

UNIVERSIDADE BRASIL
Campus Descalvado

JOSÉ ROLIM XAVIER JÚNIOR

PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVO DO LEITE PRODUZIDO NA
REGIÃO CENTRAL DE RONDÔNIA

QUALI-QUANTITATIVE PARAMETERS OF MILK PRODUCED IN
THE CENTRAL REGION OF RONDÔNIA

Descalvado, SP

2018

José Rolim Xavier Júnior

**PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVO DO LEITE PRODUZIDO NA
REGIÃO CENTRAL DE RONDÔNIA**

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil como complementação de créditos necessários para obtenção do título de mestre em Produção Animal.

Descalvado, SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

X19p Xavier Júnior, José Rolim
Parâmetros quali-quantitativo do leite produzido na região central de Rondônia / José Rolim Xavier Júnior. – Des-
calvado, 2018.
43f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian

1. Betalactâmicos. 2. Contagem de células somáticas. 3. Contagem bacteriana total. 4. Tetracilinas. 5. Twin sensor test. I. Título.

CDD 636.21428111

Termo de Autorização

**Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do
Respectivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES**

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://universidadebrasil.edu.br/portal/cursos/ppgpa/>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

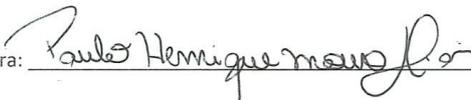
Título do Trabalho: **"Parâmetros quali-quantitativos do leite produzido na região central de Rondônia"**.

Autor(es):

Discente: José Rolim Xavier Junior

Assinatura:  _____

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian

Assinatura:  _____

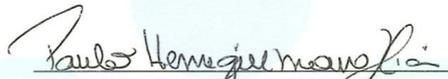
Data: 30 de novembro de 2018

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

José Rolim Xavier Junior

**“Parâmetros quali-quantitativos do leite produzido na
região central de Rondônia”.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian
(Orientador)

Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



Profa. Dra. Luriany Pompeo Ferraz
Orgolabs

Descalvado, 30 de novembro de 2018

Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian

Presidente da Banca

DEDICATÓRIA

A Deus e Nossa Senhora Aparecida, que sempre me acompanharam nesta caminhada, me livrando de todos os perigos e me dando força em todas as jornadas.

A minha família, que sempre me apoiou e incentivou nos estudos e trabalho dedicado à pecuária, e a todo o povo do estado de Rondônia.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a Deus por me guiar, me dando luz, sabedoria e força, para nunca deixar de acreditar em mim e no meu trabalho dentro do estado de Rondônia e no desenvolvimento do país.

Aos meus pais, por sempre me incentivarem e me acompanharem nesta trajetória até aqui.

A minha esposa, que sempre me apoiou e foi minha companheira, sempre ajudando e incentivando.

A Paulo Henrique Gasparotto, amigo de longa data, profissional exemplar e referência como médico veterinário.

A todos os queridos professores do programa do Mestrado Profissional em Produção Animal, em especial ao meu orientador Paulo Henrique Moura Dian, que me auxiliou na construção do trabalho.

A todos, o meu muito obrigado e fiquem com Deus.

PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVO DO LEITE PRODUZIDO NA REGIÃO CENTRAL DE RONDÔNIA

RESUMO

O Twin Sensor Test ou teste rápido é utilizado para detecção simultânea de resíduos de antimicrobianos, por exemplo, dos grupos betalactâmicos e tetracilinas em leite. Logo, define-se a quantidade de antimicrobianos que poderá ser detectado em determinado lote. Neste estudo, sobre a importância do acompanhamento do leite para garantir a qualidade do leite e identificar o percentual de nutrientes e resíduos de antibióticos, foram coletadas 500 amostras de leite, no período de outubro a dezembro de 2017, oriundas dos municípios de Ouro Preto D'Oeste, Teixeiraópolis, Nova União, Urupá e Monte Negro, estado de Rondônia. Deste total de amostras coletadas, foram selecionadas ao acaso 120 para serem submetidas ao Twin Sensor Test. As amostras foram analisadas no laboratório de análises químicas do laticínio que recolhe o leite dos produtores diariamente. Foram realizadas análises para detectar a presença dos grupos de antibióticos ampicilina, amoxicilina e cefalexina, que são exemplos de betalactâmicos, e doxiciclina, oxitetraciclina e clortetraciclina, que são exemplos do grupo de tetracilinas. Apenas uma amostra apresentou resíduo de antimicrobianos. Os valores médios de CCS e CBT obtidos nas amostras analisadas estão acima do preconizado Instrução Normativa 62.

Palavras-Chave: betalactâmicos, contagem de células somáticas, contagem bacteriana total, tetracilinas, twin sensor test.

QUALI-QUANTITATIVE PARAMETERS OF MILK PRODUCED IN THE CENTRAL REGION OF RONDÔNIA

SUMMARY

The Twin Sensor Test or rapid test is used for the simultaneous detection of antimicrobial residues, for example, of beta-lactam groups and tetracycline's in milk. Therefore, the amount of antimicrobials that can be detected in a particular lot is defined. In this study, about the importance of monitoring milk to ensure milk quality and identify the percentage of nutrients and antibiotic residues, 500 milk samples were collected, from October to December 2017, from the municipalities of Ouro Preto D'Oeste, Teixeiraópolis, Nova União, Urupá and Monte Negro, Rondônia State. Of this total, samples were selected at random 120 to be submitted to the Twin Sensor. The samples were analyzed in the laboratory of chemical analysis of the dairy that collects the milk of the producers daily. Analyzes have been performed to detect the presence of the antibiotic groups ampicillin, amoxilin and cephalexin, which are examples of beta-lactams, and doxycycline, oxytetracycline and chlortetracycline, which are examples of the tetracycline group. Only one sample had antimicrobial residue. The mean values of CCS and CBT obtained in the analyzed samples are above that recommended in Normative Instruction 62.

Key words: beta-lactam, somatic cell count, total bacterial count, tetracycline's, twin sensor test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Passo a passo da condução do teste Teste Twin sensor.....	28
Figura 2: Média da presença de gordura no leite.....	29
Figura 3: Média da contagem de células somáticas.....	30
Figura 4: Média da contagem de células bacterianas totais.....	30
Figura 5: Média de proteína presente no leite.....	31
Figura 6: Média do extrato seco desengordurado.....	31
Figura 7: Contagem de células somáticas (CCS).....	32
Figura 8: Contagem bacteriana total (CBT).....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Decréscimo na contagem bacteriana total máxima esperado pelo PNQL.....	22
Tabela 2: Decréscimo na contagem de células somáticas esperado pelo PNQL.....	23
Tabela 3: Composição mínima do leite cru refrigerado.....	24
Tabela 4: Sensibilidade do teste twin sensor.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UHT - Ultra-HighTemperature

IN - Instrução Normativa

pH - Potencial Hidrogeniônico

BPL - Boas Práticas de Fabricação

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

% - Porcentagem

CBT - Contagem Bacteriana Total

CCS - Contagem de Células Somáticas

ESD - Extrato seco desengordurado total

PNQL - Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite

RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

G - Gramas

Mín - Mínimo

°C - Graus Celsius

ST - Sólidos Totais

RO - Rondônia

ML - Mililitros

SIF - Serviço de Inspeção Federal

RBQL - Rede Brasileira de Laboratórios de Controle e Qualidade de Leite

UFC - Unidade Formadora de Colônia

PPB - Partes Por Bilhão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Relevância do tema.....	15
1.2 Fundamentação.....	16
1.2.1 Resíduos de substâncias químicas no leite.....	16
1.2.2 Cenário da produção leiteira do estado de Rondônia.....	19
1.2.3 Instrução Normativa 62.....	21
1.2.4 Análise de Composição Química do Leite.....	23
1.3 OBJETIVOS.....	24
1.3.1 Objetivo Geral	24
1.3.2 Objetivo Específicos.....	24
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4. CONCLUSÃO.....	34
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1. INTRODUÇÃO

O leite é o resultado das combinações de diversos elementos sólidos que se encontram dissolvidos, suspensos ou emulsionados em água. Os elementos sólidos representam aproximadamente 12 a 13% do leite e a água aproximadamente 87%. Os principais elementos sólidos do leite são lipídios (gordura), carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas. Esses elementos, suas distribuições e interações são determinantes para a estrutura, propriedades funcionais e aptidão do leite para processamento. As micelas de caseína e os glóbulos de gordura são responsáveis pela maior parte das características físicas (estrutura e cor) encontradas nos produtos lácteos.¹

Os termos sólidos totais (ST) e extrato seco total (EST) englobam todos os componentes do leite, exceto a água. Por sólidos não-gordurosos (SNG) ou extrato seco desengordurado (ESD) compreendem-se todos os elementos do leite, menos a água e a gordura.² Todo leite industrializado passa por monitoramento e este é realizado por rastreabilidade e planilhas de controle, bem como por visitas técnicas mensalmente.

