

O leite, devido à sua riqueza nutritiva, constitui um potencial meio de cultura para o desenvolvimento de diversos microrganismos, sendo muitas vezes veículo de transmissão de doenças para o homem. Dentre os microrganismos presentes no leite *in natura* e responsáveis por provocar surtos de infecção alimentar estão: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Campylobacter jejuni*. O objetivo do estudo foi detectar a presença destas bactérias em propriedades de agricultura familiar do Estado do Rio Grande do Sul. Foram coletadas 548 amostras de leite em dois municípios da região Sul (Santa Vitória do Palmar e São Lourenço do Sul) e cinco municípios da região Noroeste do Estado (Barra do Guarita, Derrubadas, Miraguaí, Tenente Portela e Vista Gaúcha). O DNA foi extraído por protocolo de fenol-clorofórmio, e a identificação molecular foi realizada por PCR Multiplex (uma reação para detectar *E. coli* e *Salmonella* spp. e outra para detectar *C. jejuni* e *L. monocytogenes*). Para verificar a viabilidade do DNA, foi realizada PCR para Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), gene conservado entre os mamíferos. Dentre as amostras coletadas, 25 foram negativas para GAPDH (4,5% de inibição). Das 523 amostras analisadas, 147 foram positivas para a presença de pelo menos um dos patógenos (27,89%). A análise estatística foi realizada no programa JMP, utilizando o teste qui-quadrado (diferença estatística quando $p < 0,05$). Os resultados mostram maior índice de contaminação das amostras no Noroeste gaúcho. *Samonella* spp. foi a bactéria encontrada com maior frequência nas duas regiões. A contaminação por *Campylobacter jejuni* foi maior em amostras de resfriadores do que amostras de animais, indicando que a contaminação por esta bactéria se deve à manipulação pelo homem. O presente estudo é pioneiro em identificar, através de biologia molecular, focos de contaminação por estes patógenos em leites no Rio Grande do Sul. Além disso, ele é de fundamental importância para que estratégias para reduzir os riscos de contaminação, como a orientação sobre boas práticas de manipulação e produção em propriedades leiteiras de agricultura familiar, sejam realizadas.