto Uruguai, Rio Grande do Sul, encontraram 97% das amostras positivas para coliformes totais e 67% para termotolerantes. Ainda, Silveira; Bertagnolli (2014), ao analisar o leite cru comercializado em feiras livres, confirmou a presença de coliforme termotolerante em 100% das amostras.

Tabela 1. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes por mililitro (NMP/mL) nas amostras de leite cru e fervido.

Amostra de leite	Coliformes totais (NMP/mL)Cru		Coliformes termotolerantes (NMP/mL)Cru	
	Cru	Fervido	Cru	Fervido
1	> 1.100	< 3	> 1.100	< 3
2	> 1.100	< 3	> 1.100	< 3
3	> 1.100	< 3	> 1.100	< 3
4	> 1.100	< 3	> 1.100	< 3
5	> 1.100	< 3	> 1.100	< 3
6	23	< 3	23	< 3
7	23	< 3	23	< 3
8	> 1.100	< 3	> 1.100	< 3
9	93	< 3	93	< 3
10	23	< 3	23	< 3
Média	676^a	3^b	676^a	3^b
Desvio padrão	547	0	547	0

^{a,b}Médias com letras iguais na mesma linha para a mesma análise não diferem entre si pelo teste T Student ao nível de 5% de probabilidade.

Estudos apontam que embalagens de garrafas PET, como as que armazenavam as amostras de leite do presente trabalho, podem favorecer o aumento de microrganismos no produto, pois elas não são higienizadas de maneira correta (CUNHA *et al.*, 2016). Silveira; Bertagnolli (2014) relatam que amostras de leite cru comercializado informalmente em feiras livres acondicionados em garrafas PET reutilizadas tinham condições higiênico-sanitárias precárias, com a presença de coliformes termotolerantes. Estes autores sugerem que esse tipo armazenamento é impróprio qualquer produto, principalmente para o leite, que possui características que facilitam a multiplicação microbiana (SILVEIRA; BERTAGNOLLI, 2014). Virolí *et al.* (2022) avaliaram os parâmetros microbiológicos e

físico-químicos de leite cru vendidos informalmente envasado em garrafas PET e concluíram que o armazenamento em embalagens impróprias pode modificar seus parâmetros físico-químicos, favorecendo o aumento da acidez, e aumentar a contagem padrão em placas de microrganismos (VIROLÍ *et al.*, 2022).

Devido à comercialização do leite cru para consumo direto da população ser proibida no Brasil, não há limite máximo para coliformes totais e termotolerantes (BRASIL, 1969). Contudo, os resultados apontam uma alta contagem de coliformes totais e termotolerantes, incluindo a presença de *E. coli*, o que confirma o perigo à saúde humana. Os coliformes totais são encontrados no solo e vegetação e os termotolerantes no trato

gastrointestinais de animais e no ambiente. Portanto, sua presença indica condições higiênico-sanitárias precárias durante as etapas de obtenção deste produto (QUINN *et al.*, 2005; GERMANO; GERMANO, 2015). É no subgrupo dos coliformes termotolerantes que temos *E. coli*, que representa 80% da microbiota intestinal aeróbica e é eliminada nas fezes (TORTORA *et al.*, 2012). Quando ingerida, *E. coli* é capaz de causar diversos sintomas clínicos, como dores abdominais, diarreia, febre e letargia (BROOKS *et al.*, 2014; FORSYTHE, 2013). Alguns isolados de *E. coli* possuem fatores de virulência que podem causar infecções extra-intestinais, como no trato urinário e meninges (NATARO; KAPER, 1998). Esses microrganismos podem estar presentes no leite cru comercializado informalmente e causar danos à saúde dos consumidores.