Os componentes do leite permanecem em equilíbrio, de modo que a relação entre eles é muito estável. O conhecimento dessa estabilidade é a base para os testes que são realizados com o objetivo de apontar a ocorrência de grupos de antimicrobianos que alteram a qualidade do leite e que podem trazer danos à saúde humana e que podem ser detectados por um simples teste químico de rápida resposta chamado Twin Sensor Test.³

O Twin sensor Test ou teste rápido determinam a qualidade do leite, detectando a presença de antimicrobianos do grupo dos betalactâmicos e tetraciclinas. A avaliação da qualidade do leite é realizada por teste de imuno ensaio de ligação de receptores e enzimas para detecção qualitativa de antimicrobianos.⁴ O teste consiste em detectar grupos de antimicrobianos presentes no leite, afim de orientar os produtores que negligenciam a

dosagem indicada da medida preventiva no rebanho e controlar a qualidade do leite que chega até os consumidores.⁵

1.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

O principal problema da contaminação do leite por antimicrobianos para a indústria consiste na inibição de culturas lácteas sensíveis utilizadas na fabricação de queijos, iogurtes e outros produtos fermentados, dificultando a obtenção destes produtos ou alterando sua qualidade.⁶ Outros problemas dizem respeito à formação de odores desagradáveis na manteiga e no creme. A pasteurização tem pouco ou nenhum efeito sobre o conteúdo de resíduos de antimicrobianos do leite.⁷

Os problemas ligados à saúde pública se devem à possibilidade de desenvolvimento de reações alérgicas ou tóxicas nos indivíduos que ingerem o leite contaminado com os resíduos de antimicrobianos. As reações alérgicas se manifestam, geralmente, como urticárias, dermatites ou rinites e asma brônquica.⁶ Estas reações são relacionadas principalmente com as penicilinas, mas tetraciclina, estreptomicina e sulfonamidas podem também causar esse tipo de reação.

Reações tóxicas são relacionadas a alguns antimicrobianos com potencial carcinogênico, isto é, que podem desenvolver tumores em animais de laboratório (ex. sulfametazina, nitrofuranos) ou que originam alterações hematológicas em indivíduos susceptíveis (cloranfenicol).⁸ Por isso, não se admitem resíduos dessas substâncias no leite, e elas são proibidas para tratamento de vacas leiteiras.⁹

Portanto, a caracterização da possível contaminação por resíduos de antimicrobianos no leite é fundamental para traçar procedimentos que garantam aos consumidores um produto de qualidade, livre de contaminantes químicos.⁹

1.2 FUNDAMENTAÇÃO

De acordo com o artigo 475 do RIISPOA "entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda." É um alimento de grande importância na alimentação humana, devido ao seu elevado valor nutritivo.

Como fonte de proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas, o leite torna-se também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis.¹⁰ A durabilidade do leite é limitada pela presença e multiplicação de microrganismos, que causam modificações físico-químicas no mesmo.¹¹

A classificação do leite quanto à qualidade é determinada de acordo com o modo de produção, composição, requisitos físico-químicos e biológicos. Recebem as denominações Tipo A e Cru Refrigerado, e esses produtos são disponíveis em diferentes teores de gordura: integral (no mínimo 3%), semidesnatado (0,6 à 2,9%) e desnatado (no máximo 0,5%).¹²

Essas denominações são determinadas a partir da contagem de microrganismos presentes no leite. A contagem é apresentada na forma geral, no entanto, para cada tipo de microrganismo existem métodos específicos para sua determinação.¹³

1.2.1 RESÍDUOS DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS NO LEITE

A qualidade e segurança alimentar têm recebido cada vez mais atenção da população mundial, especialmente em relação a perigos microbiológicos e químicos presentes em alimentos. Apesar de microrganismos patogênicos serem os agentes mais relacionados a enfermidades veiculadas por alimentos^{14,15}, a presença de resíduos de substâncias químicas

também é muito comum em todo o mundo. Em leite, antimicrobianos são resíduos químicos detectados com bastante frequência, tanto no Brasil como em outros países.^{16,17,18,19,20}

A principal fonte de resíduos de antimicrobianos em leite é originada do manejo inadequado de drogas no controle de mastites.¹⁷ Essas substâncias são eliminadas pelo leite durante seus períodos de carência, sendo necessário o descarte dessa produção. Dessa forma, a conscientização dos produtores é fundamental para prevenção de resíduos desses medicamentos em leite.^{21,22} Antimicrobianos do grupo dos betalactâmicos são os mais utilizados para tratamento de doenças em rebanhos leiteiros, sendo assim os mais frequentemente detectados no leite.^{16,23}

A presença de resíduos de antimicrobianos em leite pode causar vários efeitos indesejáveis, como seleção de cepas bacterianas resistentes, no ambiente e no consumidor, hipersensibilidade e possível choque anafilático em indivíduos alérgicos a essas substâncias, desequilíbrio da flora intestinal, além de efeito teratogênico.^{14,24,19,20,23,22}

Aproximadamente 5 a 10% da população é hipersensível à penicilina, e apresentam reações alérgicas ao ingerirem concentrações de 1 ppb (partes por bilhão) dessa substância.¹⁷ Além disso, pequenas quantidades de antimicrobianos determinam resistência crônica de microrganismos presentes no trato intestinal humano.^{14,24,17,20}

Além destes problemas, a presença destas substâncias em leite pode causar inibição na multiplicação de sua microbiota, interferindo nos resultados de análises laboratoriais de controle de qualidade, bem como na fabricação de derivados como queijos e iogurtes,^{20,22} sendo responsáveis pela redução da produção de ácidos e sabores desagradáveis nos derivados lácteos.¹⁷ Ainda, concentrações de 1 ppb podem atrasar a atividade de culturas *starter* na produção de queijos, iogurtes e manteiga. Antimicrobianos também são usualmente utilizados de forma ilegal como agentes na preservação e redução da carga microbiana do leite.²⁵

Os antimicrobianos têm sido bastante utilizados nas fazendas e até, em muitos casos, de maneira indiscriminada, seja para fins terapêuticos, principalmente visando à cura de mamites, ou ainda incorporados à alimentação animal como aditivos. Tais procedimentos conduzem à presença de resíduos de antimicrobianos, representando um risco ao consumidor e sendo, portanto, um sério problema na área econômica e de saúde pública.

O abuso de medicamentos veterinários, especialmente nos países onde o seu emprego não é controlado rigorosamente, poderia ser corrigido através de informações suficientes e exatas aos usuários, veiculadas por cooperativas e centros de apoio técnico governamentais.^{19,20}

A difusão de boas práticas veterinárias e agrícolas levaria a uma redução dos níveis destas substâncias, deixando de ser motivo de preocupação pública.²⁵ Porém, no Brasil, não há uma política de longo prazo para organizar, e principalmente, manter a estrutura adequada para o controle do uso de medicamentos veterinários.²⁶

O sucesso desses programas depende de mudanças de atitude e de manejo, em que o produtor e os funcionários desempenham um papel primordial. Nesse sentido, se faz necessário compreender a importância da permanência dos antimicrobianos administrados aos animais, bem como a melhor forma de interferir neste processo.²⁷

Em uma revisão sobre o assunto, Costa²⁸ relata que após injeção de diversos tipos de penicilinas, constatou-se a presença de antimicrobianos no leite de vaca, durante 30 a 78 horas, recomendando não ser conveniente consumir leite ordenhado nas 96 horas subsequentes à injeção de um antimicrobiano. Com relação à penicilina G, foi verificada a sua ocorrência no leite, após 10 dias da injeção, não podendo ser administrada, portanto, às vacas lactantes.

