

Campus Jaru

Coordenação do Curso de Medicina Veterinária

AMANDA FAMBRI ROBERTO

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS
ISOLADAS DO LEITE DE TANQUE COMUNITÁRIO PRODUZIDO EM
TEIXEIRÓPOLIS-RO**

JARU-RO

2026

AMANDA FAMBRI ROBERTO

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS
ISOLADAS DO LEITE DE TANQUE COMUNITÁRIO PRODUZIDO EM
TEIXEIRÓPOLIS-RO**

Artigo entregue como Trabalho de Conclusão de Curso ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO), *Campus* Jarú, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel, junto ao Curso de Medicina Veterinária, sob a orientação do professor Dr. Dionei Joaquim Haas.

JARU-RO

2026

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Gerador de Ficha Catalográfica do IFRO.

Roberto, Amanda Fambri.
Resistência antimicrobiana de bactérias gram-negativas isoladas
do leite de tanque comunitário produzido em Teixeiraópolis-RO /
Amanda Fambri Roberto. - Jarú, 2026.
44 f. : il.

Orientador(a): Prof. Dr. Dionei Joaquim Haas.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina
Veterinária) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de
Rondônia - IFRO, Jarú, 2026.

1. Agricultura familiar. 2. Antibiógrama. 3. Antibióticos. 4.
Enterobacteriaceae. 5. Pseudomonas. I. Haas, Dionei Joaquim
(orient.). II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de
Rondônia - IFRO. III. Título.

Bibliotecário(a) Responsável: Priscila Gomes de Sousa, CRB-11/1121

AMANDA FAMBRI ROBERTO

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS
ISOLADAS DO LEITE DE TANQUE COMUNITÁRIO PRODUZIDO EM
TEIXEIRÓPOLIS-RO**

Artigo entregue como Trabalho de Conclusão de Curso ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO), *Campus* Jarú, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel, junto ao Curso de Medicina Veterinária, sob a orientação do professor Dr. Dionei Joaquim Haas.

Aprovado em: 24 / 07 / 2026 pela banca examinadora.

Profa. Ma. Géssica Raupp Fermiano da Cruz Laia
Membro da Banca

Prof. Me. Marcos José de Oliveira
Membro da Banca

Prof. Dr. Dionei Joaquim Haas
Orientador

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS DO LEITE DE TANQUE COMUNITÁRIO PRODUZIDO EM TEIXEIRÓPOLIS-RO

RESUMO: A produção leiteira em pequenas propriedades de Teixeiraópolis-RO desempenha papel fundamental na economia regional. Contudo, a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado em tanques coletivos enfrenta desafios significativos. Neste estudo o objetivo foi investigar o perfil da resistência antimicrobiana em amostras de leite cru provenientes da agricultura familiar local. As coletas foram realizadas em cinco tanques de refrigeração coletivos, seguidas de análises laboratoriais que incluíram o cultivo das amostras em Ágar EMB e Mueller-Hinton, técnica de coloração de Gram, provas bioquímicas e o método de disco-difusão para determinar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos. Os resultados demonstraram a presença de *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp. e *Klebsiella* spp. nas amostras analisadas. Verificou-se um padrão de multirresistência em 57% dos isolados de *Salmonella* spp. e em 50% dos isolados de *Pseudomonas* spp., além de evidenciar resistência expressiva à tetraciclina e vancomicina. Em contrapartida, o cloranfenicol apresentou eficácia inibitória na maioria dos isolados testados. A resistência observada, aponta para a correlação entre o manejo sanitário deficiente, a ausência de assistência veterinária e o uso indiscriminado de antibióticos nas propriedades. Portanto, a implementação de programas de extensão rural e educação sanitária é essencial para assegurar a qualidade do leite e garantir o uso racional de antibióticos.

PALAVRAS-CHAVE: agricultura familiar; antibiograma; antibióticos; *Enterobacteriaceae*; *Pseudomonas*.

ABSTRACT: Dairy production on small farms in Teixeiraópolis, Rondônia, plays a fundamental role in the regional economy. However, the microbiological quality of raw milk stored in collective cooling tanks faces significant challenges. This study aimed to investigate the antimicrobial resistance profile of raw milk samples from local family farms. Samples were collected from five collective cooling tanks and subjected to laboratory analysis, including culture on EMB and Mueller-Hinton agar, Gram staining, biochemical tests, and the disk-diffusion method to determine antimicrobial susceptibility profiles. The results revealed the presence of *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., and *Klebsiella* spp. in the analyzed samples. A multidrug-resistance pattern was observed in 57% of *Salmonella* spp. isolates and 50% of *Pseudomonas* spp. isolates, alongside significant resistance to tetracycline and vancomycin. Conversely, chloramphenicol demonstrated inhibitory efficacy against the majority of the tested isolates. The observed resistance suggests a correlation between poor sanitary management, a lack of veterinary assistance, and the indiscriminate use of antibiotics on the farms. Therefore, implementing rural extension and sanitary education programs is essential to ensure milk quality and guarantee the rational use of antibiotics.

KEYWORDS: family farming; antibiogram; antibiotics; *Enterobacteriaceae*; *Pseudomona*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 REFERENCIAL TEÓRICO	7
2.1 MICROBIOTA DE LEITE CRU REFRIGERADO COLETIVO E FATORES DE CONTAMINAÇÃO	7
2.2 BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS	9
2.2.1 Família Enterobacteriaceae	11
2.2.2 Gênero Pseudomonas	12
2.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA	14
3 METODOLOGIA	16
3.1 ÁREA DO ESTUDO	16
3.2 AMOSTRAS DE LEITE	17
3.3 LACTOCULTURA	19
3.4 COLORAÇÃO DE GRAM	20
3.5 PROVAS BIOQUÍMICAS	20
3.6 ANTIBIOGRAMA	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 CARACTERIZAÇÃO COLONIAL	25
4.2 BIOQUÍMICA	26
4.3 PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	31
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
6 AGRADECIMENTOS	36
REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

A produção leiteira é uma das bases da economia do Estado de Rondônia, estando presente em mais de 25 mil propriedades rurais. Nesse cenário, o município de Teixeiraópolis destaca-se com 414 propriedades dedicadas à atividade, sendo 28 unidades equipadas com tanques de resfriamento, sistema que recebe a produção de 128 fornecedores (IDARON, 2025). Essa atividade é essencial, pois o leite é um item importante na suplementação alimentar, na geração de emprego e renda para a agricultura familiar, consolidando-se como um dos principais produtos do estado (Ulisses *et al.*, 2022).

O custo elevado para a aquisição dos tanques de resfriamento representa um obstáculo financeiro significativo para pequenos produtores. Nesse cenário, o uso compartilhado desses equipamentos surge como uma estratégia fundamental para viabilizar a permanência e a integração desses produtores no mercado nacional do leite (Dutra; Teixeira, 2019).

De acordo com o Decreto 9.013/2017, Artigo 235, “o leite é definido como o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas” (Brasil, 2020). Do ponto de vista nutricional, o leite destaca-se ao apresentar uma composição rica em gorduras, proteínas, carboidratos, minerais e vitaminas (Reche, 2013).

O leite desempenha um papel fundamental na dieta da população brasileira. No público infantil, é considerado um aliado essencial do desenvolvimento, contribuindo para o crescimento saudável, saúde bucal, hidratação, função cognitiva e a regulação da saciedade. Já entre os adultos, além de ser uma fonte rica de nutrientes, pesquisas indicam que seu consumo regular está associado a benefícios como o auxílio no controle da pressão arterial e a diminuição de riscos cardiovasculares (Sban; Abran, 2023).

Segundo Siqueira *et al.* (2014), o leite de qualidade é baseado em higiene adequada e em um manejo sanitário eficiente. Nesse mesmo cenário, Martins *et al.* (2008) afirmam que a contaminação do leite é influenciada pelo ambiente interno da glândula mamária, principalmente relacionado a mastite, além da superfície externa do úbere e tetos.

Conforme preconizado por Guerreiro *et al.* (2005), a qualidade do leite

também está ligada a outros fatores, como a higienização dos utensílios e equipamentos, abrangendo desde baldes (ordenha manual) até teteiras e mangueiras (ordenha mecânica), coadores e latões, bem como a higiene do ordenhador, além do uso compartilhado de tanques de expansão e falhas no sistema de refrigeração. Ressalta-se, ainda, a importância da água utilizada na sanitização dos equipamentos, a qual deve atender aos padrões de potabilidade para evitar a contaminação do produto.

Apesar da sua importância social e econômica, o leite cru refrigerado atua como um importante veículo de disseminação de microrganismos deterioradores e patogênicos, adquiridos em diversos estágios do fluxo produtivo, representando, assim, um risco à segurança do alimento (Cruvinel; Ribeiro, 2024; Ulisses *et al.*, 2022).

Segundo Souza (2006), a manutenção do leite sob refrigeração por períodos prolongados pode acarretar na multiplicação de microrganismos psicrótrófos, ou seja, que possuem a capacidade de se proliferar mesmo em temperaturas inferiores a 7 °C. Dentre estes, o gênero *Pseudomonas* destaca-se, por causar severos prejuízos na indústria leiteira, devido a sua intensa ação enzimática e a consequente redução da vida útil do produto (Bruzarowski *et al.*, 2017).

Globalmente, estima-se que sejam utilizados cerca de 12 milhões de kg de antibióticos na pecuária, sendo 75% destinados ao tratamento de infecções dos animais. Através disso, a presença de antibióticos pode acarretar no desenvolvimento de multirresistência à antimicrobianos em bactérias presentes no leite (Moghadam, 2016). Visto isso, nota-se um problema alarmante quanto à presença de microrganismos da família *Enterobacteriaceae* e outros bacilos Gram-negativos resistentes a múltiplos antimicrobianos na cadeia láctea (Ramos, 2019). Essa problemática restringe as opções terapêuticas e eleva os riscos de contaminação alimentar.

De maneira geral, produtores de pequenas propriedades rurais frequentemente enfrentam uma escassez de assistência técnica referente ao manejo correto de antibióticos na atividade leiteira. Assim, evidencia-se uma compreensão limitada frente às consequências do mau uso e da resistência antimicrobiana à saúde animal e à saúde pública, além da dificuldade em distinguir antibióticos de outras classes de medicamentos veterinários (Silva, 2018).

Esse consumo desenfreado acelera o desenvolvimento de mecanismos de defesa nas bactérias, o que reduz a eficácia dos tratamentos existentes e pressiona a necessidade constante de pesquisa e criação de novos fármacos antimicrobianos (Júnior, 2019).

Diante desse contexto, evidencia-se a necessidade de avaliar o perfil de resistência bacteriana no leite produzido na região de Teixeiraópolis-RO, visto que se observa uma escassez de informações técnicas entre os pequenos produtores rurais, além da falta de dados científicos a respeito dessa temática. Portanto, neste trabalho o intuito foi investigar a resistência antimicrobiana em leite cru refrigerado de tanque de expansão comunitário, proveniente de pequenas propriedades rurais locais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 MICROBIOTA DE LEITE CRU REFRIGERADO COLETIVO E FATORES DE CONTAMINAÇÃO

A pecuária leiteira nacional é caracterizada por um expressivo processo de modernização, seleção genética e especialização produtiva. Esse avanço tecnológico impulsionou transformações significativas nos sistemas de armazenamento, consolidando o resfriamento na propriedade como fator fundamental para a eficiência da atividade (Souza, 2006).

