

# PRÁTICAS DE PRODUÇÃO APLICADAS NO CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA NA PRODUÇÃO DE LEITE CRU

## PRODUCING PRACTICES APPLIED ON THE CONTROL OF MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION IN RAW MILK PRODUCTION

**Anderson Keizo YAMAZI<sup>1</sup>; Paula Mendonça MORAES<sup>2</sup>; Gabriela Nogueira VIÇOSA<sup>1</sup>; Maria Beatriz Tassinari ORTOLANI<sup>3</sup>; Luís Augusto NERO<sup>4</sup>**

1. Aluno do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa, MG, Brasil; 2. Mestranda em Medicina Veterinária – UFV, Viçosa, MG, Brasil; 3. Mestre em Medicina Veterinária – UFV, Viçosa, MG, Brasil; 4. Professor, Doutor, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. nero@ufv.br

**RESUMO:** A qualidade do leite cru é influenciada diretamente pelas condições de higiene na ordenha e armazenamento, bem como sanidade dos animais. Isso determina que a adoção de Boas Práticas de Produção é fundamental para obtenção de produtos final com baixas contagens microbianas, característica indicativa de boa qualidade. Visando avaliar a eficácia de práticas higiênicas durante o procedimento de ordenha em uma propriedade rural, pontos específicos foram selecionados e amostrados em duas etapas: uma fase inicial, com as práticas do produtor, e uma fase seguinte, em que práticas higiênicas específicas foram adotadas (soluções de cloro para pré-dipping, a 750ppm, e higiene de utensílios, a 300 ppm, além de descarte de primeiros jatos de leite). As amostras foram coletadas em 3 repetições em cada etapa e submetidas a contagens de aeróbios mesófilos (Petrifilm™ AC, 35°C por 48h), psicrotóxicos (superfície de ágar padrão de contagem, 7°C por 10 dias), coliformes totais e *Escherichia coli* (Petrifilm™ EC, 35°C por 48h). Os resultados finais obtidos foram comparados em cada etapa. Na etapa inicial os grupos identificados como principais contaminantes da linha de ordenha foram os aeróbios mesófilos e psicrotóxicos, presentes em altos níveis nos tetos e leite dos animais. As práticas adotadas geraram redução da contaminação dos microrganismos indicadores pesquisados em vários pontos da linha de ordenha, indicando a eficácia das soluções de cloro para higienização de tetos dos animais e utensílios de ordenha.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leite. Higiene. Boas práticas de produção. Cloro.

## INTRODUÇÃO

O leite cru produzido em várias regiões do Brasil possui baixa qualidade microbiológica, derivada de práticas inadequadas na obtenção, conservação e transporte desse produto até indústrias de beneficiamento (ARCURI et al., 2006; NERO et al., 2004; CERQUEIRA et al., 1994). Essa baixa qualidade não é identificada somente no Brasil, sendo caracterizada principalmente por altas contagens de microrganismos indicadores de higiene, como aeróbios mesófilos e coliformes, além da presença de patógenos (JAYARAO et al., 2006; CHYE, ABDULLAH e AYOB, 2004; JAYARAO; HENNING, 2001; HEESCHEN, 1996). Esses microrganismos são originados principalmente do ambiente de ordenha e utensílios empregados, além dos próprios animais (SLAGHUIS, 1996; DONNELLY, 1990).

Considerando essas características, em 2002 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa nº 51 (IN51) (BRASIL, 2002), que determina normas específicas para a produção de leite cru no Brasil, além de parâmetros detalhados para a verificação adequada da qualidade e

segurança desse produto. A preocupação com a qualidade e segurança de alimentos produzidos no Brasil não é recente, já que desde 1952 são exigidas condições adequadas de higiene em todas as fases da produção pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 1952), e posteriormente em 1997 pela Portaria nº 368 (BRASIL, 1997). Entretanto, em ambas as legislações não há um detalhamento específico para a produção de leite.

A determinação de novos parâmetros e normas para a produção de leite cru visa a obtenção de um produto final com alta qualidade, capaz de ser processado de forma adequada na indústria gerando produtos beneficiados com características que atendam o exigente mercado interno e externo. Programas de qualidade como Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (ICMSF, 1988) são adotados pelas indústrias de alimentos a fim de atingir e garantir esses padrões de qualidade em seus produtos finais.