A avaliação toxicológica dos resíduos de antimicrobianos em alimentos segue os princípios elaborados há cerca de trinta anos pela *World Health Organization*, dentro do

programa *Codex Alimentarius*. Os riscos para a saúde incluem os toxicológicos-farmacológicos, microbiológicos e imunopatológicos. A maioria dos testes disponíveis para essas análises, levam em conta geralmente, a segurança do processo tecnológico que envolvem o uso de leite (produção de derivados), mas não enfatizam a toxicológica.

A persistência de resíduos de antimicrobianos no leite varia com o produto e depende de vários fatores como, por exemplo, dose e via de administração.²⁸ É comum o aumento gradativo das dosagens de antimicrobianos utilizados na terapia de animais, uma vez que o emprego dessas drogas possibilita a seleção de bactérias resistentes, principalmente quando seu uso é indiscriminado.²⁹ Como consequência, tanto as drogas consideradas clássicas no arsenal terapêutico, como aquelas de introdução recente no comércio, vem se tornando ineficientes.³⁰

Neste sentido, este quadro tende a se agravar, principalmente nos casos de patógenos, que tanto infectam animais como humanos. Mesmo quando estes não são coincidentes, sempre há possibilidade de transferência dessa resistência entre bactérias, inclusive em espécies diferentes.³⁰

1.2.2 CENÁRIO DA PRODUÇÃO LEITEIRA DO ESTADO DE RONDÔNIA

Rondônia possui o segundo maior contingente bovino entre os estados da região Norte, sendo na atualidade o oitavo rebanho bovino nacional.⁹ Apresenta um rebanho total de 14.098 milhões de bovinos, com o rebanho leiteiro sendo de 3.747 milhões de cabeças. A produção diária de litros de leite no estado é de 1.879.798, com a produtividade média por animal de 5 litros por dia.³¹

A produção de leite do Estado entregue a estabelecimentos sob inspeção federal soma em média 803 milhões de litros de leite/ano, o que coloca Rondônia como primeiro produtor

de leite da região Norte.⁷ O baixo custo de produção no estado de Rondônia está relacionado à mão de obra familiar, abundância de chuvas, viabilidade de sistemas de produção de leite a pasto e produção direcionada para a industrialização.³²

As propriedades que abastecem os laticínios do Estado são, em sua maioria, propriedades de pequeno porte. No entanto, mesmo nas pequenas propriedades são adotadas boas práticas de ordenha. A ordenha consiste em parte importante do programa de Boas Práticas Agropecuárias – BPA, que tem por objetivo a adoção de medidas que possam garantir a segurança e o bem-estar não apenas do animal, mas também do ambiente e do produtor. Desse modo, segundo o referido programa, a higiene na ordenha é o princípio para que o leite produzido tenha qualidade.⁴²

Assim sendo, ações de incentivo ao desenvolvimento da pecuária leiteira vêm sendo realizadas desde o final da década de 1970, a partir da instalação de dois laticínios estaduais para beneficiar, inicialmente, leite *in natura*, onde mais tarde, iniciou-se a fabricação de queijo e manteiga. A instalação destas unidades para processamento do leite produzido em Rondônia fomentou o surgimento de indústrias de pequeno, médio e grande porte, que atualmente totalizam aproximadamente 80 estabelecimentos capazes de produzir leite *ultra high temperature* (UHT), leite e soro em pó, leite condensado, além de queijo e derivados.³³

As indústrias de laticínios encontram-se distribuídas em todas as regiões que compõem o Estado de Rondônia, as quais são responsáveis pelo beneficiamento de mais de dois milhões litros/dia. Atualmente o parque industrial possui capacidade instalada suficiente para produzir anualmente 87 mil toneladas de queijos, 67 milhões de litros de leite longa vida, além de 51 milhões de litros que se destinam à produção de leite em pó.³⁴

A produção do leite em Rondônia atinge níveis significativos, o que explica a expansão do número de indústrias, com reflexos no crescimento da oferta de produtos lácteos advindos do parque industrial rondoniense no mercado nacional. Tal situação é reflexo da

captação de leite pelas indústrias sob Inspeção Sanitária Federal, o que coloca Rondônia como responsável por 63% da produção de leite da região Norte e oitavo maior produtor nacional de leite.³⁵

O parque industrial lácteo do estado está composto por 97 indústrias, distribuídas em 48 com Serviço de Inspeção Federal (SIF), 29 com Serviço de Inspeção Estadual (SIE) e 38 com Serviço de Inspeção Municipal (SIM), e o mercado consumidor de Rondônia absorve apenas 35% da produção láctea do Estado e os 65% restantes são comercializados com outros estados da federação.³⁶

1.2.3 INSTRUÇÃO NORMATIVA 62

Em 29 de dezembro de 2011, foi publicada a instrução Normativa nº 62, IN 62, que substitui a IN 51, alterando basicamente o cronograma que rege os parâmetros de qualidade do leite. Dessa forma, espera-se que o Brasil continue melhorando a qualidade do leite, garantindo melhores produtos à população e buscando novos mercados internacionais. Para isso, todos os elos da cadeia devem estar integrados no esforço comum de produzir leite de qualidade. A IN 62 estabelece que o leite deverá ser analisado em laboratórios credenciados para o monitoramento de sua qualidade.³⁷

A indústria deverá enviar, pelo menos uma vez por mês, amostras do leite de cada produtor para análise em laboratório credenciado na Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite (RBQL). Os produtores receberão o resultado de suas análises. Com isso, o MAPA vai acompanhar a qualidade do leite em cada propriedade rural, e exigir que os problemas detectados sejam resolvidos.³⁷

As amostras de leite deverão ser analisadas quanto a Contagem Bacteriana Total (CBT), bem como no que diz respeito a Contagem de Células Somáticas (CCS), determinação

dos teores de gordura, lactose, proteína, sólidos totais, sólidos desengordurados e pesquisa de resíduos de antimicrobianos.³⁸

A CBT indica a contaminação no leite expressa em Unidade Formadora de Colônia por mililitro (UFC/ml), demonstrado no Quadro 1 os novos padrões de exigência pela legislação. De modo semelhante, a CCS serve para medir a saúde do leite fazendo a contagem de células somáticas que são células oriundas da descamação do epitélio da glândula mamária, bem como das células de defesa, ou seja, dos leucócitos que do sangue passam para o úbere. Em suma, a CCS atua apontando quando ocorre problema de mastite no rebanho (Quadro 2).³⁸

Importa ressaltar que, com base na instrução normativa vigente, os laticínios onde foram colhidas as amostras para este estudo realizam análises de rotina por meio de testes de acidez, lisarol, dornic, densidade, crioscopia, resíduos de antimicrobianos, reconstituente de densidade, conservante e neutralizante.

As bactérias se alimentam dos componentes do leite, causando prejuízos para produtores, indústrias e consumidores.³⁸ As bactérias estão em todos os lugares, como na água, na poeira, na terra, na palha, no capim, nos corpos e pelos das vacas, nas fezes, na urina, nas mãos do ordenhador, nos insetos e em utensílios de ordenha sujos. Para se evitar altas contagens bacterianas é preciso trabalhar com higiene e refrigerar o leite o mais rapidamente possível após a ordenha, mantendo refrigerado na propriedade por, no máximo, 48 horas até o transporte para a indústria. Porém, uma vez identificada a presença de bactérias, o uso de antimicrobianos acaba sendo inevitável.³⁹

Tabela1 - Decréscimo na Contagem Bacteriana Total Máxima Esperado com o Programa Nacional de Melhoria na Qualidade do Leite (PNQL)

A partir de 01/01/2012 a 30/06/2014 – Regiões Centro – Oeste, Sudeste e Sul. A partir de 01/01/2013 a 30/06/2015 –	A partir de 01/07/2014 a 30/06/2016 regiões Centro – Oeste, Sudeste e Sul. A partir de 01/07/2015 a 30/06/2017 –	A partir de 01/07/2016 Regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. A partir de 01/07/2017 – Regiões Norte e Nordeste.
--	--	--

Regiões Norte e Nordeste.	Regiões Norte e Nordeste.	
600.000 UFC/ml	300.000 UFC/ml	100.000 UFC/ml
Fonte: DÜRR ³³		

Os limites de contagem de células somáticas exigidos pela IN62 também foram alterados conforme demonstrado no Quadro 2.