Do ponto de vista nutricional, o leite é considerado um dos alimentos mais completos, devido a sua elevada concentração de proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais. Porém, essa composição favorece o crescimento de diversos microrganismos. Assim, o leite se torna um excelente substrato para a multiplicação bacteriana, tornando sua qualidade microbiológica dependente da adoção de medidas higiênico-sanitárias rigorosas ao longo de todas as etapas da produção (Guerreiro *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2011).

A microbiota presente no leite cru é influenciada diretamente por diversos fatores relacionados ao ambiente do processamento. A contaminação primária pode ocorrer diretamente a partir do interior da glândula mamária ou do canal do teto, principalmente quando se fala de animais acometidos por mastite clínica ou

subclínica. Por outro lado, a contaminação por fatores externos pode ocorrer através de fontes ambientais, como fezes, solo, água, e equipamentos. Nesse contexto, as condições de higiene durante a ordenha são os principais fatores determinantes para o padrão microbiológico inicial do produto (Yamazi *et al.*, 2010).

No cenário nacional, a persistência de altas contagens de microrganismos mesófilos, coliformes e psicrotróficos fundamenta o panorama qualitativo ainda insatisfatório do leite (Silva *et al.*, 2011). Conforme apontado por Flach (2015), a higienização inadequada de equipamentos como ordenhadeiras, latões, tubulações e tanques de expansão possibilita o acúmulo de resíduos orgânicos. Esse fator, consequentemente, favorece a formação de biofilmes bacterianos, impactando negativamente na integridade microbiológica do alimento.

Com o propósito de regulamentar e mitigar esses gargalos sanitários no país, o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), instituiu as diretrizes regidas pela Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018, a qual determina técnicas preventivas para o uso de tanques coletivos, com o objetivo de assegurar a qualidade do leite cru refrigerado originário de múltiplos produtores rurais, vinculados a estabelecimentos sob inspeção sanitária oficial. Através disso, de acordo com o Artigo 18, § 1º, o leite cru deve ser submetido ao resfriamento em tanques de expansão na propriedade rural, atingindo temperatura igual ou inferior a 4 °C, em um período máximo de três horas (Brasil, 2018).

Quanto à recepção no estabelecimento, segundo o Artigo 30, o limite térmico tolerado é de 7 °C, porém, excepcionalmente, admite-se picos de até 9 °C. Além de parâmetros térmicos, essa normativa institui diretrizes para o manejo nas propriedades, englobando ações voltadas à obtenção de leite de qualidade, e à capacitação dos colaboradores envolvidos nas atividades diárias (Brasil, 2018).

Contudo, a manutenção da qualidade do leite mantido em sistemas de resfriamento comunitários, realidade marcante em pequenas propriedades rurais, enfrenta sérios entraves operacionais. A qualidade inferior do leite mantido nesse sistema decorre do somatório de inconformidades higiênicas, e da falta de sincronia na cadeia produtiva, evidenciada pelo transporte do leite em latões sem refrigeração prévia e a sua inserção no tanque em horários e temperaturas diferentes. (Pereira, 2011).

Embora o resfriamento do leite iniba os agentes mesófilos, como dos gêneros

Lactobacillus, *Streptococcus* e coliformes, que possuem faixa de crescimento entre 20 °C e 40 (Vidal; Netto, 2018), ele estimula o desenvolvimento de bactérias psicrófilas e deterioradoras, entre elas *Pseudomonas*, capaz de produzir enzimas resistentes ao tratamento térmico (Brandão *et al.*, 2013).

Alinhado a isso, segundo Souza (2006), no leite e em seus derivados, a presença desses contaminantes decorre principalmente de fontes ambientais, tais como o solo, a água e os dejetos animais. Além disso, esses fatores atuam como porta de entrada para patógenos e microrganismos indicadores de qualidade, como a família *Enterobacteriaceae*, cujo isolamento evidencia falhas graves no manejo produtivo e riscos iminentes à saúde pública.

O manejo inadequado da sanidade do rebanho, em especial no controle da mastite bovina, correlaciona-se diretamente com o uso indiscriminado de antibióticos na atividade leiteira. A disseminação de microrganismos patogênicos e cepas bacterianas resistentes no tanque coletivo, gera profunda preocupação na comunidade científica, alinhando-se aos alertas da Organização Mundial da Saúde (OMS) que classificam a resistência antimicrobiana como uma das maiores ameaças globais à saúde pública (Souza, 2006; Siqueira *et al.*, 2014; Cruvinel; Ribeiro, 2024). Portanto, torna-se importante detalhar os perfis de resistência dos principais grupos bacterianos que colonizam o leite cru refrigerado nessas condições.

2.2 BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS

As bactérias Gram-negativas possuem um envoltório celular complexo, estruturado por três principais componentes (Figura 1). Destaca-se primeiramente a presença da membrana externa (ME), uma característica protetora e exclusiva que as distingue das bactérias Gram-positivas. Esta membrana é formada por uma bicamada lipídica assimétrica, na qual o folheto interno é rico em fosfolipídios e o folheto externo é composto por lipopolissacarídeos (LPS), determinando sua toxigenicidade e indução de respostas inflamatórias intensas (Breijyeh e Karaman, 2020).

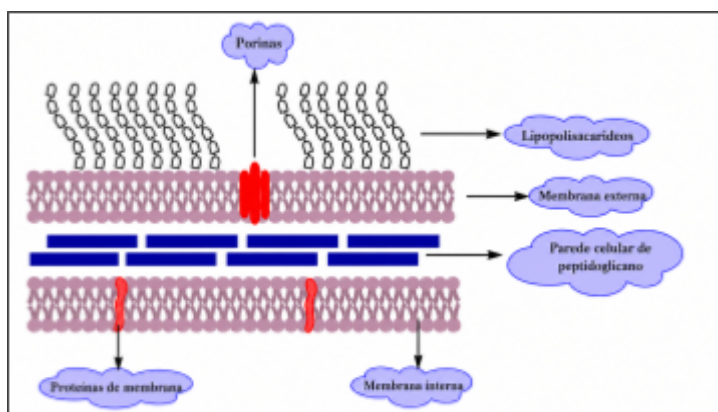
Adicionalmente, a ME integra proteínas específicas, como as porinas, que são responsáveis por facilitar a difusão de metabólitos essenciais de baixo peso molecular, incluindo aminoácidos e pequenos sacarídeos, além de antimicrobianos

hidrofílicos (Breijyeh; Karaman, 2020). Consequentemente, essa barreira, atua como uma linha de defesa, sendo um determinante para a resistência intrínseca desses microrganismos, uma vez que limita a permeabilidade celular, impedindo a penetração de diversas classes de antibióticos (Rajput *et al.*, 2024).

A segunda parte do envoltório celular é constituída por uma fina camada de peptidoglicano, composta por cadeias de N-acetilglicosamina (NAG) e ácido N-acetilmurâmico (NAM). Esta estrutura atua como um exoesqueleto rígido, conferindo forma e integridade à célula (Sa, 2026).

Compondo a terceira camada, encontra-se a membrana interna (MI), caracterizada bioquimicamente como uma bicamada fosfolipídica. Essa camada é encarregada por mediar processos biossintéticos, produção de energia e controlar o transporte transmembrana (Breijyeh; Karaman, 2020).

Figura 1 - Representação esquemática do envoltório celular das bactérias Gram-negativas.



Fonte: Breijyeh; Karaman, 2020.

Devido à sua elevada capacidade de proliferação e disseminação, superior à observada nos cocos Gram-positivos, os bacilos Gram-negativos representam um dos grupos bacterianos de maior preocupação na área de controle de qualidade de alimentos. Do ponto de vista metabólico, esses microrganismos são amplamente subdivididos em duas categorias: os fermentadores, cujo principais microrganismos de importância pertencem à família *Enterobacteriaceae*, e os não fermentadores, frequentemente representados pelas bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* (Ramos, 2019).

Diante disso, a disseminação dessas bactérias, com a capacidade de

mecanismos de resistência antimicrobiana, ao longo da cadeia produtiva do leite, representa um desafio direto à qualidade do produto e à saúde pública. Portanto, faz-se necessário detalhar o perfil dos principais microrganismos Gram-negativos que representam maior importância sanitária no setor lácteo.

2.2.1 Família *Enterobacteriaceae*

A família *Enterobacteriaceae* compreende uma vasta diversidade taxonômica, sendo constituída por 46 gêneros e mais de 263 espécies e subespécies. Seus membros são classificados como bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos e não esporogênicos. De maneira geral, esses microrganismos apresentam temperatura ótima de desenvolvimento a 37 °C e capacidade de produzir ácido a partir da fermentação da glicose. Além disso, crescem bem em ágar MacConkey, pois não são inibidos pelos sais biliares presentes neste meio de cultura. Na clínica veterinária e humana, sobressaem-se gêneros como *Enterobacter* e *Salmonella*, além das espécies *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (Quinn *et al.*, 2007; McVey *et al.*, 2017; Ramos, 2019).

Os coliformes são pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, e frequentemente o isolamento desse grupo atua como um indicador da eficácia das boas práticas e das condições higiênicas na ordenha, de modo que a sua presença evidencia falhas no manejo produtivo. *E. coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* fazem parte dessa categoria. Comumente, habitam o trato gastrointestinal de humanos e animais, sendo eliminados pelas fezes, o que favorece a contaminação do ambiente, como o solo e a água. Esses microrganismos possuem a capacidade de fermentar a lactose e produzir ácido e gás quando incubados de 35 °C a 37 °C. Contudo, existem bactérias que conseguem fermentar a lactose a uma temperatura de 45 °C, sendo destaque desse grupo a *E. coli* (Oliveira, 2000; Siqueira *et al.*, 2014).

Diante desse cenário, observa-se que diversos membros da família *Enterobacteriaceae* possuem a capacidade de sintetizar proteases. A persistência dessa atividade enzimática na matéria-prima deteriora os constituintes lácteos e reduz significativamente a vida de prateleira do produto, consequentemente, gerando impactos econômicos negativos para a indústria de alimentos (Silva *et al.*,

2022).

Além disso, a presença de patógenos no leite cru representa um risco à saúde pública devido à veiculação de enfermidades como a salmonelose, provocada por bactérias do gênero *Salmonella*, e infecções por *E. coli*, agente frequentemente associado à gastroenterites. Ambos os microrganismos destacam-se entre os principais agentes etiológicos das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). Esse cenário ressalta a necessidade de implementar medidas higiênico-sanitárias que assegurem a inocuidade do produto ao longo de toda a cadeia produtiva leiteira (Gualberto *et al.*, 2022).

A infecção por enterobactérias na glândula mamária ocorre usualmente por via ascendente através do canal do teto e pode acometer os animais em qualquer estágio produtivo, inclusive durante a ordenha, sendo comum em casos de mastite ambiental. Entre os patógenos Gram-negativos mais frequentemente isolados em casos de mastite clínica bovina, destacam-se *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp., seguidos por *Serratia* spp. e *Enterobacter* spp (Siqueira *et al.*, 2014).

O estabelecimento da mastite por *E. coli* decorre da contaminação ambiental nos períodos pré e pós-ordenha, seja pelo contato com utensílios de manejo ou pelo uso de água contaminada na higienização do úbere e do equipamento de ordenha mecânica. Por sua vez, a infecção da glândula mamária por *K. pneumoniae* está associada à exposição das vacas, a materiais orgânicos e dejetos fecais presentes no ambiente (Siqueira *et al.*, 2014).

Fica evidente, portanto, a alta relevância clínica e epidemiológica da família *Enterobacteriaceae* na cadeia do leite. Esse panorama crítico é sustentado pelos diversos mecanismos determinantes de resistência, os quais limitam as opções terapêuticas disponíveis (Brasil, 2020).