O tratamento térmico do leite é uma exigência que tem como objetivo a obtenção de um produto com qualidade higiênica satisfatória e uma maior vida de prateleira. Essa prática deve atender o binômio tempo/temperatura, onde os alimentos devem ser aquecidos até uma determinada temperatura mínima por um tempo específico, inativando os microrganismos patogênicos e os sistemas enzimáticos (COSTA *et al.*, 2019). Como exemplos, temos a pasteurização rápida, onde o leite é aquecido de 72 a 75°C por 15 a 20 segundos, e a pasteurização lenta, que aquece de 62 a 65°C por 30 minutos (SÃO PAULO, 2022). Em um trabalho realizado na cidade de Serrinha, no estado da Bahia, os autores verificaram que, apesar do alto número de pessoas que desconhecem alguma doença que a ingestão de leite in natura pode causar, 94% dos entrevistados na pesquisa têm o hábito de fervê-lo antes de consumi-lo (JESUS *et al.*, 2021).

Em teoria, os coliformes totais e termotolerantes seriam completamente destruídos quando atingidas temperaturas de pasteurização ou fervura doméstica do leite, realizada por grande parte dos consumidores (FORSYTHE, 2013). Tal fato foi comprovado neste experimento, já que houve diferença significativa entre os tratamentos. Resultados semelhantes foram obtidos por Sousa *et al.* (2021), onde observaram que após a fervura foram eliminados os coliformes totais e

termotolerantes presentes na mesma amostra do leite in natura. Em caso de pasteurização ineficaz ou fervura abaixo da temperatura de destruição desses microrganismos, parte destes permanecerão no leite podendo se multiplicar e colocar em risco os consumidores deste produto, além de comprometer a qualidade do leite e de seus derivados (BARAL; KUMAR, 2020).

É válido ressaltar que, mesmo com os trabalhos apresentados, que validam a eficácia da fervura doméstica na diminuição de microrganismos deteriorantes e patogênicos nas amostras de leite cru, esse método não substitui a obrigatoriedade e a eficácia da pasteurização ou ultrapasteurização para a comercialização do leite (BRASIL, 1969). Além disso, apesar da fervura doméstica se mostrar eficaz na redução da contagem desses microrganismos, eles são capazes de produzir toxinas termoestáveis, que continuam ativas mesmo em altas temperaturas. Como exemplo, podemos citar dois isolados de *E. coli*, que podem ser ingeridos através do leite cru: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC), que causam diarreias aquosas e persistentes (KAPER *et al.*, 2004; SCAVIA *et al.*, 2008). Assim, produtos de origem animal contaminados com esses microrganismos representam riscos ao consumidor, sendo uma questão de saúde pública.

É preciso que ao longo de toda a cadeia produtiva, os produtores e manipuladores se atentem às normas e legislações para garantir um produto inócuo. Órgãos competentes, como a Vigilância Sanitária, são importantes para instruir esses produtores e auxiliá-los na busca da legalização de seu comércio. Além disso, ações como treinamentos de boas práticas de fabricação e de manipulação de alimentos, e treinamentos de boas práticas agrícolas, promovidos por profissionais qualificados, podem melhorar a cadeia produtiva. Tais treinamentos podem ser oferecidos por agências particulares e públicas de assistência técnica e extensão rural, onde os extensionistas orientam sobre manejo sanitário do rebanho, boas práticas de obtenção de leite cru e na produção de derivados, e dão instruções a fim de evitar microrganismos patogênicos ou agentes deteriorantes no produto final (ARAÚJO *et al.*, 2020).

Quando o produtor se inscreve num programa de inspeção, é solicitada uma série de exigências para que ele seja aprovado e possa comercializar seu produto. O estabelecimento deve ter um plano de qualificação de fornecedores de leite, com assistência técnica e gerencial, bem como a capacitação dos fornecedores, com foco em gestão da propriedade e implementação das boas práticas agropecuárias (BRASIL, 2018). Assim, o produtor que sai da informalidade possui auxílio para obter um produto de qualidade. É necessário que se adote medidas sanitárias para que o leite não seja um veículo carreador de microrganismos deterioradores e prejudiciais à saúde humana, como os coliformes totais e termotolerantes, visando melhorias desde a ordenha e higienização de equipamentos até os tanques de armazenamento, aliado a um manejo correto dos animais e oferecimento de programas de educação sanitária aos produtores, já previsto na IN nº 77 de 2018 do MAPA (BRASIL, 2018; LIMA *et al.*, 2006).