Tabela 2- Decréscimo na Contagem de Células Somáticas esperado com o Programa Nacional de Melhoria na Qualidade do Leite (PNQL)

A partir de 01/01/2012 a 30/06/2014 – Regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. A partir de 01/01/2013 a 30/06/2015 – Regiões Norte e Nordeste.	A partir de 01/07/2014 a 30/06/2016 regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. A partir de 01/07/2015 a 30/06/2017 – Regiões Norte e Nordeste.	A partir de 01/07/2016 Regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. A partir de 01/07/2017 – Regiões Norte e Nordeste.
600.000 UFC/ml	500.000 UFC/ml	400.000 UFC/ml
Fonte: DÜRR ³³		

Além do teste mencionado para detecção de antimicrobianos, Twin Sensor Test, é importante salientar a existência de outros também eficazes em detectar essas substâncias tais como o indexx e o eclipse. O teste indexx é um teste enzimático que permite resultados em curto espaço de tempo, ou seja, é um teste rápido onde o resultado se mostra em cores e em apenas 10 minutos.⁴³ Já o teste eclipse, assim como o indexx, também é um teste rápido cuja função é identificar inibidores do leite, ou seja, se o leite em análise tem a presença de antimicrobianos em sua composição.⁴⁴

1.2.4 Análise de Composição do Leite

Além de determinar a CBT e a CCS no leite de cada produtor rural, os laboratórios da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade de Leite (RBQL), ainda analisam a composição do leite entregue para a indústria, e comparam com os valores padrões exigidos pela legislação vigente conforme Quadro 3.

Tabela 3 - Composição Mínima do Leite Cru Refrigerado exigidos pela IN 62.

Gordura (%)	Proteína (%)	Sólidos não gordurosos (%)
3,0	2,9	8,4

Fonte: DÜRR³³

Assim sendo, compreende-se que, as análises laboratoriais da composição do leite, consistem em verificações realizadas em amostras do mesmo e possuem como principal função verificar a qualidade do produto, bem como se este apresenta alguma alteração em sua composição como, por exemplo, traços de antimicrobianos.

Tendo como referência os valores elencados no quadro acima, qualquer alteração apresentada nos testes realizados deve ser verificada para que o problema seja identificado e resolvido com a maior brevidade possível.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GERAL

O trabalho teve como objetivo detectar resíduos de antimicrobianos no leite produzido em 5 municípios da região central do estado de Rondônia, utilizando o Twin sensor test.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

De maneira específica, pretendeu-se avaliar amostras do leite quanto à presença dos grupos de antimicrobianos que são mais utilizados no combate da mastite (inflamação das glândulas mamárias), sendo estes: ampicilina, amoxicilina e cefalexina, que são exemplos de betalactâmicos; doxiciclina e clortetraciclina que pertencem ao grupo de tetraciclina, por meio da utilização do Twin sensor test.

Pretendeu-se, ainda, realizar análises quanto à contagem bacteriana total (CBT), bem como de células somáticas (CCS), extrato seco desengordurado (ESD), gordura e proteínas e comparar os resultados com os exigidos na IN62.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa realizada para elaboração deste estudo partiu inicialmente de uma revisão bibliográfica sobre a temática escolhida para o desenvolvimento do mesmo. Para tal, foi estruturada uma Fundamentação Teórica que viabilizasse atingir os objetivos propostos para serem alcançados pelo mesmo.

Assim sendo, ressalta-se que a pesquisa bibliográfica foi a base utilizada para a elaboração deste e como fonte utilizou-se literaturas encontradas em livros, artigos disponíveis em bibliotecas físicas e virtuais como a plataforma Scielo e demais revistas sobre o assunto.

Sequencialmente, a pesquisa seguiu com a parte prática, na qual foram coletadas 500 amostras de leite fornecidos pelos produtores rurais dos municípios de Ouro Preto do Oeste - RO, Nova União - RO, Teixeirópolis - RO, Monte Negro - RO e Urupá - RO, entregues em laticínio na região central do estado de Rondônia, no período de outubro a dezembro de 2017. O laticínio em que foi feita a pesquisa para o desenvolvimento desse estudo possui selo federal de fiscalização do Serviço de Inspeção Federal (SIF), e trabalha de acordo com as exigências descritas na Instrução Normativa 62.

As 500 amostras de leite coletadas foram processadas para análises de rotina do laticínio e enviadas para o laboratório do programa de análises de rebanhos leiteiros da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (PARL/APCBRH) em Curitiba/PR.

No Laboratório (PARL/APCBRH), as análises de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram realizadas através do equipamento Bentley 2000 da Bentley Instruments Inc., Chasca Minnessota USA. Este equipamento analisa os componentes físico-químicos por ondas na faixa do infravermelho próximo, sendo aprovado pela IDF (1980) e AOAC (1980).

As contagens de células somáticas (CCS) foram realizadas em contador eletrônico (SOMACOUNT 500), onde os núcleos das células[®] foram corados com o corante brometo de etidion e expostos ao raio laser, refletindo luz vermelha (fluorescência). Os sinais são transformados em impulsos elétricos que são detectados por um fotomultiplicador e transformados em contagens, cujos resultados foram visualizados no equipamento e impressos. Importa ressaltar que os resultados de CCS foram transformados ou não em log10.

Está técnica é conhecida como citometria de fluxo com análise de composição a laser. A citometria surgiu a partir da ideia aprimorada do microscópio, da necessidade de mediação celular, ou seja, quantificar e qualificar células com maior rapidez e precisão. Foi desenvolvida por Andrew Moldavan em meados de 1934.⁴¹

Posteriormente, foram selecionadas, a partir do universo de 500 amostras coletadas, um total de 120 amostras, 24 amostras por município de origem, para avaliação da presença ou não de antimicrobianos no leite, utilizando o Twin Sensor Test.

O Twin Sensor Test é baseado em receptores no formato de tira reativa para detecção rápida e simultânea de antimicrobianos β -lactâmicos e tetraciclina em amostras de leite, conforme exposto na Tabela 2. Este teste apresenta como características o monitoramento rápido, utilizando seis minutos de tempo total (testing time) por amostra; é um método multianalítico, pois detecta β -lactâmicos e tetraciclina; de simples interpretação dos resultados; não há necessidade de preparação das amostras; além de apresentar formato flexível e robusto.⁴⁰

