

Detecção de resíduo de antibiótico em leite *in natura* em laticínio sob inspeção federal

G. B. Araujo¹; H. A. Santos¹; C. E. Farias¹; D. A. F. Viana², E. S. Vieira³, A. M. F. Junior³

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Pio Décimo, CEP 49095-000. Aracaju-SERGIPE, Brasil

²Medica Veterinária Autônoma, CEP.49001-087, Aracaju-SERGIPE, Brasil

³Docente da Faculdade Pio Décimo, CEP49095-000. Aracaju-SERGIPE, Brasil
hilderley_pa@hotmail.com

(Recebido em 03 de outubro de 2014; aceito em 20 de outubro de 2014)

A principal fonte de resíduos de antibióticos em leite é originada do manejo inadequado de drogas no controle das mastites, metrite ou outra doença infecciosa, bem como, resultado do tratamento no início do período seco para controlar a mastite. O uso difundido de antibióticos pelos produtores, de maneira indiscriminada, tem contribuído para presença desses resíduos. Foi objetivo deste trabalho avaliar a ocorrência de resíduos de antibióticos em leite *in natura* em plataforma de recepção de estabelecimento com Serviço de Inspeção Federal. As análises foram realizadas no período de março de 2013 á fevereiro de 2014, na plataforma de recepção de laticínio sob Inspeção Federal. Foram analisados 235.393 Litros de leite, utilizando kits de detecção de resíduos Eclipse 50 e BetaStar Combo. Observou-se que a ocorrência de resíduos de antibióticos oscilou com um decorrente aumento, com uma média de aproximadamente 20 mil litros/mês, no período analisado. A ocorrência encontrada é provavelmente à antibioticoterapia amplamente utilizada, principalmente no tratamento das mastites. O uso indiscriminado de drogas veterinárias e sem respeitar o período de carência. Os resultados obtidos neste estudo indicam a necessidade de monitoração. Para garantir padrões de qualidade e inocuidade do leite, é preciso uma integração entre produtores, as indústrias beneficiadoras e as autoridades sanitárias.

Palavras chave: contaminação, infecção e microbiológicos.

Detection of antibiotic residue in fresh milk in dairy under federal inspection

The main source of antibiotic residues in milk originates from the improper management of drugs in control of mastitis, metritis or other infectious disease, as well as result of the treatment at the beginning of the dry period to control mastitis. The widespread use of antibiotics by farmers, indiscriminately, have contributed to the presence of these residues. This study aimed to evaluate the occurrence of residues antibiotics in fresh milk in receiving settlement with the Federal Inspection Service platform. Analyses were performed from March 2013 to February 2014, in the reception dairy under Federal Inspection platform. 235,393 liters of milk were analyzed using detection kits Eclipse 50 and BetaStar Combo waste. It was observed that the occurrence of antibiotic residues fluctuated with a resultant increase, with an average of approximately 20,000 liters / month over that period. The occurrence found is probably the antibiotic widely used, especially in the treatment of mastitis. The indiscriminate use of veterinary drugs and without respecting the grace period. the results obtained in this study indicate the need for monitoring. Standards to ensure quality and safety of milk, you need an integration between producers, the beneficiary industries and the health authorities.

Key-words: contamination, infection and microbiological.

1. INTRODUÇÃO

Com a demanda de alimentos cada vez maior e sendo o leite um produto altamente consumido diariamente pela população, torna-se necessário o interesse com relação à segurança alimentar, principalmente com relação a perigos microbiológicos e químicos presente nos alimentos. A qualidade do leite é definida por parâmetros de características físico-químicas, organolépticas, baixa contagem bacteriana, ausência de micro-organismos patogênicos, baixa contagem de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antibióticos.

A principal fonte de resíduos de antibióticos em leite é originada do manejo inadequado de drogas no controle das mastites, metrite ou outra doença infecciosa, bem como, resultado do tratamento no início do período seco para controlar a mastite. O uso difundido de antibióticos pelos produtores, de maneira indiscriminada, tem contribuído para presença desses resíduos.

A presença de inibidores bacterianos no leite de consumo resulta em grande preocupação para a indústria leiteira, além de representar um risco para a saúde do consumidor.

A persistência de resíduos de antimicrobianos no leite depende da droga utilizada e de outros fatores como dose, via de administração e solubilidade⁵.