2.2.2 Gênero *Pseudomonas*

As bactérias do gênero *Pseudomonas* são bastonetes aeróbicos Gram-negativos, e apresentam uma parede celular circundada por uma cápsula de carboidrato. A cápsula deste microrganismo, composta por uma estrutura polissacarídica de aspecto mucoide, atua como um mecanismo de defesa contra o sistema imune do hospedeiro, inibindo a ação das células fagocíticas. Além disso,

essa estrutura favorece a adesão a superfícies, facilitando a formação de biofilmes e conferindo à maioria das cepas resistência aos antimicrobianos convencionais (McVey *et al.*, 2017).

Esse microrganismo constitui o maior gênero de bactérias encontradas em alimentos *in natura*. De modo geral, a sua presença manifesta-se visualmente por meio da produção característica de pigmentos azul-esverdeados, indicativo do processo de deterioração (Ramos, 2019).

Pseudomonas desempenha um papel crítico na deterioração do leite cru devido ao seu caráter psicrotrófico, o que lhe permite proliferar eficientemente durante a etapa de refrigeração. Sua faixa de crescimento estende-se de 4 °C a 42 °C, com temperatura ótima de desenvolvimento em torno de 20 °C, destacando-se ainda por sua marcante atividade proteolítica e lipolítica. Além disso, sua ampla diversidade genética e versatilidade metabólica viabilizam a colonização de diferentes nichos, incluindo superfícies e equipamentos da linha de produção. As espécies *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* e *P. putida* são apontadas pela literatura como as mais relevantes no leite (Ramos, 2019).

Embora as bactérias do gênero *Pseudomonas* sejam facilmente eliminadas pelo processo de pasteurização, as lipases e proteases por elas secretadas, apresentam elevada termorresistência, permanecendo ativas mesmo após pasteurização, consistindo no principal entrave associado a esse microrganismo (Faria *et al.*, 2024).

As enzimas proteolíticas promovem a desestabilização das micelas de caseína, comprometendo a estabilidade proteica do leite, que é um requisito fundamental para o processamento industrial. Além disso, apresentam alto poder inflamatório ao intestino humano, provocando distúrbios intestinais. Paralelo a isso, as lipases catalisam a hidrólise dos triacilgliceróis da gordura láctea, desencadeando a liberação de ácidos graxos livres que resultam em defeitos sensoriais de sabor e aroma no leite e em seus derivados (Faria *et al.*, 2024).

As manifestações decorrentes da atividade deteriorante de *Pseudomonas* spp. oscilam de forma significativa, sendo fortemente influenciadas pela especificidade de cada cepa e pelas condições de cultivo (Ferreira *et al.*, 2016).

No âmbito industrial, a *P. fluorescens* destaca-se como a espécie mais frequentemente isolada em derivados lácteos, apresentando também o maior

potencial de síntese de enzimas deteriorantes. Por outro lado, sob a perspectiva da saúde pública, a *P. aeruginosa* assume maior relevância nesse cenário, sobressaindo-se por sua notável capacidade de desenvolver resistência adquirida a múltiplos antimicrobianos (Ramos, 2019).

2.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA

O panorama global da resistência antimicrobiana foi classificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2012, como um dos três maiores desafios sanitários deste século. A rápida dispersão de cepas resistentes, reduz as opções terapêuticas disponíveis tanto na medicina humana quanto na veterinária, exercendo um problema relacionado à eficácia dos antibióticos convencionais já consolidados no mercado (Brasil, 2022).

A ampla disponibilidade de antibióticos no mercado veterinário frequentemente sem prescrição veterinária, fomenta terapias empíricas, uso irracional e indiscriminado no campo. Nas pequenas propriedades rurais, a administração rotineira de medicamentos, evidenciada pela negligência, atua como um potente fator de seleção sobre a microbiota animal. Esse manejo inadequado acelera a ocorrência da resistência bacteriana, reduzindo drasticamente a eficácia dos fármacos. Como resultado, esse fato, gera severos prejuízos econômicos para o setor produtivo de leite e estabelece um grave risco epidemiológico para a população humana, devido à veiculação de patógenos resistentes por meio do consumo de alimentos de origem animal (Silva, 2018).

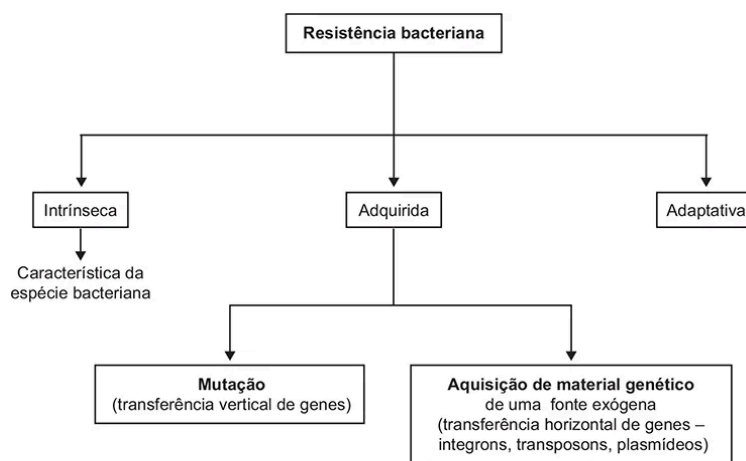
Os antibióticos possuem a capacidade de atuar como agentes bacteriostáticos ou bactericidas, controlando infecções bacterianas. Entretanto, a utilização incorreta e desnecessária destes compostos acelera o surgimento de microrganismos e cepas resistentes (Spinosa *et al.*, 2021).

Entende-se por resistência bacteriana a incapacidade que um determinado composto antimicrobiano tem em inibir o crescimento ou promover a destruição de uma linhagem bacteriana que, anteriormente, apresentava perfil de sensibilidade. Esse fenômeno é o resultado de mutações genéticas, que desenvolvem mecanismos moleculares adaptativos capazes de codificar genes de resistência e neutralizar a ação das drogas. A partir disso, a resistência antimicrobiana constitui

um dos maiores desafios impostos à prática médica e veterinária na atualidade (Brasil, 2022).

Visto isso, as bactérias podem apresentar três tipos de resistência: intrínseca, adquirida e adaptativa (Figura 2).

Figura 2 - Tipos de resistência bacteriana.



Fonte: Spinosa *et al.*, 2021.

Um exemplo de resistência intrínseca pode ser observado na arquitetura da membrana externa das bactérias Gram-negativas. Esta estrutura atua como uma barreira de permeabilidade seletiva, restringindo o acesso de diversas classes de antimicrobianos. Em virtude dessa barreira física, essas bactérias apresentam, de modo geral, um perfil de resistência natural superior ao observado nas Gram-positivas (Spinosa *et al.*, 2021).

Diferentemente da resistência intrínseca, a resistência adquirida ocorre quando uma espécie bacteriana, anteriormente suscetível a determinado antimicrobiano, passa a exibir resistência. Esse processo resulta de alterações na arquitetura genômica, seja através da ocorrência de mutações espontâneas ou pela aquisição de material genético exógeno, como plasmídeos (Spinosa *et al.*, 2021).

Já a resistência adaptativa é desencadeada por alterações nas condições ambientais que impõem estresse à célula bacteriana. Fatores como variações de pH, disponibilidade de nutrientes, ou condições de estresse oxidativo podem induzir a bactéria a modificar seu metabolismo, conferindo-lhe assim, uma resistência que não depende de alterações genéticas (Spinosa *et al.*, 2021).

Na família *Enterobacteriaceae*, a principal estratégia de resistência aos antibióticos β -lactâmicos e aminoglicosídeos, por exemplo, consiste na síntese de enzimas específicas capazes de inativar quimicamente o fármaco, impedindo sua ação terapêutica. No caso dos β -lactâmicos, o mecanismo de resistência é mediado pela produção de β -lactamases, enzimas secretadas para o espaço periplasmático que hidrolisam e quebram o anel betalactâmico, estrutura essencial desses antibióticos. Por sua vez, a resistência aos aminoglicosídeos ocorre por meio de enzimas modificadoras, que provocam alterações estruturais na molécula do fármaco, comprometendo a sua capacidade de ligação ao alvo bacteriano (Brasil, 2020).

Em relação aos bacilos Gram-negativos não fermentadores da glicose, como é o caso do gênero *Pseudomonas*, o perfil de resistência é multifatorial. Esse microrganismo destaca-se pela capacidade de combinar diversos mecanismos de defesa, como a expressão de bombas de efluxo, a produção de β -lactamases intrínsecas, a redução da permeabilidade da membrana externa e alterações nos alvos enzimáticos, como as topoisomerasas. Essa versatilidade genética, somada à facilidade na aquisição de novos genes de resistência, confere ao gênero *Pseudomonas* uma elevada capacidade de adaptação frente a diferentes regimes terapêuticos (Brasil, 2020).

Portanto, no âmbito da produção leiteira em pequenas propriedades, a presença de bactérias resistentes nos tanques de resfriamento não apenas desafia a eficácia dos tratamentos veterinários, mas estabelece a transmissão de determinantes para a resistência de bactérias na cadeia alimentar.

3 METODOLOGIA

3.1 ÁREA DO ESTUDO

O território rondoniense é subdividido em duas mesorregiões geográficas distintas. Dentre elas, a mesorregião Leste Rondoniense agrupa seis microrregiões específicas: Ariquemes, Cacoal, Alvorada do Oeste, Colorado do Oeste, Ji-Paraná e Vilhena (Rondônia, 2019).

Ocupando aproximadamente 11% do território estadual, a microrregião de

Ji-Paraná totaliza 25.088,40 km² e engloba um bloco de onze municípios: Governador Jorge Teixeira, Jaru, Ji-Paraná, Mirante da Serra, Teixeirópolis, Theobroma, Urupá, Nova união, Ouro Preto do Oeste, Vale do Paraíso e Presidente Médici. Sob a influência direta do município de Ji-Paraná, a área articula-se em torno de sua infraestrutura e relevância socioeconômica regional (Rondônia, 2015).

De acordo com a classificação de Köppen-Geiger, o regime climático da região de Teixeirópolis-RO se enquadra em tropical de monção (Am) (Alvares, *et al.*, 2013; Cegatta, 2026). Sendo assim, o município, caracteriza-se por possuir duas épocas bem delimitadas: uma estação seca, que ocorre entre junho e agosto, e um período caracterizado pelo regime de chuvas, concentrado de outubro a abril. Os meses de maio e setembro são períodos de transição climática (Carvalho, 2012).

A atividade leiteira da região, caracteriza-se, predominantemente, pelo modelo de agricultura familiar, a qual constitui o pilar de sustentação da economia rural do município. Nesse contexto, observa-se que a infraestrutura produtiva é marcada, principalmente, pela adoção da ordenha manual como técnica de manejo e baixa tecnificação (Dias; Oliveira; Macedo, 2023).

3. 2 AMOSTRAS DE LEITE

As coletas foram realizadas durante o período matutino em cinco tanques de refrigeração de uso coletivo, localizados em pequenas propriedades rurais no município de Teixeirópolis-RO, sendo obtida uma amostra de leite cru refrigerado por tanque. A distribuição dos fornecedores, categorizada por localização e unidade de resfriamento, está detalhada na Tabela 1.

Tabela 1 - Quantitativo de produtores rurais por unidade de armazenamento e linha de coleta.

Linha / KM	Tanque	Nº de Fornecedores
24 - Km 37	A	2
24 - Km 37	B	14
28 - Km 37	C	6
28 - Km 37	D	15
32 - Km 37	E	17
TOTAL		54

Fonte: Elaborado pela autora, 2026.