Segundo esses programas, a verificação da contaminação microbiana e procedimentos higiênicos em etapas chave da produção são fundamentais para minimizar possíveis

contaminações e garantir a qualidade e segurança final. Em relação a leite, a etapa de obtenção da matéria-prima é fundamental para esse controle, uma vez que interfere diretamente na qualidade e segurança de todos os produtos beneficiados e derivados (CHAMBERS, 2002). Na obtenção do leite cru, os principais pontos de contaminação microbiana considerados são o interior da glândula mamária, o exterior do úbere e das tetas e os equipamentos de ordenha e de armazenamento (SLAGHUIS, 1996; DONNELLY, 1990). Dessa forma, a higienização prévia dos tetos, mãos do ordenhador e do local de ordenha, que incluem teteiras, latões, ordenhadeira e do piso, é fundamental para redução da contaminação por microrganismos deteriorantes e patogênicos no leite, além de melhorar as condições higiênicas finais (NADER FILHO et al. 1982).

Considerando a importância de um controle efetivo da contaminação microbiana durante a obtenção do leite, esse estudo teve como objetivo identificar quais são os principais pontos de contaminação do leite cru na linha de ordenha de uma propriedade rural, e os efeitos de práticas higiênicas na redução do nível de contaminação microbiológica.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Propriedade rural

Uma propriedade leiteira localizada na região de Viçosa, MG, foi selecionada para a

execução da pesquisa por apresentar características de produção típicas da região (NERO, VIÇOSA; PEREIRA, 2009). Durante a execução das atividades, a propriedade apresentava 53 vacas em lactação, com produção média de 1.100 litros por dia. O sistema de ordenha do leite era mecânico, com captação da produção em latões (balde ao pé) que eram armazenados em tanques de imersão por até 24h. Diariamente a produção era encaminhada para beneficiamento em um pequeno laticínio localizado na mesma propriedade.

A rotina de higiene de ordenha adotada pelo produtor consistia em lavagem constante do estábulo (antes, durante e após ordenha), lavagem de tetas apenas com água seguida de secagem com papel toalha, uso apenas de pós-dipping (solução de iodo) e lavagem completa mensal da ordenhadeira com detergente alcalino.

### Planejamento do estudo e coleta de amostras

A pesquisa foi desenvolvida em duas fases. Inicialmente (Etapa 1) foram consideradas as práticas higiênicas adotadas convencionalmente pelo produtor, com coletas de amostras de leite e superfícies de equipamentos e tetos de animais em diversos pontos da linha de ordenha (SANTANA et al., 2004) que foram submetidas a análises microbiológicas (Tabela 1). Essa fase da pesquisa teve como objetivo a caracterização dos níveis de contaminação usuais na linha de ordenha.

**Tabela 1.** Amostras coletadas na linha de ordenha de uma propriedade rural com atividade leiteira, e práticas higiênicas convencionalmente adotadas e propostas.

Amostra	Quantidade amostrada	Prática higiênica do produtor	Prática higiênica proposta
Antes da ordenha			
Teteira	3 cm <sup>2</sup>	Lavagem com água	Lavagem com solução de cloro a 300 ppm*
Latão (estoque do leite)	50 cm <sup>2</sup>	Lavagem com água	Lavagem com solução de cloro a 300 ppm*
Tetos	3 cm <sup>2</sup>	Lavagem com água	Pré-dipping com solução de cloro a 750 ppm*
Durante ordenha			
Leite (1 <sup>os</sup> jatos)	20 mL	--	Descarte

Leite (após 1 <sup>os</sup> jatos)	20 mL	--	--
Teteira	3 cm <sup>2</sup>	--	Lavagem com solução de cloro a 300 ppm entre um animal e outro*
Após ordenha			
Leite	100 mL	--	--
Água (uso geral)	100 mL	--	--

\* Soluções preparadas com Deosan Clortabs (JohnsonDiversey Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Concentrações das soluções conforme FAGAN et al. (2005)

Posteriormente (Etapa 2), práticas higiênicas específicas foram propostas e aplicadas em diferentes etapas da linha de ordenha. As práticas aplicadas estão detalhadas na Tabela 1, e as soluções de cloro utilizadas foram obtidas diluindo-se pastilhas de Deosan Clortabs (JohnsonDiversey Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) em água da propriedade rural. Após aplicação das práticas, amostras dos mesmos pontos (SANTANA et al., 2004) foram coletadas e submetidas a novas análises microbiológicas.