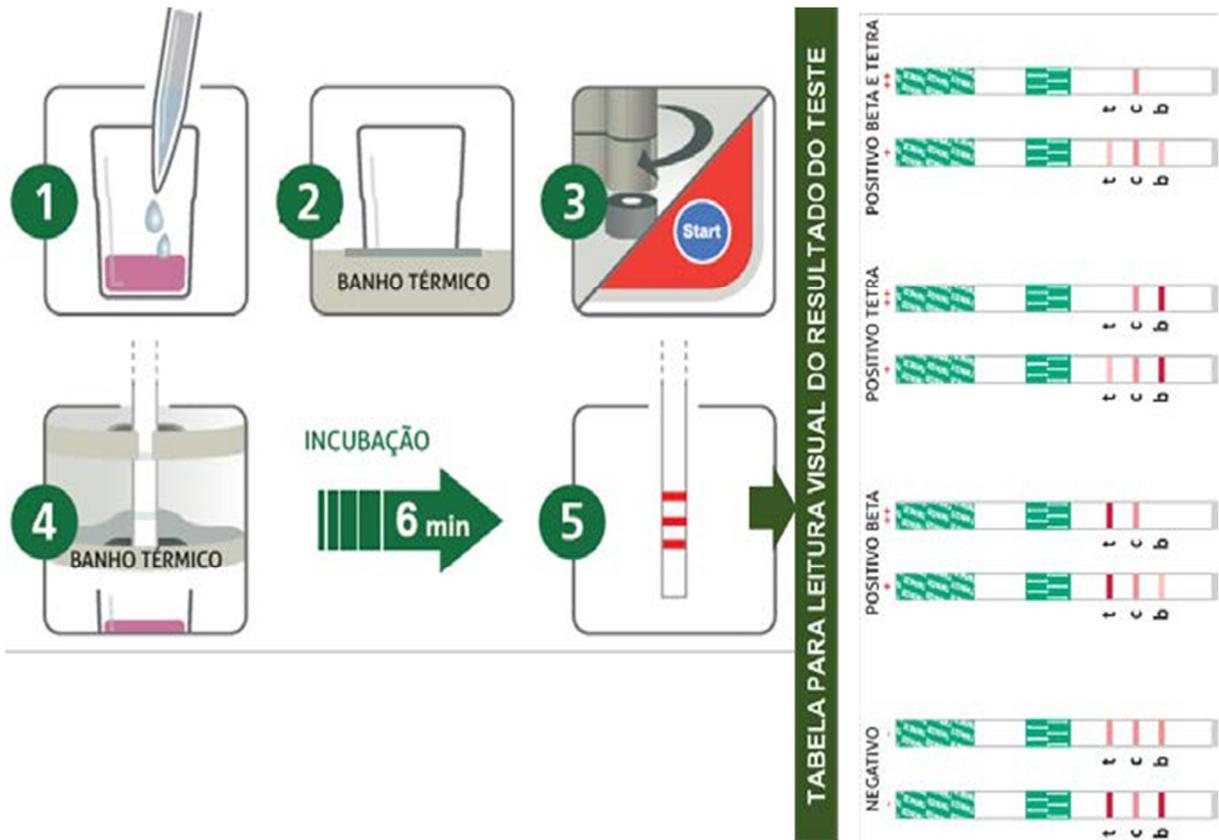
O procedimento do Twin Sensor Test consiste em adicionar 200µl (0,2ml) de leite no microtubo, incubar a amostra por 3 minutos a 40°C, em seguida, é submergido a tira reativa no microtubo, permanecendo incubado por mais 3 minutos a 40° C. Após este intervalo são visualizadas as linhas coloridas que surgem na tira (Figura 1).⁴⁰

O teste é composto por 12 embalagens com 8 tiras reativas, uma micropipeta de 200µl, 96 pontas descartáveis, 1 laudo de conformidade, 1 controle positivo e negativo, 1 manual de instruções.⁴⁰

Tabela 4: Sensibilidade do teste (Twin Sensor Test) aos antimicrobianos e limites máximos de resíduos (LMR), validados para leite cru, pasteurizado, UHT, concentrado e soro do leite.

Grupo de antimicrobianos	Substância	Limites de detecção (ppb)	LMR (Codex 2012)
Betalactâmicos	Penicilina G	2-3	4
Penicilinas	Ampicilina	3-4	4
	Amoxicilina	3-4	4
	Oxacilina	12-18	30
	Cloxacilina	6-8	30
	Dicloxacilina	6-8	30
	Nafcilina	30-50	30
Betalactâmicos	Cefacetrla	30-40	125
Cefalosporinas	Cefalonio	3-5	20
	Cefalexina	>750	100
	Cefazolina	18-22	50
	Cefoperazona	3-4	50
	Cefquinoma	20-30	20
	Ceftiofur	10-15	100
	Cefapirina	6-8	60
Tetraciclina	Clortetraciclina	30-40	100
	Doxiciclina	10-15	100
	Oxitetraciclina	50-60	100

Figura 1 - Passo a passo da condução do teste Teste Twin sensor.

Fonte: CAP-LAB⁴⁰

Desse modo, a pesquisa norteadora desse estudo foi bibliográfica, bem como de campo, quantitativa e, aliada aos testes permitiu que se chegasse aos resultados necessários a uma conclusão para esse estudo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 120 amostras analisadas para detecção da presença de antimicrobianos, apenas uma apresentou resultado positivo para tetraciclina. Não foi encontrado resíduos de betalactâmicos em nenhuma das amostras analisadas. A incidência de apenas uma amostra

com antimicrobianos consiste em um resultado bastante significativo no sentido de que o leite produzido em Rondônia possui boa qualidade.

O percentual médio de gordura das amostras analisadas foi de 3,32. Este resultado está de acordo com o preconizado na IN 62, que exige o mínimo de 3,00% (Figura 2). Porém, vale ressaltar que um total de 54 amostras analisadas apresentaram teor de gordura menor que 3,00%, ou seja, 10,80% das amostras.

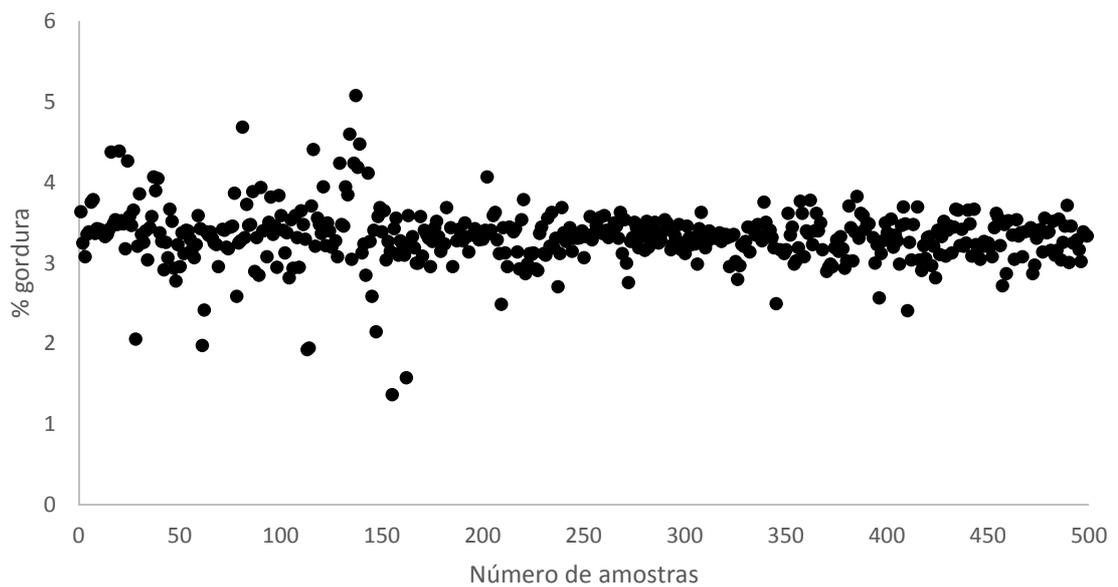


Figura 2 - Teor de gordura do leite em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia

O percentual médio de proteína das amostras analisadas foi de 3,17. Este resultado está de acordo com o preconizado na IN62, que exige o mínimo de 2,90% (Figura 3). De um total de 500 amostras analisadas, 21 apresentaram porcentagem de proteína inferior a 2,90%, ou seja, 4,20% das amostras.

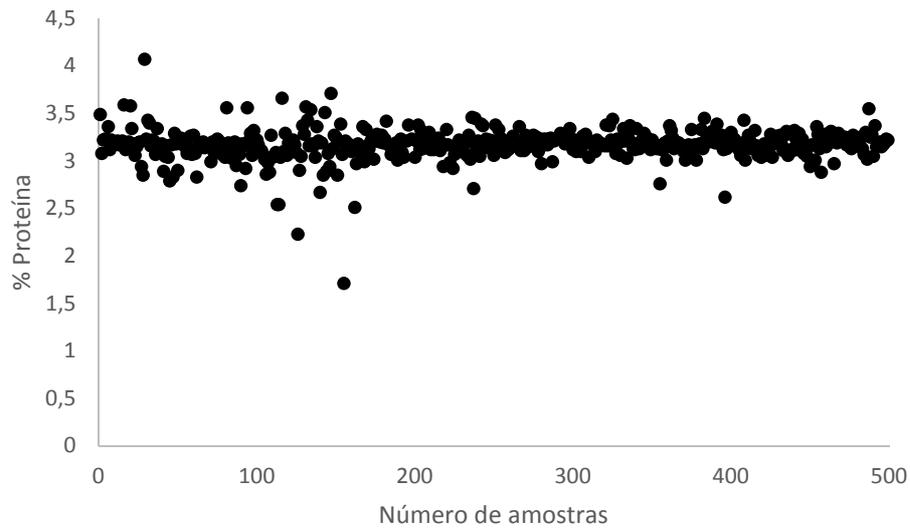


Figura 3 - Teor de proteína do leite em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia.