A coleta foi realizada com o uso de luvas de procedimento descartáveis e coletores individuais estéreis com capacidade de 80 mL, sendo colhidos aproximadamente 40 mL de leite por frasco (Figura 3). Imediatamente após a coleta, as amostras foram devidamente identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável para a manutenção da refrigeração durante o armazenamento temporário e o transporte (Barbosa *et al.*, 2024).

As amostras foram transportadas, dentro de um período de 2 horas, ao Laboratório de Biologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO), *Campus* Jaru, onde foram submetidas às análises microbiológicas ao longo do mês de novembro de 2025.

Figura 3 - Coleta de leite cru refrigerado em tanque de expansão.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

3. 3 LACTOCULTURA

As análises microbiológicas foram realizadas em capela de fluxo laminar, previamente submetida à esterilização por luz ultravioleta (UV), visando garantir a biossegurança e a acurácia nas análises das amostras, conforme demonstrado na figura 4.

Para o isolamento e a diferenciação de bacilos Gram-negativos, com foco nos gêneros da família *Enterobacteriaceae*, utilizou-se como meio de cultura o Ágar Eosina Azul de Metileno - EMB de Levine (IonLab®, Brasil).

De acordo com Tortora *et al.* (2025), a semeadura inicial deve ser conduzida pelo esgotamento em placas. Para tanto, uma alça bacteriológica estéril de 10µL foi imersa na amostra de leite, e em seguida, realizou-se a técnica de estriamento no meio de cultura, método que permite o esgotamento progressivo das células bacterianas até que alcancem o afastamento necessário para o crescimento isolado (Adkins *et al.*, 2017) (Figura 4).

Após o procedimento, as placas foram devidamente identificadas e incubadas em posição invertida, em estufa bacteriológica sob temperatura controlada entre 35 °C a 37 °C em aerobiose, por um período de 48 horas. Transcorrido esse tempo, procedeu-se à leitura das placas, com foco na observação da macromorfologia das colônias (Adkins *et al.*, 2017).

Figura 4 - Procedimento de semeadura por esgotamento em placa.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

Após a cultura primária, visando o isolamento purificado e o refinamento da identificação taxonômica, realizou-se o procedimento de subcultura. A partir da

seleção de colônias isoladas na placa primária, coletaram-se amostras utilizando alças bacteriológicas estéreis, as quais foram inoculadas em novas placas, contendo Ágar EMB e Ágar Mueller-Hinton (Kasvi®, Brasil). A utilização do Ágar Mueller-Hinton nesse caso, foi direcionada especificamente para favorecer a identificação e o crescimento de bactérias do gênero *Pseudomonas*, através da observação da produção de pioverdina (pigmento verde-amarelado). Por fim, as placas foram submetidas a um novo período de incubação, sob as mesmas condições de tempo e temperatura anteriormente descritas.

3.4 COLORAÇÃO DE GRAM

A coloração de Gram foi utilizada para a diferenciação morfológica dos isolados bacterianos, seguindo as técnicas preconizadas por Tortora *et al.* (2025) e Vermelho *et al.* (2019). O preparo do esfregaço iniciou-se com a deposição de uma gota de água destilada sobre as lâminas de microscopia previamente identificadas. Assim, com o auxílio de uma alça de platina esterilizada através da flambagem, uma colônia isolada de cada cultura, foi transferida para a lâmina correspondente e homogeneizada. Após isso, o esfregaço foi submetido à fixação por calor, utilizando-se a chama de um bico de Bunsen.

Para a coloração, os reagentes utilizados foram: Violeta Genciana, Lugol Fraco, Solução Descorante (Laborclin®, Brasil) e Fucsina Diluída (Renylab®, Brasil). Dessa maneira, o protocolo de coloração seguiu a seguinte sequência: aplicação de Violeta Genciana por 1 minuto, seguida de lavagem com água destilada. Em seguida, utilizou-se a solução de lugol pelo mesmo período, com posterior lavagem. A etapa de descoloração foi executada com solução descorante até que o escoamento do solvente se apresentasse transparente. Finalizando o processo, aplicou-se a fucsina por 45 segundos como contracorante, seguida de lavagem final. Após a secagem das lâminas, as amostras foram submetidas à análise em microscopia óptica com objetiva de imersão (100x) para a determinação da morfologia e coloração bacteriana (Tortora *et al.*, 2025; Vermelho *et al.*, 2019).

3.5 PROVAS BIOQUÍMICAS

Para a realização das provas bioquímicas, seguiram-se as recomendações técnicas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2013). A partir disso, utilizaram-se os seguintes meios de cultura: Ágar Tríplice Açúcar Ferro - TSI (IonLab®, Brasil), Ágar Citrato de Simmons (Himedia®, Índia) e meio SIM (Sulfeto, Indol e Motilidade) (Kasvi®, Brasil). Os meios foram preparados conforme as especificações dos fabricantes.

O meio TSI (Figura 5) foi empregado para a diferenciação de enterobactérias, permitindo avaliar a fermentação de carboidratos (dextrose, lactose e sacarose) e a produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S). A técnica de inoculação consistiu na seleção de uma colônia isolada, a qual foi coletada com auxílio de uma agulha bacteriológica de platina, previamente flambada em bico de Bunsen. A inoculação foi realizada por meio de picada central até o fundo do tubo, seguida de estriamento na superfície inclinada (Brasil, 2013).

A interpretação desse teste, fundamenta-se nas alterações fenotípicas após o período de incubação. O perfil de fermentação dos carboidratos é determinado pela mudança de coloração do meio: a coloração vermelho (inclinação)/amarelo (base) indica que ocorreu fermentação exclusiva da glicose, enquanto a coloração amarelo (inclinação)/amarelo (inclinação), evidencia a fermentação da glicose combinada à lactose e/ou sacarose. Adicionalmente, a produção de gás é caracterizada pela formação de bolhas, e o H_2S é confirmado pela presença de um precipitado negro no tubo (Brasil, 2013).

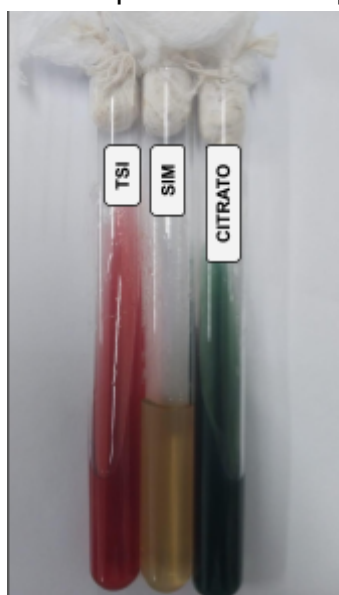
O teste do Citrato de Simmons (Figura 5) é realizado com o objetivo de verificar a capacidade das bactérias de utilizar o citrato como única fonte de carbono. Assim, para este procedimento, utilizou-se uma alça de inoculação estéril para transferir a colônia isolada, procedendo-se com o estriamento apenas na superfície inclinada do meio de cultura, sem realizar a perfuração da base do tubo. A interpretação do teste considera como resultado positivo a mudança da coloração do meio para azul. Por outro lado, o resultado negativo é caracterizado pela manutenção da coloração original do meio (Brasil, 2013).

Já o meio SIM (Figura 5), é utilizado para a verificação da motilidade bacteriana, produção de indol e produção de H_2S . Dessa forma, a inoculação foi realizada com o auxílio de uma agulha bacteriológica, pela qual a colônia isolada foi introduzida por picada vertical na região central do meio, até a base do tubo.

Posteriormente, a agulha foi retirada seguindo a mesma linha de inserção. A motilidade é considerada positiva quando os microrganismos apresentam crescimento difuso, com turbidez do meio a partir da linha de inoculação, enquanto a motilidade negativa é caracterizada pelo crescimento restrito à linha de inoculação, mantendo o restante do meio límpido. Já a produção de H_2S é identificada pela formação de um precipitado negro, e a ausência desta coloração é interpretada como resultado negativo para a produção de sulfeto de hidrogênio (Brasil, 2013).

Após o processo de inoculação, os tubos foram vedados com buchas de algodão hidrófobo (Figura 5) e incubados a 35 °C por um período de 24 horas. Subsequente a esse intervalo de tempo, as provas bioquímicas passaram por análise, conforme os critérios estabelecidos. Assim, procedeu-se à tabulação dos resultados obtidos, consolidando o perfil bioquímico das amostras.

Figura 5 - Meios de cultura para testes bioquímicos diferenciais.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

3.6 ANTIBIOGRAMA

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), também conhecido como antibiograma, foi determinado pelo método de disco-difusão de Kirby-Bauer (Hudzicki, 2009), seguindo as diretrizes e os pontos de corte estabelecidos pelo Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST, 2025).

Para a execução da técnica, utilizou-se o ágar Mueller-Hinton (MH) (Kasvi®,

Brasil), preparado conforme as instruções do fabricante. O meio foi adicionado em placas de Petri, mantendo-se uma espessura padronizada de aproximadamente 4,0 mm, conforme preconizado pelas normas técnicas (BrCAST, 2025).

Para a padronização do inóculo, preparou-se a suspensão de turbidez 0,5 na escala de McFarland, equivalente a 1×10^8 UFC/mL, utilizando Cloreto de Bário (BaCl_2) (Dinâmica®, Brasil) e Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) (Perfyl Tech®, Brasil). Inicialmente, preparou-se a Solução A pela dissolução de 1,175 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 100 ml de água destilada, resultando em uma concentração de 0,048 mol/L. Paralelamente, preparou-se a Solução B, adicionando-se 1,0 mL de H_2SO_4 a 100 mL de água destilada, obtendo-se uma solução de 0,18 mol/L. A suspensão final foi obtida pela mistura de 0,5 mL da Solução A com 99,5 mL da Solução B (BrCAST, 2025).

O inóculo bacteriano foi preparado a partir da suspensão direta de colônias isoladas em solução salina estéril (NaCl 0,85%). A partir disso, através de um suabe, as colônias foram transferidas para a solução salina e homogeneizadas. A densidade foi ajustada de modo a conferir à suspensão uma turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland. Assim, para garantir a precisão do ajuste, a comparação visual entre a suspensão preparada e o padrão foi realizada contra um fundo branco contendo linhas pretas de contraste (BrCAST, 2025).

Após o ajuste da turbidez, procedeu-se com a inoculação das amostras em placas contendo ágar MH. Para tanto, um suabe estéril passou por imersão na suspensão bacteriana, sendo o excesso de líquido eliminado através da compressão do algodão contra a parede interna do tubo. O inóculo foi espalhado sobre toda a superfície do meio de cultura, percorrendo a placa em três direções diferentes, de modo a garantir uma distribuição uniforme e a ausência de falhas entre as estrias (BrCAST, 2025).

Em seguida, aplicaram-se os discos de antibióticos: azitromicina (AZI), cloranfenicol (CLO), ceftriaxona (CRO), estreptomicina (EST), tetraciclina (TET) e vancomicina (VAN) (Sensifar®, Brasil) (Tabela 2). Os seis discos foram uniformemente espaçados e levemente pressionados contra a superfície para garantir o contato adequado e a difusão dos fármacos no meio. Após a aplicação dos discos, procedeu-se a inversão e a incubação, em estufa bacteriológica, a 35 °C sob aerobiose por um período de 24 horas (BrCAST, 2025).

Tabela 2- Antibióticos empregados para a avaliação de resistência.