Para coleta de amostras superficiais, foram feitos moldes em papel-cartão com áreas de 3 e 50 cm<sup>2</sup>, esterilizados e no momento do uso posicionados nas superfícies. As amostras foram coletadas com swab estéreis (J. Prolab, São José dos Pinhais, PR, Brasil) umedecidos em NaCl 0,85%, e em seguida acondicionados em tubos contendo 3 mL de NaCl 0,85%. Em condições assépticas, o volume obtido final da área amostrada foi adicionado de NaCl 0,85% a fim de atingir uma solução final com a equivalência de 1 mL = 1 cm<sup>2</sup>.

Todas as amostras foram coletadas em 3 ocasiões com as práticas higiênicas de ordenha usualmente empregadas pelo produtor (Etapa 1), e em 3 ocasiões após a implantação de práticas higiênicas específicas (Etapa 2), detalhadas na Tabela 1. As amostras de leite e água (não clorada, de poço) foram coletadas em frascos estéreis, após o procedimento convencional do produtor de higienização e as práticas sugeridas. As amostras superficiais de tetos e de leite antes e após o descarte dos primeiros jatos foram coletadas de 5 vacas selecionadas aleatoriamente, em condições adequadas de ordenha (ausência de mastite clínica), em cada coleta. Ao final do procedimento de

ordenha em cada coleta, o leite final obtido foi coletado em frasco estéril. Todas as amostras foram conservadas sob refrigeração até o momento das análises laboratoriais.

#### Análises microbiológicas

**Diluições.** Todas as amostras foram diluídas serialmente em escala decimal utilizando-se NaCl 0,85% estéril. Para cada amostra e análise microbiológica, duas diluições foram selecionadas considerando o nível de contaminação esperado.

**Aeróbios Mesófilos.** Alíquotas de 1,0 mL das diluições selecionadas foram semeadas em placas de Petrifilm<sup>TM</sup> AC (3M Microbiology, St. Paul, MN, EUA), com incubação a 35°C por 48h. Após incubação, as colônias formadas foram enumeradas e o resultado final foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias por mL ou cm<sup>2</sup> (UFC/mL ou cm<sup>2</sup>).

**Psicrotróficos.** Alíquotas de 0,1 mL das diluições selecionadas foram semeadas por superfície em Ágar Padrão de Contagem (PCA), em duplicata, e incubadas a 7°C por 10 dias (WEHR; FRANK, 2004). Após incubação, as colônias formadas foram enumeradas e o resultado final expresso em UFC/mL ou cm<sup>2</sup>.

**Coliformes totais e *Escherichia coli*.** Alíquotas de 1,0 mL das diluições selecionadas foram semeadas em placas de Petrifilm<sup>TM</sup> EC (3M Microbiology), com incubação a 35°C por 48h. Após incubação, as colônias com coloração azul e associadas a gás foram enumeradas como *E. coli*, e somadas às vermelhas associadas a gás foram enumeradas como coliformes totais. O resultado final foi expresso em UFC/mL ou cm<sup>2</sup>.

### Análise dos dados

As médias dos resultados obtidos para contagem de cada grupo de microrganismos indicadores e amostra foram calculadas e comparadas considerando a Etapa 1 ou 2, para verificação da eficácia das práticas sugeridas na contaminação microbiana nos diversos pontos amostrados. Também foi verificada a eficácia das práticas adotadas na redução da contaminação microbiana em pontos específicos da linha de ordenha.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais e *E. coli* obtidos nas diferentes amostras coletadas na linha de ordenha antes (Etapa 1) e depois (Etapa 2) da adoção de práticas higiênicas são apresentados na Tabela 2. Não foi verificada contaminação relevante por nenhum grupo de microrganismo pesquisado em nenhuma das amostras de água analisadas, indicando que a mesma não pode ser considerada uma fonte de contaminação importante no ambiente de ordenha da propriedade.

Na Etapa 1 os tetos e o leite dos animais (primeiros jatos e após descarte destes) foram os principais pontos de contaminação, principalmente em relação a aeróbios mesófilos e psicrotróficos.

Na Etapa 2, mesmo após a aplicação das práticas higiênicas, os principais pontos de contaminação identificados foram os tetos e leite dos animais e a superfície dos latões, entretanto apenas para aeróbios mesófilos. Em todos os pontos verificados houve redução da contaminação por psicrotróficos.