CONCLUSÕES

O leite cru comercializado de maneira informal na cidade de Bauru - SP apresenta elevada contagem coliformes totais e termotolerantes, oferecendo riscos potenciais à saúde do consumidor. Entretanto, a fervura doméstica mostrou-se eficaz no controle desse grupo de microrganismos do leite cru.

No entanto, o método caseiro minimiza, mas não exclui o risco de transmissão de patógenos, já que diversos outros fatores são necessários para que o produto seja considerado seguro para consumo. Dentre esses fatores podemos citar seus componentes, ausência de substâncias proibidas, ausência de toxinas, suas características físico-químicas, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total. Portanto, pensando em inocuidade do produto, é preciso que o consumidor adquira apenas leite inspecionado.

AGRADECIMENTOS

À Vice-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Paulista (UNIP), pelo auxílio

financeiro e 'Bolsa UNIP' concedida no Programa "Iniciação Científica" para a autora.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J. P. A.; CAMARGO, A. C.; CARVALHO, A. F. *et al.* Uma análise histórico-crítica sobre o desenvolvimento das normas brasileiras relacionadas a queijos artesanais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 5, p. 1845-1860, 2020. DOI: 10.1590/1678-4162-11766

BARAL, S.; NANDA, D. K. Risk and benefits of consuming raw (unpacked) and pasteurized (packaged) milk. **DRC Sustainable Future**, v. 1, n. 1, p. 23-32, 2020. DOI:10.37281/drcsf/1.1.4

BRASIL. Decreto-Lei nº 923 de 10 de outubro de 1969. Dispõe sobre a comercialização do leite. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 8.601, 13 nov. 1969.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Regulamentos técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 230, p. 9, 30 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 181, p. 14, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica**. 2. ed. 1º reimpressão. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 156p

BROOKS, G. F. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg**. 26 ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

COSTA, C. A. C. B. *et al.* Caracterização da qualidade microbiológica do leite cru comercializado informalmente na cidade de Murici, Alagoas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p.7026-7035, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n2-123