Classe	Antibiótico	Código
Macrolídeos	Azitromicina 15 µg	AZI
Anfenicóis	Cloranfenicol 30 µg	CLO
Cefalosporina (3ª geração)	Ceftriaxona 30 µg	CRO
Aminoglicosídeos	Estreptomicina 10 µg	EST
Tetraciclina	Tetraciclina 30 µg	TET
Glicopeptídeos	Vancomicina 30 µg	VAN

Fonte: Elaborada pela autora, 2026.

Por fim, após o período de incubação, as placas passaram por leitura visual dos halos de inibição. Os diâmetros foram aferidos com o auxílio de uma régua milimetrada (Figura 6) e paquímetro, considerando-se como borda do halo o ponto de completa inibição do crescimento bacteriano perceptível a olho nu. Dessa forma, os dados obtidos a partir das medições forneceram a base para a tabulação e organização para a análise comparativa frente aos pontos de corte estabelecidos pelo BrCAST (2025), de maneira a classificar a sensibilidade dos microrganismos de acordo com os antimicrobianos testados. Além disso, o percentual dos dados foram calculados através do programa *Microsoft Excel*.

Figura 6 - Leitura dos halos de inibição através de uma régua milimetrada.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

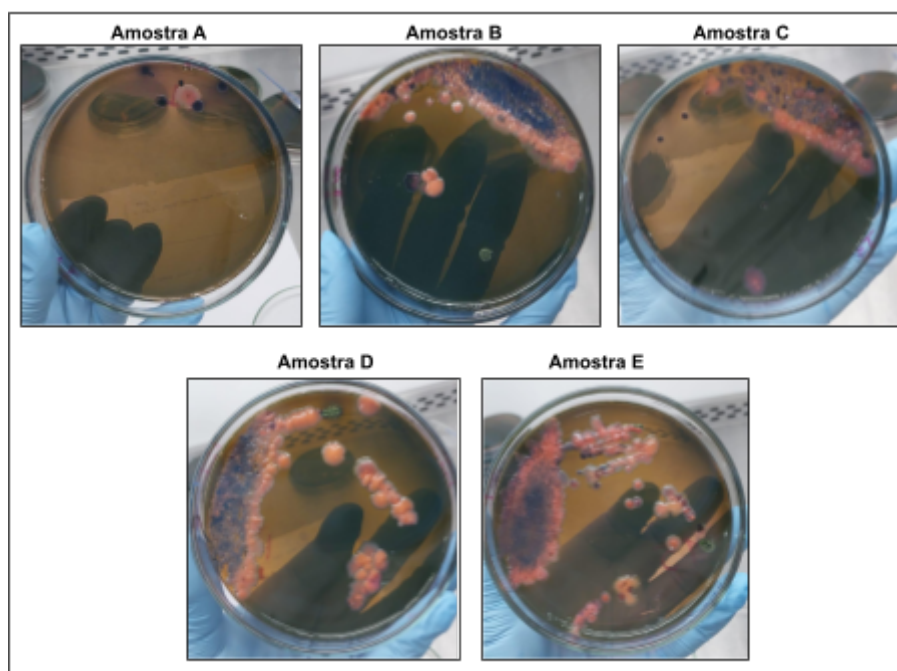
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO COLONIAL

O cultivo em Ágar EMB resultou no crescimento bacteriano de todas as amostras provenientes dos cinco tanques de refrigeração, conforme pode ser observado na figura 7, a partir das quais foram selecionados 15 morfotipos/colônias dominantes para posterior caracterização através de provas bioquímicas e de sensibilidade no TSA.

A análise morfológica das colônias revelou uma diversidade fenotípica expressiva, com o predomínio de colônias com aspecto cremoso e coloração rósea, seguidas por colônias mucoides em tons de azul e arroxeado. Adicionalmente, foram identificadas colônias características com brilho verde metálico sob luz refletida, padrão de leitura condizente com as diretrizes da ficha técnica estabelecida pelo Laborclin®, Brasil (2009) para a diferenciação de enterobactérias em Ágar EMB.

Figura 7 - Caracterização macromorfológica de isolados bacterianos obtidos de tanques de leite refrigerado após 48h de crescimento.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

O aspecto mucoide observado em parte dos isolados constitui uma característica relevante, pois pode estar associado à expressão de genes

responsáveis pela produção de biofilme. Essa característica possibilita a sobrevivência dos microrganismos, garantindo a capacidade proliferativa em ambientes (Silva, 2024).

Nos biofilmes, a organização bacteriana resulta no encapsulamento dos microrganismos por uma matriz extracelular composta por polímeros. Essa estrutura atua como uma barreira física que limita a penetração de antibióticos, consolidando-se como um mecanismo de resistência (Silva, 2024). Assim, a formação de biofilmes em tanques de refrigeração favorece a resistência bacteriana, além de comprometer a qualidade do produto, e propiciar a veiculação de agentes patogênicos. Diante desse cenário, a adoção de protocolos rigorosos de higienização nas etapas de processamento, torna-se indispensável para mitigar a carga microbiana e prevenir a formação de biofilmes (Miguel *et al.*, 2014).

Conforme ressaltado por Miguel *et al.* (2014), a colonização de microrganismos deteriorantes, como as bactérias psicrófilas, reconhecidas pela produção de enzimas termorresistentes, em superfícies, representa um desafio crítico para o setor lácteo.

Além disso, a posterior subcultura em ágar MH permitiu a identificação de quatro isolados caracterizados pela produção de um pigmento esverdeado, denominado pioverdina, e pela exalação de um odor adocicado característico. De acordo com Silva (2024), tais fenótipos são sugestivos de *Pseudomonas* spp. O gênero *Pseudomonas* é amplamente reconhecido pela sua ubiquidade e versatilidade metabólica, capacidade de formar biofilmes, resistência a múltiplos agentes e habilidade de proliferação sob refrigeração. Essas propriedades representam um risco significativo à qualidade do produto e à segurança do consumidor.

4.2 BIOQUÍMICA

A caracterização dos microrganismos isolados envolveu o uso da coloração de Gram e de testes bioquímicos, permitindo o registro detalhado de suas propriedades fenotípicas e morfológicas, conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização dos morfotipos isolados do leite cru de Teixeiraópolis-RO.

Amostra/ Morfotipo	Caracterização Morfotintorial	Caracterização Bioquímica	Identificação Presuntiva
A/M1	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (+), gás (+) e H ₂ S (-); Citrato (-); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (-).	<i>Escherichia coli</i>
A/M2	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (-), lactose/sacarose (-), gás (-) e H ₂ S (-); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Pseudomonas</i> spp.
B/M3	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (-), lactose/sacarose (-), gás (-) e H ₂ S (+); Citrato (-); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Salmonella</i> spp.
B/M4	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (-), gás (+) e H ₂ S (+); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Salmonella</i> spp.
B/M5	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (-), gás (+) e H ₂ S (-); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Salmonella</i> spp.
C/M6 C/M7 C/M8	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (-), lactose/sacarose (-), gás (-) e H ₂ S (-); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (-).	<i>Pseudomonas</i> spp.
D/M9	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (-), gás (-) e H ₂ S (+); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Salmonella</i> spp.
D/M10	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (-), gás (+) e H ₂ S (+); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Salmonella</i> spp.
D/M11	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (-), gás (-) e H ₂ S (+); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Salmonella</i> spp.
E/M12 E/M13	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (+), gás (+) e H ₂ S (-); Citrato (+); SIM: motilidade (-) e H ₂ S (-).	<i>Klebsiella</i> spp.
E/M14	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (-), gás (+) e H ₂ S (+); Citrato (+); SIM: motilidade (+) e H ₂ S (+).	<i>Salmonella</i> spp.
E/M15	Bacilo Gram-Negativo	TSI: glicose (+), lactose/sacarose (+), gás (+) e H ₂ S (-); Citrato (+); SIM: motilidade (-) e H ₂ S (-).	<i>Klebsiella</i> spp.

M = Morfotipo; (+) = Positivo; (-) = Negativo.

Fonte: Elaborado pela autora, 2026.

De acordo com Vermelho *et al.* (2019), o método de coloração de Gram, estabelecido pelo bacteriologista Hans Christian Gram em 1884, consolidou-se como método de triagem para a classificação bacteriana. Sua principal finalidade é distinguir os grupos bacterianos em duas grandes categorias morfotintoriais, denominadas Gram-positivas e Gram-negativas, sendo assim, essa técnica é fundamental para o diagnóstico microbiológico.

A coloração de Gram baseia-se nas diferenças estruturais das paredes celulares bacterianas e na sua capacidade de retenção de corantes. Dessa forma, as bactérias Gram-positivas, composta por uma densa rede de peptidoglicano, retém o complexo do corante mesmo após a lavagem, mantendo a coloração roxa. Já nas bactérias Gram-negativas o solvente solubiliza a membrana externa lipídica e atravessa a camada delgada de peptidoglicano, permitindo a extração do corante e deixando as células descoradas. Por fim, a aplicação de um contracorante, como a fucsina, confere a coloração rosada às células, permitindo a distinção visual entre os dois grupos (Vermelho *et al.*, 2019). A partir disso, todas as colônias isoladas apresentaram perfil de bacilos Gram-negativo (Tabela 3).

Após a coloração de Gram as bactérias foram submetidas a testes bioquímicos para identificação fenotípica seguindo o protocolo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2013). A série bioquímica utilizada foram os meios TSI, Citrato e SIM.

O meio de cultura TSI foi utilizado para avaliar a capacidade fermentativa dos 15 isolados bacterianos frente à glicose, sacarose e lactose, além de verificar a produção de gás e H₂S, que ocorre após a acidificação do meio. Os resultados revelaram um perfil metabólico diversificado entre as colônias, uma vez que 10 isolados demonstraram fermentação de glicose (M1, M4, M5, M9, M10, M11, M12, M13, M14 e M15), fenótipo compatível com os gêneros *Escherichia*, *Salmonella* e *Klebsiella* (Brasil, 2013).

Quanto à fermentação da lactose/sacarose, quatro isolados (M1, M12, M13 e M15) apresentaram resultados positivos e portanto, sugestivos de *E. coli* e *Klebsiella* spp. Além disso, observou-se a produção de gás em nove morfotipos (M1, M4, M5, M9, M10, M12, M13, M14 e M15), resultado direto do metabolismo fermentativo dos carboidratos presentes no meio. Adicionalmente, seis amostras (M3, M4, M9, M10, M11 e M14) exibiram a produção de H₂S, característica bioquímica marcante para a

identificação presuntiva de *Salmonella* spp (Brasil, 2013).

A prova do citrato visou identificar isolados capazes de crescer em meio de cultura onde o citrato constitui-se como a única fonte de carbono disponível. Este fenótipo é característico de bactérias que sintetizam a enzima citrase, possibilitando a utilização desta molécula orgânica no metabolismo energético do microrganismo. Valores de pH superiores a 7,6 indicam a alcalinização do meio, processo decorrente da metabolização de compostos nitrogenados na amônia. Essa alteração promove a viragem do indicador de pH para a coloração azul, caracterizando um resultado positivo para a prova bioquímica. Essa capacidade metabólica é característica de diversas espécies pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Klebsiella* e *Salmonella* (Vermelho et al., 2019). Diante disso, observou-se que a maioria dos isolados apresentou perfil positivo, sendo registrado resultado negativo apenas nas amostras M1 e M3.

O meio SIM foi empregado para a avaliação da motilidade bacteriana e da produção de H₂S. Quanto à motilidade, apenas três isolados se apresentaram imóveis (M12, M13 e M15), fenótipo compatível com o gênero *Klebsiella*. Em relação à produção de H₂S, os isolados M1, M6, M7, M8, M12, M13 e M15 foram negativos, perfil condizente com a presença de *E. coli*, *Pseudomonas* spp. e *Klebsiella* spp. de acordo com as normas de interpretação (Brasil, 2013).