Coliformes totais e *E. coli* apresentaram baixos níveis de contaminação nos diferentes pontos de coleta e etapas da pesquisa. Dessa forma, aeróbios mesófilos e psicrotróficos podem ser considerados os principais grupos de microrganismos responsáveis pela qualidade microbiológica final do leite na propriedade estudada. As teteiras de ordenhadeiras mecânicas são comumente descritas como importantes pontos de contaminação microbiana no leite (BRITO, BRITO e VERNEQUE, 2000; McKINNON, ROWLANDS e BRAMLEY, 1990). Entretanto, estudos similares realizados em outros países revelaram que a contaminação por aeróbios mesófilos em superfícies de utensílios com contato direto com leite, como teteiras e latões, atingiram valores relativamente baixos, entre 40 e 500 UFC/cm<sup>2</sup> (SALO *et al.*, 2006; GRAN *et al.*, 2002).

O grupo dos psicrotróficos também foi identificado como importante contaminante, associado principalmente aos primeiros jatos de leite (Tabela 2). Na propriedade onde o trabalho foi realizado não havia o descarte dessa primeira porção de leite, que pode representar uma importante fonte de contaminação (CHAMBERS, 2002). Santana et al.(2004) identificaram como principais pontos de contaminação desse grupo na linha de ordenha utensílios mal higienizados, água residual de recipientes (latões e tanques de expansão) e tetos, com contagens variando entre 23.000 e 63.000 UFC/cm<sup>2</sup>. Nos primeiros jatos de leite, os mesmos autores encontraram contagens de psicrotróficos variando entre 1.000 e 5.000 UFC/mL, inferiores aos obtidos no presente estudo na Etapa 1 (Tabela 2). A pesquisa de psicrotróficos em leite e identificação de seus principais pontos de contaminação assume grande importância principalmente pelas atuais condições de conservação desse produto permitidas no Brasil (BRASIL, 2002). Na refrigeração do leite em tanques de imersão é tolerada a temperatura de 7°C, na qual microrganismos psicrotróficos conseguem se desenvolver e produzir enzimas proteolíticas e lipolíticas, termo-resistentes, que irão comprometer a qualidade dos produtos finais (MUNSCH-ALATOSSAVA; ALATOSSAVA, 2006; SILVEIRA, CARVALHO; TEIXEIRA, 1998; SØRHAUG; STEPANIAK, 1997; SHAH, 1994).

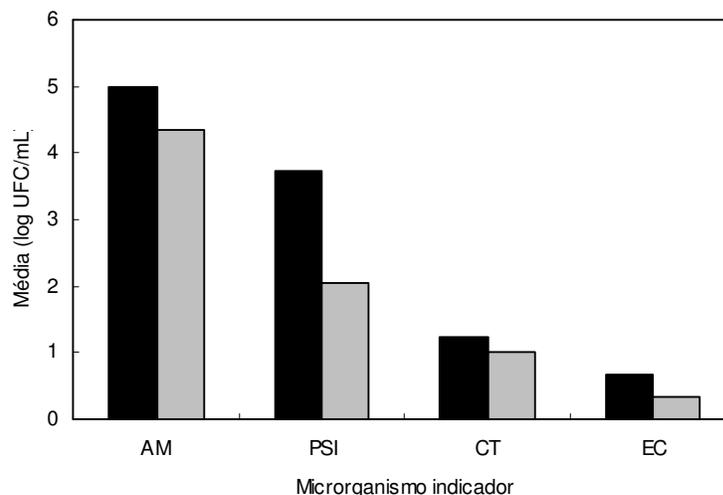
Comparando-se a contaminação do leite nos primeiros jatos e após o descarte dessa porção, e considerando todas as amostras em ambas as etapas da pesquisa, verifica-se redução de 77,5% na contagem média de aeróbios mesófilos, 97,9% de psicrotróficos, 43,1% de coliformes totais e 52,8% de *E. coli* (Figura 1).

A adoção de soluções de cloro para higienização dos utensílios e tetos dos animais foi baseada em recomendações de FAGAN et al. (2005), que verificou a eficiência dessa substância na redução da contaminação microbiana em diferentes pontos da linha de ordenha em propriedades rurais. A utilização dessa substância na concentração de 300 ppm resultou em redução de todos os microrganismos indicadores pesquisados na superfície de teteiras antes do início e durante a ordenha. No latão de armazenamento do leite resultou em redução de psicrotróficos e coliformes totais (Tabela 2).