O percentual médio de ESD das amostras analisadas foi de 8,60. Este resultado está dentro do valor preconizado na IN62, que exige o mínimo de 8,40% (Figura 4). De um total de 500 amostras analisadas, 38 apresentaram porcentagem de ESD inferior a 8,40%, ou seja, 7,60% das amostras.

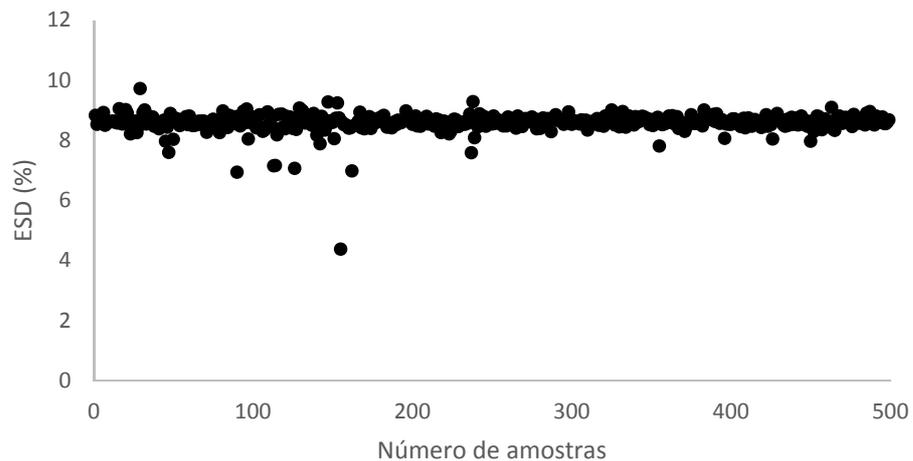


Figura 4 - Porcentagem de extrato seco desengordurado (ESD) em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia.

De acordo com o artigo 476 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), considera-se leite normal, o produto que apresente,

entre as demais especificações, teor de lactose mínimo de 4,3%. O percentual médio de lactose obtido nas amostras analisadas foi de 4,49% (Figura 5). De um total de 500 amostras analisadas, apenas 23 estavam em desconformidade para esta característica, ou seja, 4,6% das amostras.

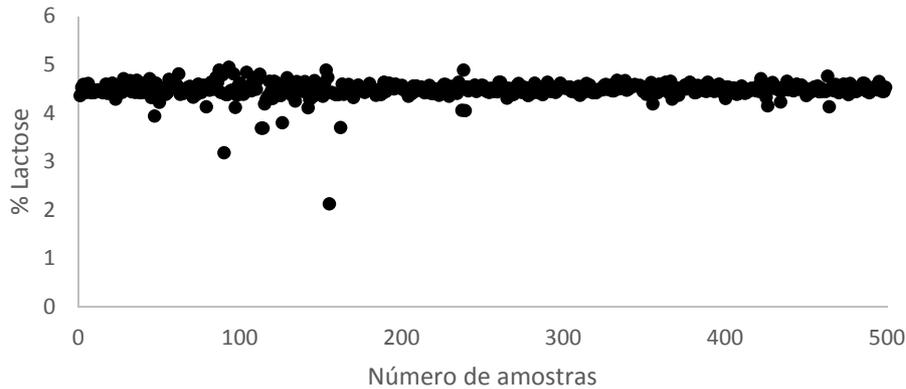


Figura 5 - Teor de lactose do leite em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia.

O artigo 476 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) considera o teor mínimo de sólidos totais presente no leite normal de 11,5% (Figura 6). O valor médio obtido em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia foi de 11,93%, com apenas 43 amostras ou 8,6% abaixo do valor mínimo preconizado no RIISPOA.

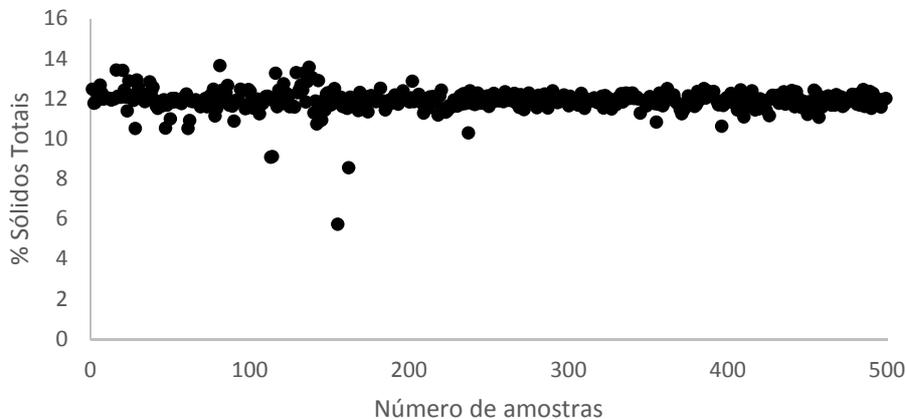


Figura 6 - Teor de sólidos totais do leite em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia.

A quantidade média de CCS obtida nas amostras analisadas foi de 414.294 células/mL, lembrando que a quantidade máxima permitida pela IN 62 é de 400.000 células/mL (Figura 7). Das 500 amostras analisadas para CCS, um total de 233 apresentaram valores acima de 400.000 células/ml, ou seja, 46,6% das amostras. É importante destacar que 20 amostras analisadas apresentaram valores superiores ao dobro permitido pela IN 62 e em 14 destas amostras foram identificados valores de CCS superiores a 1.000.000 de células/ml.

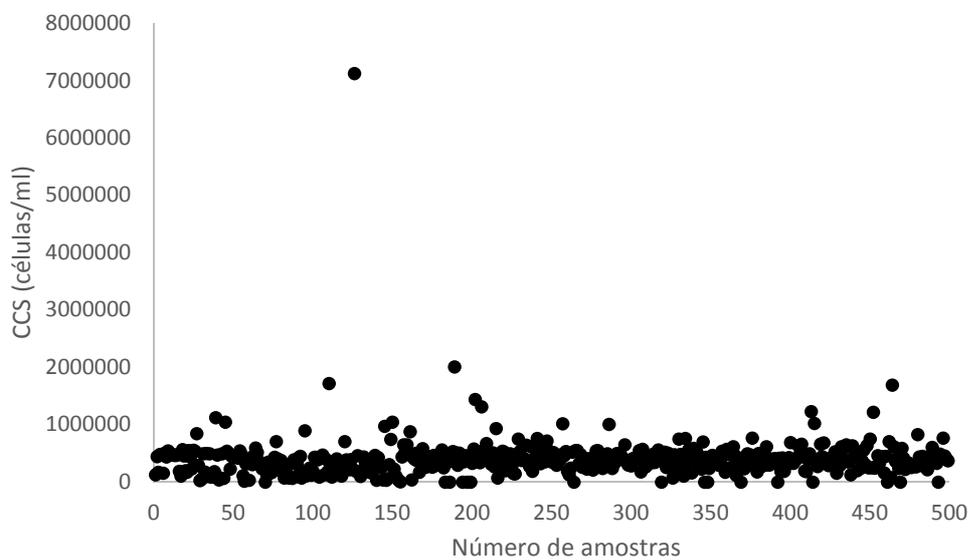


Figura 7 – Contagem de células somáticas (CCS) em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia.

O valor médio de CBT obtido nas amostras oriundas da região central do estado de Rondônia foi de 195.426 UFC/mL, acima da quantidade máxima permitida pela IN 62 que é de 100.000 células/mL (Figura 8). Das 500 amostras analisadas para CBT, um total de 198 apresentaram valores acima de 100.000 células/ml, ou seja, 39,6% das amostras. É importante destacar que 191 amostras analisadas apresentaram valores superiores ao dobro permitido pela IN 62.