A análise microbiológica revelou a presença de *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp. e *Klebsiella* spp. Dos 15 isolados analisados, 11 foram classificados como membros da família *Enterobacteriaceae*, enquanto os demais foram identificados como *Pseudomonas* spp. Além disso, observou-se a ocorrência de contaminação mista em determinadas amostras: na Amostra A, detectou-se a presença concomitante da *E.coli* e *Pseudomonas* spp., enquanto na Amostra 5, verificou-se a associação entre *Klebsiella* spp. e *Salmonella* spp (Tabela 3).

O canal do teto constitui a principal via de entrada para infecções por enterobactérias em bovinos leiteiros. Nesse contexto, os agentes Gram-negativos mais comumente identificados em casos de mastite clínica ambiental incluem *E coli* e *Klebsiella* spp (Locatelli et al., 2010).

A *E. coli* é amplamente reconhecida como um indicador de contaminação fecal em alimentos e água. Na bovinocultura leiteira, a contaminação por este agente ocorre tipicamente pela via ascendente do canal do teto, sendo favorecida

por falhas higiênicas durante os procedimentos ordenha, ou pela contaminação de utensílios e da água utilizada na limpeza do úbere e dos equipamentos empregados na obtenção do leite (Siqueira et al., 2014). Assim, no presente estudo, o isolamento de *E. coli* na Amostra A, corrobora com os achados de Siqueira et al. (2014), que de 89 amostras de leite cru de tanques de expansão coletivos, foi identificado a presença de um isolado do mesmo microrganismo.

Na Amostra E, detectaram-se três isolados de *Klebsiella* spp. Este achado é consistente com os resultados descritos por Siqueira et al. (2014), que também registraram a presença deste microrganismo em amostras de leite cru provenientes de tanques coletivos. A detecção de *Klebsiella* spp. é um indicativo de contaminação ambiental na glândula mamária. A presença deste patógeno no leite cru está diretamente associada a deficiências nas práticas de manejo, incluindo a exposição dos animais a substratos orgânicos contaminados com fezes, umidade excessiva nas instalações e falhas na higienização durante o processo de ordenha (Carvalho et al., 2026).

Dentre os 15 isolados obtidos, constatou-se a presença de *Salmonella* spp. em sete deles, sendo distribuídos entre as amostras B, D e E. Esta frequência elevada diverge com os relatos na literatura, uma vez que Nero (2005), em um estudo com 210 amostras, não detectou o patógeno, enquanto Kessel et al. (2004) identificaram uma prevalência de apenas 2,6% em 861 amostras de leite de tanques de expansão nos Estados Unidos. A partir disso, nota-se que a presença de *Salmonella* spp. nestes sistemas de armazenamento não é considerada frequente (Generoso; Langoni, 2011). Contudo, os resultados obtidos no presente estudo acendem um alerta preocupante para a saúde pública.

A presença de *Salmonella* spp. está diretamente associada às etapas iniciais da cadeia de produção leiteira, ocorrendo principalmente por meio da contaminação fecal. Assim, o leite cru atua como um importante veículo de transmissão desse agente, visto que tal bactéria figura entre as mais frequentes em surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), sendo os sorotipos Enteritidis e Typhimurium os de maior relevância na epidemiologia da salmonelose humana (Borges et al., 2010). A gravidade desse risco é historicamente ilustrada pelo surto ocorrido nos Estados Unidos em 1985, no qual o consumo de leite pasteurizado de baixa qualidade foi responsável por mais de 23 mil casos confirmados de infecção por *Salmonella* spp.

(Nero, 2005). Adicionalmente, dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos, apontaram que, em 2008, foram registrados 18.499 casos confirmados de infecções alimentares em dez Estados americanos, afirmando o impacto global desse patógeno na saúde coletiva (Borges *et al.*, 2010).

Além disso, detectou-se a presença de *Pseudomonas* spp. em quatro isolados provenientes das amostras A e C. Este achado pode ser comparado por Faria *et al.* (2024), que, em um estudo conduzido no município de Urupá - RO identificou colônias compatíveis com este gênero em 20 das 22 amostras de leite cru refrigerado analisadas. A ocorrência de *Pseudomonas* spp. está frequentemente associada à qualidade da água utilizada nas propriedades, à falhas nas boas práticas de ordenha e à mistura de leite de diferentes origens em tanques coletivos. Conforme enfatizado por Faria *et al.* (2024), tal cenário demanda a implementação de programas de assistência técnica e educação sanitária voltados aos produtores rurais.

4.3 PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

O perfil de sensibilidade dos 15 isolados bacterianos frente aos antimicrobianos testados é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Perfil de sensibilidade antimicrobiana de isolados obtidos.

Amostra	Bactérias isoladas	Interpretação					
		AZI	CLO	CRO	EST	TET	VAN
A	<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	S	I
	<i>Pseudomonas</i> spp.	R	S	R	I	R	R
B	<i>Salmonella</i> spp.	R	S	R	I	R	R
	<i>Salmonella</i> spp.	S	S	S	I	I	R
	<i>Salmonella</i> spp.	S	S	S	S	I	R
C	<i>Pseudomonas</i> spp.	S	I	I	S	R	R
	<i>Pseudomonas</i> spp.	S	I	R	I	R	R
	<i>Pseudomonas</i> spp.	S	I	I	I	R	R
D	<i>Salmonella</i> spp.	R	S	I	I	R	R
	<i>Salmonella</i> spp.	S	S	S	R	R	R
	<i>Salmonella</i> spp.	R	S	R	R	R	R
E	<i>Klebsiella</i> spp.	S	S	S	I	S	R
	<i>Klebsiella</i> spp.	S	S	S	S	R	R
	<i>Salmonella</i> spp.	S	S	S	R	R	R
	<i>Klebsiella</i> spp.	S	S	S	S	S	R

AZI = Azitromicina; CLO = Cloranfenicol; CRO = Ceftriaxona; EST = Estreptomicina; TET = Tetraciclina; VAN = Vancomicina. S = Sensível; I = Sensível Aumentando Exposição; R = Resistente.

Fonte: Elaborado pela autora, 2026.

Dentre os isolados da amostra A, a *E. coli* apresentou suscetibilidade a todos os antimicrobianos avaliados, com exceção da vancomicina, a qual mostrou sensibilidade intermediária, ou seja, sensível quando aumentada a exposição. Esse resultado assemelha-se ao observado por Siqueira *et al.* (2014), que, ao isolar uma cepa de *E. coli* de amostras de tanques de resfriamento coletivo, também registraram suscetibilidade completa a todos os fármacos testados, mesmo após a identificação do gene *bla*_{TEM}, responsável por produzir β -lactamases.

Quanto ao perfil de sensibilidade antimicrobiana dos quatro isolados de *Pseudomonas* spp. identificados nas amostras A e C, observou-se uma resistência expressiva aos fármacos testados. Destacam-se a tetraciclina e a vancomicina, que apresentaram resistência em 100% dos isolados avaliados. Em relação à ceftriaxona, foi registrada resistência em 50% (2/4), enquanto a azitromicina demonstrou ineficácia frente a um dos morfotipos analisados. Por outro lado, não foi registrado nenhum isolado classificado como resistente ao cloranfenicol e a

estreptomicina. Assim, nota-se um panorama de multirresistência (MDR) em 50% (2/4) das colônias isoladas. De acordo com Spinosa *et al.* (2021), tal classificação é atribuída a microrganismos que demonstram resistência a pelo menos um agente antimicrobiano pertencente a três ou mais classes terapêuticas distintas.

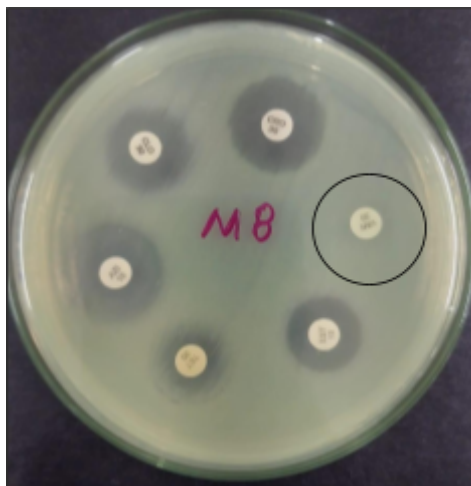
Aproximadamente 71% (5/7) dos isolados de *Salmonella* spp. revelaram um padrão alarmante de multirresistência. A análise dos dados demonstra que a vancomicina apresentou 100% de resistência e a tetraciclina 71% (5/7). Quanto à suscetibilidade aos demais fármacos, observou-se uma variabilidade. A resistência foi registrada em 42% (3/7) frente a azitromicina e à estreptomicina, enquanto a ceftriaxona apresentou resistência em aproximadamente 28% (2/7). Dessa forma, observou-se resistência em parte significativa das amostras. Por outro lado, o cloranfenicol destacou-se como o agente com maior potencial inibitório apresentando sensibilidade em 100% dos isolados. Esse cenário de multirresistência, pode ser comparado ao encontrado por Asfaw *et al.* (2023), que ao investigar a contaminação por *Salmonella* spp. em superfícies de contato com leite na Etiópia, constataram 57,1% de resistência a três ou mais antibióticos. Dessa forma, esse fato limita as opções de controle sanitário e representa uma ameaça direta à segurança alimentar frente à possibilidade de transmissão de genes de resistência através da cadeia láctea.

Quanto aos isolados de *Klebsiella* spp. presentes na amostra E, observou-se um perfil de suscetibilidade favorável frente aos agentes antimicrobianos testados. Dentre os fármacos avaliados, notou-se 100% de eficácia para a azitromicina, cloranfenicol e ceftriaxona. Em contrapartida, exibiram 100% de resistência à vancomicina. Quanto à tetraciclina e à estreptomicina, a análise revelou que apenas um isolado apresentou resistência e o outro apresentou sensibilidade aumentando a exposição, respectivamente. Resultado diferente foi encontrado por Siqueira *et al.* (2014), em que a maioria dos isolados de *Klebsiella* spp. de tanques coletivos, submetidos ao antibiograma, apresentaram resistência, sendo que destes, 47,6% exibiram perfil de multirresistência.

No presente estudo, observou-se um padrão predominante de resistência à vancomicina (Figura 8). Esse resultado é esperado, visto que bactérias Gram-negativas apresentam resistência intrínseca a este fármaco. A estrutura da membrana externa desses microrganismos atua como uma barreira seletiva eficaz,

impedindo a penetração de moléculas de grande porte, como a vancomicina, o que inativa seu potencial (Spinosa *et al.*, 2021).

Figura 8 - Resistência antimicrobiana à vancomicina.



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

O tratamento da mastite bovina baseia-se no emprego de diferentes classes de antimicrobianos, dentre as quais se destacam os beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, tetraciclina, sulfonamidas e macrolídeos, além das lincosamidas, polimixinas e quinolonas (Zanela *et al.*, 2022). Dessa maneira, na presente pesquisa, notou-se uma elevada resistência à tetraciclina especialmente em isolados de *Pseudomonas* spp. e *Salmonella* spp. As tetraciclina são uma das classes antibióticas mais largamente utilizadas na pecuária leiteira a décadas e o resultado observado pode ser um reflexo do seu uso indiscriminado e inadequado, prática que favorece a resistência bacteriana. Esse cenário foi evidenciado no estudo de Silva (2018), realizado em propriedades leiteiras no Estado de Goiás, no qual a tetraciclina configurou-se como o antimicrobiano de uso mais frequente, sendo citada em 24,7% das respostas obtidas por meio de entrevistas com produtores.