**Tabela 2.** Média das contagens de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras coletadas na linha de ordenha de leite antes (Etapa 1) e após (Etapa 2) adoção de práticas higiênicas. Em cada grupo de microrganismo indicador é indicada a eficiência do procedimento aplicado entre as duas etapas (Diferença, porcentagem de redução/aumento considerando o valor da primeira etapa).

Amostra	Aeróbios mesófilos*			Psicrotróficos*			Coliformes totais*			<i>Escherichia coli</i> *		
	Etapa 1	Etapa 2	Diferença	Etapa 1	Etapa 2	Diferença	Etapa 1	Etapa 2	Diferença	Etapa 1	Etapa 2	Diferença
Antes ordenha												
Teteira	163,0	108,0	-33,7%	14,2	3,8	-72,9%	40,0	0,0	-100,0%	39,0	0,0	-100,0%
Latão	745,0	1.218,7	63,6%	24,7	0,5	-98,0%	10,5	0,3	-96,8%	0,0	0,0	0,0%
Tetos	1.289,9	905,9	-29,8%	233,7	45,6	-80,5%	8,5	7,7	-9,8%	2,5	6,8	170,0%
Durante ordenha												
Leite (1 <sup>os</sup> jatos)	84.670,0	124.500,0	47,0%	10.268,2	98,2	-99,0%	42,0	30,3	-27,8%	5,0	8,6	71,7%
Leite (após 1 <sup>os</sup> )	28.401,7	13.395,6	-52,8%	188,4	24,2	-87,2%	11,0	16,5	50,0%	10,5	2,5	-76,2%
Teteira	659,3	13,3	-98,0%	112,3	0,2	-99,9%	1,0	0,0	-100,0%	0,0	0,0	0,0%
Após ordenha												
Leite	7.466,7	9.066,7	21,4%	355,0	2.240,0	531,0%	180,7	66,0	-63,5%	118,0	14,0	-88,1%
Água	0,0	0,0	0,0%	43,8	0,0	-100,0%	0,0	0,0	0,0%	0,0	0,0	0,0%

\* Unidades em UFC/mL ou UFC/cm<sup>2</sup>, de acordo com cada amostra (Tabela 1)



**Figura 1.** Médias das contagens de aeróbios mesófilos (AM), psicrotróficos (PSI), coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (EC) em leite dos primeiros jatos (colunas pretas) e após descarte dos primeiros jatos (colunas cinzas). Valores médios calculados considerando valores reais (UFC/mL) e convertidos em  $\log_{10}$  UFC/mL para visualização adequada.

A utilização do cloro na concentração de 750 ppm como pré-dipping resultou em redução da contaminação de aeróbios mesófilos, psicrotróficos e coliformes totais na superfície dos tetos dos animais (Tabela 2). As concentrações utilizadas nas soluções de cloro aplicadas em utensílios e tetos dos animais são suficientes para determinarem um efeito bactericida efetivo, porém sem gerar resíduos no leite produzido nem irritar a pele dos animais (FAGAN et al., 2005). A utilização de soluções de cloro nos procedimentos de ordenha a fim de se reduzir a contaminação microbiana já é conhecida (BESSEMS, 1998; BYERS; EWALT, 1943) e são consideradas bastante úteis pelo custo reduzido e eficácia na redução da contaminação, porém é importante que seja renovada constantemente para manter a sua efetividade e concentração desejada (BODDIE, NICKERSON; ADKINSON, 2000; ROSSONI; GAYLARDE, 2000; DRECHSLER, WILDMAN; PANKEY, 1990; BODDIE, NICKERSON; ADKINSON, 1982). Associada a concentração, o tempo de ação necessário para que a solução de cloro tenha seu efeito bactericida é fundamental (ROSSONI; GAYLARDE, 2000; BESSEMS, 1998), e pode variar entre 60 minutos para soluções a 200 ppm (WHO, 1993) até 2 minutos para soluções a 1.000 a 2.000 ppm (PITT et al., 1992). As soluções utilizadas nesse estudo agiram por tempo até inferior a 2 minutos, e mesmo assim resultaram em efeito bactericida (Tabela 2).