- COSTA, Q. P.; REKOWSKY, B.S.S.; COSTA, M.P.; DELFINO, N.C. Eficiência da pasteurização lenta do leite de cabra em diferentes binômios tempo/temperatura. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 78, e1769, p. 1-7, 2019. DOI: 10.53393/rial.2019.v78.34236
- CUNHA, A. F. *et al.* Leite UAT e cru informal comercializados em Rio Doce – MG: qualidade e perfil dos consumidores. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 254/255, p. 90-95, 2016.
- FERREIRA, A. G. G. *et al.* Perfil dos consumidores de leite bovino *in natura* no município de Santana do Ipanema – Alagoas. **Nutritime**, v. 14, n. 4, 2017.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. 5 ed. Barueri: Manole, 2015. 1077p.
- GUTH, A. *et al.* Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado na região do Médio Alto Uruguai, Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 9072-9078, 2022. DOI: 10.34117/bjdv8n2-044
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** - PPM - Pesquisa da Pecuária Municipal – Efetivo de rebanhos, por tipo (cabeças), 2021. Rio de Janeiro: Sidra, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?edicao=34981&t=destaques>. Acesso em: 27 out. 2022.
- JESUS, M. A. C. L.; GUIMARÃES, J. E. F.; CARNEIRO, E. A. R. Perfil dos consumidores de leite cru na cidade de Serinha, Bahia. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 76, n. 1, p. 51-59, 2021. DOI: 10.14295/2238-6416.v76i1.837
- KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 123-140, 2004. DOI: 10.1038/nrmicro818
- LIMA, M. C. G. *et al.* Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região agreste do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p. 89-95, 2006. DOI: 10.1590/1808-1657v73p0892006
- LIRO, C. V.; GRANJA, R. E. P.; ZOCHE, F. Perfil do consumidor de leite no Vale do rio São Francisco, Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 4, p. 718-726, 2011. DOI: 10.5216/cab.v12i4.11613
- MONTANHINI, M. T. M.; HEIN, K. K. Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Pirai do Sul, Estado do Paraná, Brasil. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 393, p. 10-14, 2013. DOI: 10.5935/2238-6416.20130030
- MOTTA, R. G. *et al.* Indicadores de qualidade e composição de leite informal comercializado na região Sudeste do Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 417-423, 2015. DOI: 10.1590/S0100-736X2015000500005
- MOURA, R. C. *et al.* Análise físico-química e microbiológica do leite cru comercializado em Roraima. **Boletim do Museu Integrado de Roraima**, v. 11, n. 2, p. 29-38, 2017. DOI: 10.24979/bolmir.v11i02.796.
- NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998. DOI: 10.1128/CMR.11.1.142
- PAIVA, Y. F. *et al.* Diagnóstico microbiológico e índice de adição de água do leite cru comercializado no município de Pombal, Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13, n. 1, p. 84-88, 2018. DOI: 10.18378/rvads.v13i1.5369
- QUINN, P. J. *et al.* **Microbiologia Veterinária e Doenças Contagiosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- R CORE TEAM (2022). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 30 de maio de 2022.
- SANTOS, V. C.; RIBEIRO, D. C. S. Z.; FONSECA, L. M. Ocorrência de não conformidades físico-químicas e microbiológicas em leite e derivados no estado de Minas Gerais, no período de 2011 a 2015. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 6, p. 2111-2116, 2019. DOI: 10.1590/1678-4162-11079
- SÃO PAULO. Resolução SAA - 65, de 01/09/2022. Instituir normas técnicas estruturais de produção e classificação de produtos lácteos sob a forma artesanal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos pro-

- dutos de origem animal produzidos sob a forma artesanal e dá outras providências. **Diário Oficial Poder Executivo de São Paulo**: seção 1, São Paulo, SP, p. 27, 02 set. 2022.
- SCAVIA, G. *et al.* Enteroaggregative *Escherichia coli* associated with a foodborne outbreak of gastroenteritis. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, n.9, p. 1141-1146, 2008. DOI: 10.1099/jmm.0.2008/001362-0
- SEQUETTO, P. L. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de leite cru refrigerado obtido de propriedades rurais da zona da mata Mineira. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 7, n. 1, p. 42-50, 2017. DOI: 10.21206/rbas.v7i1.388
- 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: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 2, n. 2, p. 75-80, 2014. DOI: 10.3395/vd.v2n2.135
- SOUSA, C. S. *et al.* Análise microbiológica e físico-química de leite cru comercializado informalmente no município de Ibirapuã - BA. **Revista Higiene Alimentar**, v. 35, n. 293, p. 1-14, 2021. DOI: 10.37585/HA2021.02analise
- SOVINSKI, A. I.; CANO, F. G.; RAYMUNDO, N. K. L. *et al.* Situação da comercialização do leite cru informal e avaliação microbiológica e físico-química no município de Cafelândia, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 3, p. 161-165, 2014. DOI: 10.25110/arqvet.v17i3.4938
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 934p.
- TREMONTE, P.; TIPALDI, L.; SUCCI, M. *et al.* Raw milk from vending machines: Effects of boiling, microwave treatment, and refrigeration on microbiological quality. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 6, p. 3314-3320, 2014. DOI: 10.3168/jds.2013-7744
- VIROLI, S. L. M. *et al.* Avaliação dos parâmetros físico químicos e microbiológicos do leite cru informal envasados em garrafas - PET comercializados em bairros periféricos em um município da região norte do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n.3, p. 1-12, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i3.26706