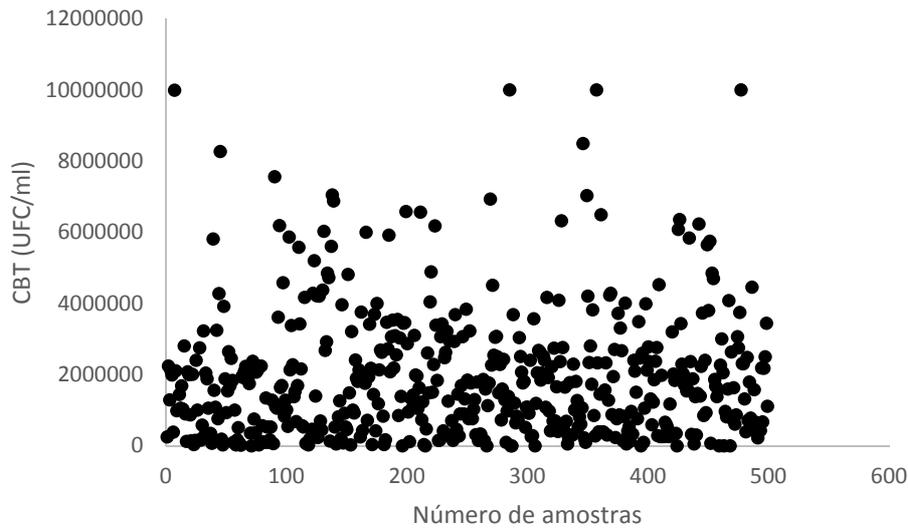


Figura 8 – Contagem bacteriana total (CBT) em amostras coletadas em propriedades na região central do estado de Rondônia.

Os resultados obtidos por meio desta pesquisa possuem grande semelhança com os resultados obtidos por Alves (*et al.*, 2016) que detalha o seguinte:

Segundo Nero (2007), das 210 amostras de leite cru coletadas em sua pesquisa em quatro regiões produtoras do Brasil, foram detectadas 24 amostras (11,4%), sendo 13 (20,6%) em PR, 4 (8,0%) em SP, 4 (8,5%) em MG, e 3 (6,0%) em RS. Já Ferreira (2014), analisou 86 amostras de leite in natura no município de Teresina no Piauí, de cinco produtores (A, B, C, D e E), apenas 2 (2,33%) amostras do mesmo produtor (D) apresentaram resultado positivo em relação à presença de resíduos de antibióticos. Magnavita (2012) avaliou a presença de resíduos de antimicrobianos, por meio do uso de kit's Delvotest® SP-NT, 240 amostras em 20 marcas de leite pasteurizado, sob Inspeção Estadual, adquiridas em estabelecimentos comerciais de cidades do Estado da Bahia, e quantificar as tetraciclina (oxitetraciclina e tetraciclina) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). No teste de triagem, foram identificadas 19 amostras positivas (7,9%), 24 suspeitas (10,1%) e 197 negativas (82,0%). Das 43 amostras positivas e/ou suspeitas analisadas por CLAE, em 40 (93%) foram detectadas e quantificadas a presença de oxitetraciclina e em 13 amostras (30%) a tetraciclina.

Em se tratando de análises para detectar a presença de resíduos de antibióticos, observa-se com base na abordagem da autora citada que, esta não é uma prática recente e que, as amostras podem tanto ser obtidas diretamente do produtor quanto nos comércios da região onde se realiza a pesquisa, sendo o fator mais importante a obtenção de um resultado que possibilite chegar a uma determinada conclusão.

No que se refere à presença de resíduos de antimicrobianos nas amostras de leite, a autora ainda afirma que:

[...] apesar da maioria ter apresentado resultado negativo, dentre as que apresentaram resultado positivo e/ou suspeito no teste de triagem, todas apresentaram concentrações das tetraciclina superiores ao LMR. Silva, et al (2014) identificaram a presença de resíduos de antibióticos em leite de células de refrigeração, na mesorregião sul do Estado do Pará. Foram utilizados os Kits Delvotest® SP-NT para analisar 50 amostras de leite estocados em tanques de refrigeração nas propriedades rurais de quatro municípios. Os resultados mostraram a presença de resíduos de antibióticos em 4 amostras (8%), sendo 2 (4%) em Conceição do Araguaia e 2 (4%) em Redenção.

Assim como na pesquisa de Alves (*et al.*, 2016), a pesquisa em tela foi realizada com testes padronizados, sendo ele o Twin Sensor Test e obteve resultados satisfatórios no sentido de detectar resíduos de antimicrobianos no leite produzido em 5 municípios da região central do estado de Rondônia, utilizando o teste mencionado.

4. CONCLUSÃO

Menos de 1% das amostras oriundas de 5 municípios da região central do estado de Rondônia apresentaram resíduos de antimicrobianos, todavia, os valores médios de CCS e CBT estão acima do preconizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento na Instrução Normativa 62, de 29 de dezembro de 2011.

Considerando a quantidade de amostras analisadas, 1% é um valor mínimo, o que possibilita concluir que o leite dos municípios pertencentes à região analisada é possui qualidade suficiente para ser comercializado. Tal conclusão é importante, pois um leite de boa qualidade é essencial para que tanto este, quanto os produtos derivados do mesmo possam ser comercializados e consumidos sem que haja dano à saúde do consumidor.

É importante ressaltar que há uma rigorosa fiscalização do leite e produtos derivados não apenas na região onde ocorreu a pesquisa, mas em todo o Estado de Rondônia realizadas

pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA que visam garantir a qualidade do leite produzido.

No entanto, é necessário que os produtores prezem por adotar melhores práticas na produção do leite para que o mesmo esteja de acordo com o estabelecido pela instrução normativa 62 e, conseqüentemente com uma qualidade superior a detectada pelos testes realizados.

5. REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA LP, VIEIRA RL, ROSSI DA, CARNEIRO AL, ROCHA ML. Resíduos de Antibiótico em Leite de Propriedades Rurais da Região de Uberlândia-MG. Biosci. J.,Uberlândia, v.19, n. 3, pág. 83-87, Sept/Dec. 2003.
2. BORGES GT, SANTANA AP, MESQUITA AJ, MESQUITA SQP, SILVA LAF, NUNES, VQ. Ocorrência de Resíduos de Antibióticos em Leite Pasteurizado Integral e Padronizado Produzido e Comercializado no Estado de Goiás. Ciência Animal Brasileira1(1): 59-63, jan./jun. 2000.
3. CAMPOS EP. Qualidade microbiológica, físico-química e pesquisa de resíduos de antibióticos e pesticidas no leite bovino produzido pelo sistema convencional e pelo sistema orgânico. Botucatu, 2004. Dissertação [mestrado]– Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/99372>>. Acesso em: 10 abr. 2018.
4. GOMES DM, Resíduos de Antibióticos Promotores de Crescimento em Produtos de Origem Animal. Monografia [especialização], Universidade de Brasília, Centro de Excelência em Turismo, 2004. Disponível em: <<http://bdm.unb.br/handle/10483/521>>. Acesso em: 10 abr. 2018.
5. GOMES DM. Resíduos de Antibióticos Promotores de Crescimento em Produtos de Origem Animal. Monografia [especialização], Universidade de Brasília, Centro de Excelência em Turismo, 2004. Disponível em: <<http://bdm.unb.br/handle/10483/521>>. Acesso em: 10 abr. 2018.

6. BRITO LG, SALMAN AKD, GONÇALES MAR, FIGUEIRÓ MR. Cartilha para o produtor de leite de Rondônia. Parte II: Aspectos técnicos. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2007. 40 p. [Embrapa Rondônia. Documentos, 116].
7. BRITO LG, BARBIERI FS, ROCHA RB, OLIVEIRA MC.S, RIBEIRO ES. Evaluation of the efficacy of acaricides used to control the cattle tick, *Rhipicephalusmicroplus*, in dairy herds raised in the brazilian Southwester Amazon. *Veterinary Medicine International*, v. 2011, 2011.
8. BRITO LG, BARBIERI FS, ROCHA RB, OLIVEIRA MCS, RIBEIRO ES. Evaluation of the efficacy of acaricides used to control the cattle tick, *Rhipicephalusmicroplus*, in dairy herds raised in the brazilian Southwester Amazon. *Veterinary Medicine International*, v. 2011, 2011.
9. WANNMACHER L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? In: *Uso Racional de Medicamentos: Temas Seleccionados*. Brasília, v. 1, n. 4, mar., 2004.
10. BRITO LG, VIEIRA JUNIOR JR, ROCHA RB, FIGUEIRO MR, SILVA WC, CARVALHO GLO, SILVA JÁ, SOUZA GN. Avaliação da qualidade composicional e da saúde da glândula mamária de rebanhos bovinos localizados na bacia leiteira de Ji-Paraná e Rolim de Moura, Rondônia. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2011. 6 p. [Embrapa Rondônia. Comunicado Técnico, 366].