Embora as práticas higiênicas adotadas tenham resultado em redução da contaminação microbiana em vários pontos da ordenha, o leite final obtido não apresentou redução do nível de contaminação por aeróbios mesófilos e psicrotróficos. As más condições higiênicas do local de armazenamento do leite na propriedade estudada podem ter contribuído para as altas contagens observadas, além da ineficiência da solução de cloro a 300 ppm na higienização dos latões (Tabela 2). Quanto a esse aspecto, um aumento no tempo de contato entre essa solução de cloro e os latões poderia gerar um aumento da eficiência (PITT et al., 1992), atingindo o efeito bactericida desejado. Ainda, poderia ser utilizada uma solução de cloro mais concentrada e, principalmente, conservação da produção final em condições adequadas de refrigeração (CHAMBERS, 2002).

## CONCLUSÃO

As práticas de produção aplicadas na produção de leite cru são eficazes para reduzir o nível de contaminação em pontos específicos da linha de ordenha, como teteiras de ordenhadeiras mecânicas e superfície de tetos dos animais em lactação, contribuindo para a melhoria da qualidade do leite.

**ABSTRACT:** The quality of raw milk is directly influenced by hygiene conditions during milking and storage, and also by animal sanity. Considering these characteristics, Good Producing Practices (GPP) must be adopted systematically in milk production in order to obtain final products with low microbial counts, what is indicative of quality. A dairy farm was selected to evaluate the efficiency of some GPP during milking process, when milk and surface samples were collected from specific milking steps in two stages: a first one, when hygienic procedures from the farmers were conducted, and a following one, when specific hygienic procedures were adopted (chlorine solutions for pre-dipping, at 750ppm, and utensils cleaning, at 300ppm, and discard of the forestrip milk). The samples were collected in three repetitions in each phase and submitted to microbiological analysis of mesophilic aerobes (Petrifilm™ AC, 35°C for 48h), psychrotrophics (surface of plate count agar, 7°C for 10 days), total coliforms e *Escherichia coli* (Petrifilm™ EC, 35°C for 48h). The final results were then compared in each phase. At the initial phase, mesophilic aerobes and psychrotrophics were identified as the main contaminants of milking procedure by their high levels in the teats and milk. The adopted procedures generated reduction of microbial contamination in several sampling points, indicating the efficacy of chlorine solutions for hygiene of teats and milking utensils.

**KEYWORDS:** Milk. Hygiene. Good producing practices. Chlorine.

---

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, L. A.; DIAS, L. T.; NADER FILHO, A.; ISA, H.; ROSSI JR, O. D. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 24, n. 4, p. 173-177, Oct. 2004.
- ARCURI, E. F.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ÂNGELO, F. G. F.; SOUZA, G. N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 440-446, Jun. 2006.
- BESSEMS E. The effect of practical conditions on the efficacy of disinfectants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Amsterdam, v. 41, n. 3-4, p. 177-183, Sept. 1998.
- BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 847-850, Sept. 2000.
- BODDIE, R. L.; NICKERSON, S. C.; ADKINSON, R. W. Efficacies of chlorine dioxide and iodophor teat dips during experimental challenge with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 12, p. 2975-2979, Dec. 2000.
- BODDIE, R. L.; NICKERSON, S. C.; ADKINSON, R. W. Germicidal activity of a chlorous acid-chlorine dioxide teat dip and a sodium chlorite teat dip during experimental challenge with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 8, p. 2293-2298, Aug. 1998.
- BYERS, H. H.; EWALT, H. P. The value of chlorine in producing low bacterial count milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 26, n. 3, p. 277-281, Mar. 1943.
- CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R.; RODRIGUES, R.; FONSECA, L. M.; RUBINICH, J.; QUINTÃES, I. A. Alguns parâmetros microbiológicos de leite cru colhido em estabelecimento industrial e de leite beneficiado comercializado em Belo Horizonte (MG). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 46, n. 6, p. 713-721, Dec. 1994.
- CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R.K (Ed) **Dairy microbiology handbook**. 3th ed. New York: John Wiley and Sons, 2002, p. 39-90.
- CHYE, F. Y.; ABDULLAH, A.; AYOB, M. K. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. **Food Microbiology**, Amsterdam, v. 21, n. 5, p. 535-541, Oct. 2004.