Em contrapartida, o cloranfenicol demonstrou eficácia superior em relação a outras classes antibióticas, apresentando um perfil de sensibilidade predominante entre os isolados de *E. coli*, *Salmonella* spp e *Klebsiella* spp, enquanto apresentou sensibilidade intermediária (sensível aumentando a exposição) para *Pseudomonas* spp. Este achado pode estar relacionado à proibição do uso do cloranfenicol na medicina veterinária em animais destinados ao consumo humano no início dos anos 2000, estabelecida pela Instrução Normativa nº 9, de 27 de junho de 2003 (Brasil,

2003). A retirada desse antimicrobiano do uso rotineiro reduziu a pressão seletiva sobre as populações bacterianas, favorecendo, ao longo do tempo, a diminuição da frequência de linhagens resistentes e o potencial restabelecimento da suscetibilidade ao cloranfenicol.

Assim, sob a ótica da saúde pública, a disseminação de patógenos resistentes dos rebanhos para a população humana representa um risco significativo, ocorrendo tanto pelo contato direto quanto pelo consumo de produtos de origem animal, como o leite. A intensificação da pecuária bovina, favorece o desenvolvimento de populações microbianas resistentes devido ao uso frequente de fármacos no manejo sanitário, a exemplo das terapias contra a mastite (Siqueira *et al.*, 2014).

Conforme observado por Siqueira *et al.* (2014), 62% dos produtores que utilizam tanques coletivos, não possuem acompanhamento veterinário regular. Esse cenário evidencia a necessidade de implementar programas de extensão e capacitação técnica voltados à ações educativas que abordem sobre os riscos microbiológicos na cadeia produtiva do leite. Dessa forma, é importante que os produtores compreendam o impacto da contaminação na qualidade do produto final e na saúde pública, bem como os riscos associados ao uso indiscriminado de agentes antimicrobianos, fator determinante para a seleção de bactérias resistentes. Portanto, tais medidas são fundamentais para assegurar a qualidade do leite e a integridade da saúde dos consumidores, reforçando a responsabilidade dos produtores no manejo, sendo este, um passo essencial para mitigar os riscos sanitários.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que as análises microbiológicas permitiram identificar a presença de microrganismos de relevância sanitária, com destaque para a família *Enterobacteriaceae* e o gênero *Pseudomonas* no leite de tanque coletivo produzido em propriedades de Teixeiraópolis-RO. A detecção desses patógenos sugere falhas na assistência técnica e infraestrutura sanitária.

Quanto ao perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, os resultados revelaram um cenário preocupante de multirresistência, principalmente entre os

isolados de, *Pseudomonas* spp. e *Salmonella* spp. A elevada resistência à tetraciclina, fármaco de uso comum na pecuária leiteira, sugere uma correlação com o manejo sanitário inadequado e o uso indiscriminado de antibióticos nas propriedades rurais.

Portanto, os dados obtidos ressaltam a urgência de implementar programas de educação sanitária no município de Teixeiraópolis-RO, visando a capacitação do produtor sobre a importância da higiene para a qualidade do produto final, como também sobre o uso racional de antibióticos e a preservação da saúde dos consumidores.

6 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi financiado pelo Edital nº 133/2025/JARU - CGAB/IFRO, de 09 de setembro de 2025 (Projetos Integrados de Ensino, Pesquisa e Extensão).

REFERÊNCIAS

- ABRAN. Associação Brasileira de Nutrologia; SBAN. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. **Consenso da Associação Brasileira de Nutrologia e da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição sobre o consumo de leite de vaca pelo ser humano**. Set., 2023. Disponível em: https://abran.org.br/media/files/abran_consenso_leite.pdf. Acesso em: 06 jul. 2026.
- ADKINS, P. R. F.; FOX, L. K.; GODDEN, S.; JAYARAO, B. M.; KEEFE, G.; KELTON, D.; LAGO, A.; MIDDLETON, J. R.; OWENS, W.; WOLFE, C. P.; PIGHETTI, G.; QUESNELL, R.; ROYSTER, E.; RUEGG, P.; SMITH, K. L.; TIMMERMAN, J. **Laboratory Handbook on Bovine Mastitis**. 3. ed. New Prague: National Mastitis Council, 2017. 147p.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>. Acesso em: 06 jul. 2026.
- ASFAW, T.; GENETU, D.; SHENKUTE, D.; SHENKUTIE, T. T.; AMARE, Y. E.; HABTEWELD, H. A.; YITAYEW, B. Pathogenic Bacteria and Their Antibiotic Resistance Patterns in Milk, Yoghurt and Milk Contact Surfaces in Debre Berhan Town, Ethiopia. **Dovepress**, Infection and Drug Resistance, Ethiopia, v. 16, p.4297-4309, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IDR.S418793>. Acesso

em: 23 jun. 2026.

BARBOSA, R. S.; ALVARENGA, M. B.; DALBANN, R. D.; GONZALES, J. S. **Instruções de solicitação de ensaio e coleta de amostras de leite para composição química, contagem de células somáticas e contagem padrão em placas**. Documentos 542. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, jan., 2024.

Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1166495/1/DOCUMENTOS-542-07082024-Instrucoes-de-solicitacao-de-ensaio-e-coleta-de-amostras-de-leite.pdf>. Acesso em: 06 jul. 2026.

BORGES, M. F.; ANDRADE, A. P. C. de.; MACHADO, T. F. **Salmonelose Associada ao Consumo de Leite e Produtos Lácteos**. Documentos 132. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, dez., 2010.

BRANDÃO, V. I.; TALMA, S. V.; MARTINS, M. L.; MARTINS, A. D. O.; PINTO, C. L. O. Qualidade do Leite Produzido no Município de Rio Pomba, MG, com Base em Aspectos Regulatórios. **Perspectivas Online: Ciências Biológicas e da Saúde**, Campos dos Goytacazes, v. 9 (3), p. 46-55, 2013. Disponível em:

https://www.perspectivasonline.com.br/biologicas_e_saude/article/view/137/70.

Acesso em: 23 jun. 2026.

BRASIL, Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. **Decreto nº 10.468, de 18 de Agosto de 2020**. Dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. 2020. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa/decreto-revisao-riispoa-decreto-10-468-2020.pdf/view>. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde: Módulo 5 - Tecnologias em Serviços de Saúde: Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos**. 2013. Disponível em:

<https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-5-tecnologias-em-servicos-de-saude-descricao-dos-meios-de-cultura-empregados-nos-exames-microbiologicos/view>. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde: Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos**

Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica. 2020. Disponível em:

https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10_manual-de-microbiologia.pdf. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária - MAPA. **Instrução Normativa nº 9, de 27 de junho de 2003**. Dispõe sobre a proibição da fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol. 2003. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuar>

ios/resistencia-aos-antimicrobianos/legislacao/INSTRUONORMATIVAN9DE27DEJUNHODE2003.pdf. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRASIL. Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS. Ministério da Agricultura e Pecuária - MAPA. **Atualização sobre Uso Racional de Antimicrobianos e Boas Práticas de Produção**. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/publicacoes/Apostila_AtualizaosobreUsoRacionaldeAntimicrobianoseBoasPrcticasdeProduo.pdf. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Instrução Normativa N° 77, de 26 de Novembro de 2018**. Dispõe sobre critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/plano-de-qualificacao-de-fornecedores-de-leite/arquivos-do-pqfl/IN772018QualificodefornecedoresdeleiteatualizadapelaIN5919.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRCAST. Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos. **Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos**. BrCAST-EUCAST, 2025. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRCAST. Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos. **Tabela de Pontos de Corte Clínicos**. BrCAST-EUCAST, 2026. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 23 jun. 2026.

BREIJYEH, Z.; KARAMAN, B. J. R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. **Molecules**, Jerusalém, n. 1340, v. 25, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25061340>. Acesso em: 23 jun. 2026.

BRUZAROSKI, S. R.; TRENTO, I. B., ALCÂNTARA, A. L. D. de; SANTANA, E. H. W. de. Psicotróficos e *Pseudomonas* spp. em Leite Cru Refrigerado. **Uniciências**, v. 21, n. 1, p. 12-16, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.17921/1415-5141.2017v21n1p12-16>. Acesso em: 23 jun. 2026.

CARVALHO, A. V. O.; ESTRELA, L. O. S.; SANTOS, T. O. Qualidade microbiológica do leite cru comercializado informalmente em São Gonçalo dos Campos–BA: ocorrência de *Klebsiella* spp. E impactos na saúde única. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v.9, n.2, p. 1-10, 2026. Disponível em: <https://doi.org/10.34188/bjaerv9n2-272>. Acesso em: 23 jun. 2026.

CARVALHO, G. L. O. **Uso da Análise Espacial para Avaliação de Indicadores de Qualidade do Leite na Microrregião de Ji-Paraná, Rondônia, 2011**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados), Universidade Federal de Juiz de Fora, 2012. Disponível em: <https://www2.ufjf.br/ppgctld/wp-content/uploads/sites/178/2013/01/Disserta%C3%A7%C3%A3o-final28.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2026.

CEGATTA, I. R. **Classificação climática de Köppen para os municípios brasileiros**. 2026. Disponível em: <https://koppenbrasil.github.io/>. Acesso em: 06 jul. 2026.

CRUVINEL, A. C. O.; RIBEIRO, L. F. Resistência Antimicrobiana em Cepas de *Escherichia coli* Isoladas de Leite Pasteurizado. **Revista Gestão, Tecnologia e Ciências - GETEC**, v.16, p. 94-99, 2024. Disponível em: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/338>. Acesso em: 23 jun. 2026.

DIAS, J. A.; OLIVEIRA, A. M. de; MACEDO, S. C. C. **Avaliação da implantação de práticas de higiene na ordenha para redução da microbiota deteriorante do leite cru nas condições de produção prevalentes em Rondônia**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 86. Embrapa Rondônia, Porto Velho-Ro, ago., 2023. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1156094/1/cpafo-19012.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2026.

DUTRA, A. S.; TEIXEIRA, S. R. Tanques de Resfriamento de Leite: Da compra à manutenção, orientações indispensáveis para garantir a higienização correta e a qualidade do leite. **Revista Balde Branco**, p. 56-61, mar., 2019. Disponível em: <https://baldebranco.com.br/wp-content/uploads/2024/12/TANQUE-DE-LEITE-BALDE-BRANCO-MAR-2019.pdf>. Acesso em: 06 jul. 2026.

FARIA, A. M. C. de; OLIVEIRA, M. J. de; ANADÃO, L. S.; SANTOS, R. S. dos; SOUZA, S. M. M. de; RODRIGUES, N. A. C.; FERMINO, B. R.; COSTA, I. S.; GASPAROTTO, P. H. G. Pesquisa de *Pseudomonas* spp. em leite cru refrigerado no município de Urupá, Rondônia, Brasil. **Revista Caderno Pedagógico - Studies Publicações e Editora Ltda.**, Curitiba, v.21, n.5, p. 01-13. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.54033/cadpedv21n5-086>. Acesso em: 23 jun. 2026.

FERREIRA, A. A.; MARQUES, K. A.; BARBOSA, J. B.; MARTINS, E. M. F.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L. Influência da Atividade Enzimática de *Pseudomonas fluorescens* 041 em Labneh. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, nº 385, v. 67, p. 17-24, Mar/Abr., 2016. Disponível em: <https://revistadoilct.com.br/rilct/article/view/208/216>. Acesso em: 23 jun. 2026.