11. BRITO MAVP. Resíduos de antibióticos no leite: um problema que tem solução. Juiz de Fora: Embrapa, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br>>. Acesso em: 10 abr. 2018.
12. MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 10 abr. 2018.
13. BRITO LG, ROCHA RB, SILVA NETTO FG, BARBIERI FS, OLIVEIRA MCS, GONÇALVES MAR, CARVALHO GLO. Eficácia de carrapaticidas em rebanhos leiteiros de Rondônia. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2010. [Embrapa Rondônia. Circular técnica, 113].
14. ALBUQUERQUE LMB, MELO VMM, MARTINS SCS. Investigações sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza-CE-Brasil. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 10, n. 41, p. 29-32, jan./fev. 1996.
15. MEAD PS. *et al.* Food-related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases, Atlanta, v. 5, n. 5, p. 607-625, sep./oct. 1999.
16. FARIAS AX. *et al.* Avaliação da qualidade do leite, quanto à presença de resíduos de antibióticos. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 59, n. 33, p. 428-430, jul. 2004.
17. JONES GM. On-farm tests for drug residues in milk. Petersburg: Virginia State University, 1999. 6 p.

18. KOIDE EM, GIROTO JM. Verificação da presença de resíduos antimicrobianos em leite *in natura* na região dos Campos Gerais - Paraná. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 59, n. 33, p. 436-438, jul. 2004.
19. McEWEN SA, BLACK WD, MEEK AH. Antibiotic residue prevention methods, farm management, and occurrence of antibiotic residues in milk. Journal of Dairy Science, Savoy, v. 74, n. 7, p. 2128-2137, jul. 1991.
20. NASCIMENTO GGF, MAESTRO V, CAMPOS MSP. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. Revista de Nutrição, Campinas, v. 14, n. 2, p. 119-124, mai./ago. 2001.
21. HILLERTON JE. *et al.* Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using Delvo test microbial inhibitor tests. Journal of Dairy Science, Savoy, v. 82, n. 4, p. 704-711, apr. 1999.
22. VAN SCHAİK G, LOTEM M, SCHUKKEN YH. Trends in somatic cells counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000. Journal of Dairy Science, Savoy, v. 85, n. 4, p. 782-789, abr. 2002.
23. SHITANDI A, KIHUMBU G. Laboratory evaluation of the improved tube test detection limits for β -lactam residues in Kenyan milk. African Journal of Biotechnology, Nairobi, v. 3, n. 1, p. 82-87, jan. 2004.

24. COSTA EO. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 15-17, jul./ago. 1996.
25. KANG'ETHE EK. *et al.* Investigation of the risk of consuming marketed milk with antimicrobial residues in Kenya. *Food Control*, Guildford, v. 16, n. 4, p. 349-355, apr. 2005.
26. MINIUSSI JT. Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. *In: CHARLES TP, FURLONG J. (Ed.). Doenças dos bovinos de leite adultos. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1992. p. 169-174.*
27. LEDERER J. Enciclopédia moderna de higiene alimentar: intoxicações alimentares. São Paulo: Manole, 1991. p. 205-215. *In: HEESCHER, W., SUHREN, G. Antibiotics and sulfonamids in milk-significance, evaluation, maximum residue limits (MRLs) and concepts of detection from an international point-of-view. Kieler Milch Wirts, Kiel, v.45, n.1 p.43-60, 1993.*
28. COSTA EO. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.10, n.44, p.15-17, 1996.
29. COHEN ML. Epidemiology of drug resistance: implications for post anti-microbial era. *Science*, Washington DC, v.257, n.5073, p.1050-1055, 1992.
30. CASTANHEIRA GCA. Controle de Qualidade de Leite e Derivados. 2. ed. São Paulo: Cap-lab; 2012.368p.

31. IDARON, Agencia de defesa Sanitária Agrosilvo pastoril do estado de Rondônia. Disponível em: <<http://www.idaron.ro.gov.br/porta/svArquivos.aspx>>. Acesso em: 10 abr. 2018.
32. SILVA FR, SILVA MAP, CARMO RM, SILVA RCF, MELO AF, MORAIS LA. Resíduos de Antibióticos em Leite Cru Refrigerado. In: I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Campus Rio Verde do IF Goiano.
33. DÜRR JW. Como produzir leite de qualidade. 4. ed. Brasília: SENAR, 2012. 44 p. il.; 21 cm. [Coleção SENAR, iSSN 1676-367x, 113].
34. ALMEIDA LP, VIEIRA RL, ROSSI DA, CARNEIRO AL, ROCHA ML. Resíduos de Antibiótico em Leite de Propriedades Rurais da Região de Uberlândia-MG. Biosci. J.,Uberlândia, v.19, n. 3, pág. 83-87, Sept/Dec. 2003.
35. EMBRAPA. Sistemas de Produção de Leite em Rondônia. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/rondonia/busca-de-publicacoes/-/publicacao/937901/sistema-de-producao-de-leite-para-rondonia>>. Acesso em: 10 abr. 2018.
36. EMATER. Entidade Autárquica de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Rondônia. Disponível em: <<http://www.emater.ro.gov.br/ematerro/>>. Acesso em: 10 abr. 2018.
37. GUIMARÃES R. Importância da matéria prima para a qualidade do leite fluido de consumo. Higiene alimentar, v. 16,n 102/103, p. 25-34, 2002.

38. PRATA LF, FUKUDA SP, MARTINS LS, FIGUEIREDO SF. Influência da coleta a granel, em dais alternados, sobre a qualidade do leite cru mantido sob refrigeração na fazenda. *Higiene Alimentar*, v.10, n.45, p. 29-34,1996.
39. BRASIL. Portaria nº. 56, de 07 de dezembro de 1999. Submete a consulta pública os regulamentos técnicos de padrão de identidade e qualidade do leite. *Diário Oficial da União*, Brasília, p. 34, 08 de dez.1999. Seção 2.
40. CAP-LAB. Meios de Cultura e Testes Rápidos. Disponível em: <www.cap-lab.com.br/catalogoDetalhes.asp?cod=50#.VvU9bdIrJdg>. Acesso em: 04 nov. 2017.
41. BRAGAKMS, *et al.* Citometria de Fluxo: Histórico, Princípios Básicos e Aplicações em Pesquisa. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p. 2016. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2016a/agrarias/citometria.pdf>>. Acesso em: 28 ago. 2018.
42. SANTOS MV. Boas práticas de produção associadas à higiene de ordenha e qualidade do leite. In: *O Brasil e a nova era do mercado do leite – Compreender para competir*. Piracicaba: Agropoint LTDA, 2007, v. 1, p. 135-154. Disponível em:<<http://qualileite.org/pdf/Capitulosde livros/8.pdf&vet>>. Acesso em: 30 ago. 2018.
43. HORTA M. Métodos diagnósticos de resíduos de antibióticos no leite. Disponível em:<<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

44. ARAUJO GB. et al., Detecção de resíduo de antibiótico em leite in natura em laticínio sob inspeção federal. *Scientia Plena*, v. 11, n. 04, 2015. Disponível em: <www.scientiaplenu.org.br>. Acesso em: 30 ago. 2018.

45. ALVES GMC. *et al.*, Avaliação de resíduos de antibióticos no leite no recebimento de matéria-prima em laticínios no Estado de Rondônia. Descalvado: [s.n.], 2016. 16p.: il. (Boletim Técnico da Universidade Camilo Castelo Branco, Departamento de Produção Animal, 16) .