DONNELLY, C. W. Concerns of microbial pathogens in association with dairy foods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 6, p. 1656-1661, Jun. 1990.

DRECHSLER, P. A.; WILDMAN, E. E.; PANKEY, J. W. Evaluation of a chlorous experimental and natural acid-chlorine dioxide teat dip under exposure conditions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 8, p. 2121-2128, Aug. 1990.

FAGAN, E. P.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; MULLER, E. E.; NERO, L. A.; PEREIRA, M. S.; SANTANA, E. H. W.; SILVA, L. C.; VACARELLI, E. R. Evaluation and implementation of good practices in main points of microbiological contamination in milk production. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 81-90, Jan. 2005.

GRAN, H. M.; MUTUKUMIRA, A. N.; WETLESEN, A.; NARVHUS, J. A. Smallholder dairy processing in Zimbabwe: hygienic practices during milking and the microbiological quality of the milk at the farm and on delivery. **Food Control**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 41-47, Jan. 2002.

HEESCHEN, W. H. Bacteriological quality of raw milk: legal requirements and payment systems. Situation in the EU and IDF member countries. *In: International Dairy Federation Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk*. Wolfpassing, Austria: Wolfpassing Proceedings, 1996, p. 01-18.

ICMSF. **Microorganisms in Foods 4: Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System to Ensure Microbiological Safety and Quality**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988, pp.372.

JAYARAO, B. M.; DONALDSON, S. C.; STRALEY, B. A.; SAWANT, A. A.; HEGDE, N. V.; BROWN, J. L. A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 2451-2458, Jan. 2006.

JAYARAO, B. M.; HENNING, D. R. Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2157-2162, Oct. 2001.

McKINNON, C. H.; ROWLANDS, G. J.; BRAMLEY, A. J. The effect of udder preparation before milking and contamination from the milking plant on the bacterial numbers of eight dairy herds. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 57, p. 307-318, Aug. 1990.

MUNSCH-ALATOSSAVA, P.; ALATOSSAVA, T. Phenotypic characterization of raw milk-associated psychrotrophic bacteria. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 161, n. 4, p. 334-346, Nov. 2006.

NADER FILHO, A.; SCHOCKEN-ITURRINO R. P.; ÁVILA F. A.; MONTANHOLI R. A. Efeito de várias medidas higiênicas-sanitárias durante a ordenha na contagem microbiana do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 37, p. 13-15, 1982.

NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A.; PONTES NETTO, D.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. 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, v. 35, n. 3, p. 211-215, Sep. 2004.

NERO, L. A.; VIÇOSA, G. N.; PEREIRA, F. E. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 386-390, Jun. 2009.

PITT, J. J.; HOCKING, A. D.; SAMSON, R. A.; KING, A. D. Recommended methods for mycological examination of foods. *In: SAMSON, R. A. (Ed.) Modern Methods in Food Mycology*. Amsterdam: Elsevier Science, 1992, p. 365-368.

ROSSONI, E. M. M.; GAYLARDE C. C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitizing agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopes. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 61, p. 81-85, Oct. 2000.

SALO, S.; EHAVALD, H.; RAASKA, L.; VOKK, R.; WIRTANEN, G. Microbial surveys in Estonian dairies. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, n. 5, p. 460-471, Jun. 2006.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; MÜLLER, E. E.; BARROS, M. A. F.; MORAES, L. B.; GUSMÃO, V. V.; PEREIRA, M. S. Milk contamination in different points of the dairy process. II - Psychrotrophics and Proteolytics microorganisms. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 349-358, Oct. 2004.

SHAH, N. P. Psychrotrophs in milk: a review. **Milchwissenschaft**, Kempten, v. 49, n. 8, p. 432-437, Aug. 1994.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; TEIXEIRA, D. Influência de Microrganismos Psicrótróficos Sobre a Qualidade do Leite Refrigerado. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 55, p. 21-26, Mai-Jun 1998.

SLAGHUIS, B. Sources and significance of contaminants on different levels of raw milk production. *In: International Dairy Federation Symposium on Bacteriological Quality of Raw Milk*. 1996, Wolfpassing, Austria: Wolfpassing Proceedings, 1996, p. 19-27.

SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 8, p. 35-40, Feb. 1997.

WHO. **Guidelines on Cleaning Disinfection and Vector Control in Salmonella enteritidis Infected Poultry Farms**. Genève: World Health Organization, 1993, p. 33.