FLACH, J. **Caracterização e controle de Biofilmes Formados por Bactérias Psicrotróficas Isoladas de Resfriadores de Expansão para Leite**. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2015. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/114644/000954350.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 23 jun. 2026.

GENEROSO, D.; LANGONI, H. Avaliação da Presença de *Salmonella* sp. na Criação de Bovinos de Leite. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.4, p. 661-667, 2011. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/3506a77e-8ee4-4f01-8a62-754a0e956532/content>. Acesso em: 23 jun. 2026.

GUALBERTO, I. M. C.; BRITO, I. B.; VIEIRA, Í. S. Influência do Tempo e da Temperatura de Armazenamento na Contagem Bacteriana Total e no Teor de Sólidos do Leite Cru Refrigerado. **Revista de Ciências da Faculdade Univértix Faculdade Vértice - Univértix**. Matipó. v.1, n.1, abr., 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/381860930_INFLUENCIA_DO_TEMPO_E_DA_TEMPERATURA_DE_ARMAZENAMENTO_NA_CONTAGEM_BACTERIANA_TOTAL_E_NO_TEOR_DE_SOLIDOS_DO_LEITE_CRU_REFRIGERADO. Acesso em: 23 jun. 2026.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. S. M. Qualidade Microbiológica de Leite em Função de Técnicas Profiláticas no Manejo de Produção. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/4kyXVF6wYQdzpqzFW47wBYk/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 23 jun. 2026.

HUDZICKI, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. **American Society for Microbiology**, dez., 2009. Disponível em: Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. Acesso em: 06 jul. 2026.

IDARON. **Produção de leite no Estado de Rondônia**. Dados coletados durante campanha de declaração de rebanho 2025.2. 2025. Disponível em: <https://www.idaron.ro.gov.br/wp-content/uploads/2026/03/Produ%C3%A7%C3%A3o-de-leite-Etapa-de-declara%C3%A7%C3%A3o-2025.2-final-7.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

JÚNIOR, A. M. M. Multirresistência bacteriana e a consequência do uso irracional dos antibióticos. **Scire Salutis**, V. 9, n. 2, fev./mai., 2019. Disponível em: <https://sustenere.inf.br/index.php/sciresalutis/article/download/CBPC2236-9600.2019.002.0001/1628>. Acesso em: 06 jul. 2026.

KESSEL, J. S. V.; KARNS, J. S.; GORSKI, L.; MCCLUSKEY, B. J.; PERDUE, M. L. Prevalence of Salmonellae, Listeria monocytogenes, and Fecal Coliforms in Bulk Tank Milk on US Dairies. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 9, p. 2822-2830, 2004. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(04\)73410-4/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(04)73410-4/pdf). Acesso em: 23 jun. 2026.

LABORCLIN. **Ágar EMB (Levine)**. Biokar diagnostics, 2009. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2024/09/172432BK.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026. (Ficha técnica).

LOCATELLI, C.; SCACCABAROZZI, L.; PISONI, G.; MORONI, P. CTX-M1 ESBL-Producing Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae Isolated from Cases of Bovine Mastitis. **Journal of Clinical Microbiology**, American Society for Microbiology, v. 48, n. 10, p. 3822-3823, 2010. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2953115/pdf/0941-10.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

MARTINS, M. E. P.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J. de; NEVES, R. B. S.;

ARRUDA, M. T. Qualidade de Leite Cru Produzido e Armazenado em Tanques de Expansão no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1152-1158, out./dez. 2008. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/1829>. Acesso em: 23 jun. 2026.

MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 609 p.

MENEZES, M. F. C.; SIMEONI, C. P.; ETCHEPARE, M. A.; HUERTA, K.; BORTOLUZZI, D. P.; MENEZES, C. R. de. Microbiota e Conservação do Leite. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental - REGET / Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas - UFSM**, Santa Maria, v. 18. p. 76-89, Mai. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/2236117013033>. Acesso em: 23 jun. 2026.

MIGUEL, E. M.; CARVALHO, A. F.; ANDRADE, N. J.; PIRES, A. C. S.; PAULA, J. C. J. de; COSTA, R. G. B. Formação de Biofilmes em Trocadores de Calor e seus Efeitos em Leite e Derivados. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 1, p. 53-63, jan/fev., 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v69i1.306>. Acesso em: 23 jun. 2026.

MOGHADAM, M. M.; AMIRI, M.; RIABI, H. R. A.; RIABI, H. R. A. Evaluation of Antibiotic Residues in Pasteurized and Raw Milk Distributed in the South of Khorasan-e Razavi Province, Iran. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, Vol-10 (12), p. 31-35, Dez. 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5296450/pdf/jcdr-10-FC31.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

NERO, L. A. **Listeria monocytogenes e Salmonella spp. em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos Área de Bromatologia), Universidade de São Paulo, 2005. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-09052005-174614/publico/NERO_LA.pdf. Acesso em: 23 jun. 2026.

OLIVEIRA, J. de. **Microbiologia Veterinária: Guia Bacteriológico Prático**. 2. ed. Canoas: Editora ULBRA, 2000. 240 p.

PEREIRA, D. A. **Fatores Impactantes na Qualidade do Leite de Tanques Comunitários na Microrregião de Juiz de Fora - MG**. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados), Universidade Federal de Juiz de Fora, 2011. Disponível em: <https://www2.ufjf.br/ppgctld/wp-content/uploads/sites/178/2013/01/Disserta%C3%A7%C3%A3o-final8.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2007. 513 p.

RAJPUT, P.; NAHAR, N.; RAHMAN, K. M. Evaluation of Antibiotic Resistance

Mechanisms in Gram-Positive Bacteria. **Antibiotics**, v. 13, n. 1197, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13121197>. Acesso em: 23 jun. 2026.

RAMOS, G. L. P. A. **Caracterização de Bacilos Gram-Negativos e Detecção da Presença de Resíduos de Antibióticos em Leite Caprino Cru**. Dissertação (Mestrado em ciência e Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro - Campus Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: https://portal.ifrj.edu.br/sites/default/files/IFRJ/PROPPI/gustavo_anciens.pdf. Acesso em: 23 jun. 2026.

RECHE, N. L. M. **Influência do Armazenamento do Leite em Resfriador por Expansão Direta sobre a Contagem de Microrganismos e Estabilidade da Caseína**. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência Animal), Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV, Lages, 2013. Disponível em: https://www.cav.udesc.br/arquivos/id_submenu/756/dissertacao_natalia_reche.pdf. Acesso em: 23 jun. 2026.

RONDÔNIA. Secretaria de Estado do Planejamento, Orçamento e Gestão - SEPOG. Gerência do Observatório - GOB. **Rondônia em números: 2015 - 2017**. 2019. Disponível em: <https://observatorio.sepog.ro.gov.br/Uploads/RondoniaEmNumeros/RondoniaemNumeros2015-2017.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

RONDÔNIA. Secretaria de Estado do Planejamento, Orçamento e Gestão - SEPOG. Gerência do Observatório - GOB. **Indicadores Municipais**. 2015. Disponível em: <https://observatorio.sepog.ro.gov.br/Uploads/IndicadoresMunicipais/2015/Ji-Paran%C3%A1.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

SA, L. S. As principais diferenças entre bactérias Gram-positivas e Gram-Negativas, Implicações Estruturais, Funcionais e Clínicas - Uma Revisão Narrativa. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação — REASE**, São Paulo, v. 12, n. 1, jan. 2026. Disponível em: doi.org/10.51891/rease.v12i1.24066. Acesso em: 23 jun. 2026.

SILVA, A. L. F. S.; RODRIGUES, A. B. B.; MONSORES, M. R. F.; AMARAL, P. V. V.; ALMEIDA, V. N. de; SANTOS, Y. C. O. dos; RAMOS, G. L. P. A. Detecção de *Enterobacteriaceae* em leite pasteurizado e avaliação da atividade proteolítica. **Open Science Research V**, v. 5, p. 328-336, 2022. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/220709465.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

SILVA, D. **Uso de Antimicrobianos em Propriedades Leiteiras do Estado de Goiás**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás -UFG, Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, 2018. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/Damila_Batista_Caetano_Silva.pdf. Acesso em: 23 jun. 2026.

SILVA, L. C. C. da; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; OVIDIO, L. d'; MATTOS, M. R. de; ARRUDA, A. M. C. T. de; PIRES, E. M. F. Rastreamento de fontes da contaminação

microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 267-276, jan./mar. 2011. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/3279/7193>. Acesso em: 23 jun. 2026.

SILVA, L. V. L. e; **Caracterização da Microbiota Originária de Amostras de Água da Estação de Tratamento e Salas Classificadas em Indústria Farmacêutica no Município de Natal - RN**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRGN, Natal, 2024. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/server/api/core/bitstreams/744dcf63-93c3-4da6-90a9-1c98f25b3b41/content>. Acesso em: 23 jun. 2026.

SIQUEIRA, A. K.; ALVES, T. S.; FERRAZ, M. M. G.; FRANCO, M. M. J.; MOTTA, R. G.; LISTONI, F. J. P.; SILVA, A. V. da; RIBEIRO, M. G.; LEITE, D. S. Resistência Antimicrobiana em Coliformes Totais Isolados de Tanques de Refrigeração de Leite Bovino. **Atas de saúde Ambiental - ASA**, v. 2, n. 3, Set/Dez., 2014. Disponível em: <https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ASA/article/view/482>. Acesso em: 23 jun. 2026.

SOUZA, V. **Características Físico-Químicas, Microbiológicas, celulares e Detecção de Resíduos de Antibióticos em Amostras de Leite de Tanque Comunitário**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias *Campus* de Jaboticabal, 2006. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/b505ed7c-f219-4345-a9bd-01cc122b65f3/content>. Acesso em: 23 jun. 2026.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 7. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2023. 979 p.

TORTORA, B. C. C.; CASE, C. L.; BAIR III, W. B.; WEBER, D.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2025. 901 p.

ULISSES, A. F.; PÍCCOLO, M. P.; RANGEL, O. J. P.; JÚNIOR, A. C. S.; JÚNIOR, J. A. M. Leite cru refrigerado: qualidade microbiológica, físico-química e detecção de resíduos de antibióticos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i1.23708>. Acesso em: 23 jun. 2026.

VERMELHO, A. B.; PEREIRA, A. F.; COELHO, R. R. R.; PADRÓN, T.S. **Práticas de Microbiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. 256 p.

VIDAL, A. M. C.; NETTO, A. S. **Obtenção e Processamento do Leite e Derivados**. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018. Disponível em: <https://www.bibliotecaagptea.org.br/zootecnia/bovinocultura/livros/OBTENCAO%20E%20PROCESSAMENTO%20DE%20LEITE%20E%20DERIVADOS.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2026.

- YAMAZI, A. K.; MORAES P. M.; VIÇOSA G. N.; ORTOLANI, M. B. T.; NERO, L. A. Práticas de Produção Aplicadas no Controle de Contaminação Microbiana na Produção de Leite Cru. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 610-618, July/Aug. 2010. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/7210/5136>. Acesso em: 23 jun. 2026.
- ZANELA, M. B.; BARBOSA, R. S.; DERETI, R. M.; ALVARENGA, M. B.; JUNIOR, W. S.; BARRETO, F. **Avaliação de Resíduos de Antimicrobianos no Leite de Vacas Jersey em Lactação: Experimento Piloto**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 366. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, dez., 2022. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1149502/1/CPACT-Bol-etim-366.pdf>. Acesso em: 06 jul. 2026.