A sua monitoração relaciona-se em nível de saúde pública, com a possibilidade de reações alérgicas em indivíduos susceptíveis, hipersensibilidade, desequilíbrio da flora intestinal e seleção de cepas bacterianas resistentes, bem como, em nível de indústria interfere no processo fermentativo de iogurtes, queijos e leite fermentado.

A presença desses resíduos é um fator de rejeição dentro da indústria uma vez que torna a matéria-prima inadequada para o seu uso, já que não há tratamento tecnológico que consiga inativar tais substâncias⁹.

Tanto as legislações normatizadoras de produtos lácteos, quanto o mercado consumidor, têm sido cada vez mais rigorosos no que diz respeito à qualidade dos alimentos. De acordo com as legislações vigentes, a cadeia produtiva destes derivados deve ter comprometimento em alcançar e sustentar padrões de excelência em qualidade e inocuidade dos produtos, desde a obtenção da matéria-prima até o consumidor final³.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de resíduos de antibióticos em leite *in natura* em plataforma de recepção de estabelecimento com Serviço de Inspeção Federal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no período de março de 2013 á fevereiro de 2014, na plataforma de recepção de laticínio sob Inspeção Federal. Foram analisados 235.393 litros de leite, utilizando kits de detecção de resíduos Eclipse 50 (Figura 1 e 2) e BetaStar Combo (Figura 3 e 4).



Figura 1 e 2: Apresentação de KIT Eclipse 50



Figura 3 e 4: Apresentação do Kit BetaStar Combo

Durante a incubação da placa a 65°C, os esporos germinam e se multiplicam, acidificando o meio e provocando a modificação do indicador de uma cor azul para amarelo esverdeado. Se a amostra de leite contém uma concentração de antibiótico superior ao limite de detecção do teste, o crescimento do microrganismo é inibido e, conseqüentemente, não ocorre produção de ácido, nem por consequência, modificação da cor do meio.

O teste é realizado recortando com um estilete ou bisturi a lâmina metálica que protege a placa e os recipientes pressionando pela parte inferior. É importante não desprender a lâmina dos recipientes que não serão utilizados, e guardá-los na embalagem plástica, bem vedada e refrigerada, ao contrário o meio poderá secar. Levantar a lâmina adesiva e aplicar 50µl da amostra de leite em cada recipiente. Recomenda-se a utilização de micropipetas automáticas. Vedar cuidadosamente a placa com uma lâmina adesiva (também poderá usar uma fita adesiva tipo durex) e incubar em banho térmico tipo seco, à 65°C por cerca de 2h30min - 3h.

Para uma correta interpretação dos resultados deve-se visualizar a parte lateral do tubo. Os tubos de cor amarela esverdeada são resultados negativos, e os de cor azul, positivos (Figura 5 e 6). Uma cor azul esverdeado do tubo indica a presença de antibiótico em uma concentração próxima ao limite de detecção. Neste caso, recomenda-se repetir a análise.



Figura 5: Resultado negativo para antibiótico



Figura 6: Resultado positivo para antibiótico

BetaStar Combo é um ensaio de fluxo de ligação à base de proteínas lateral para a detecção de beta - lactâmicos e resíduos de antibióticos de tetraciclina. Beta - lactâmicos e tetraciclina presentes na amostra de leite irá ligar-se a ligação do conjugado de proteína.

Uma tira à base de membrana com beta - lactâmicos ligado a uma linha de teste e antibiótico tetraciclina ligado a uma segunda linha de teste está então adicionada à amostra. À medida que a amostra flui para cima da membrana, uma linha vermelha faz com intensidade inversamente

proporcional à quantidade de beta - lactâmicos e antibióticos tetraciclina presente na amostra de leite.

A interpretação visual das linhas indicam se a amostra é positivo ou negativo. Uma razão superior a 1,0 indica um resultado de teste negativo, ao passo que uma proporção de menos do que ou igual a 1,0 indica um resultado positivo .

A amostra de leite de 200 µl é adicionada ao frasco e incubada a $47,5^{\circ}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ durante 2 minutos. A tira é colocada no frasco e posteriormente incubada a $47,5^{\circ}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ durante 3 minutos. O teste é então visualmente interpretado.

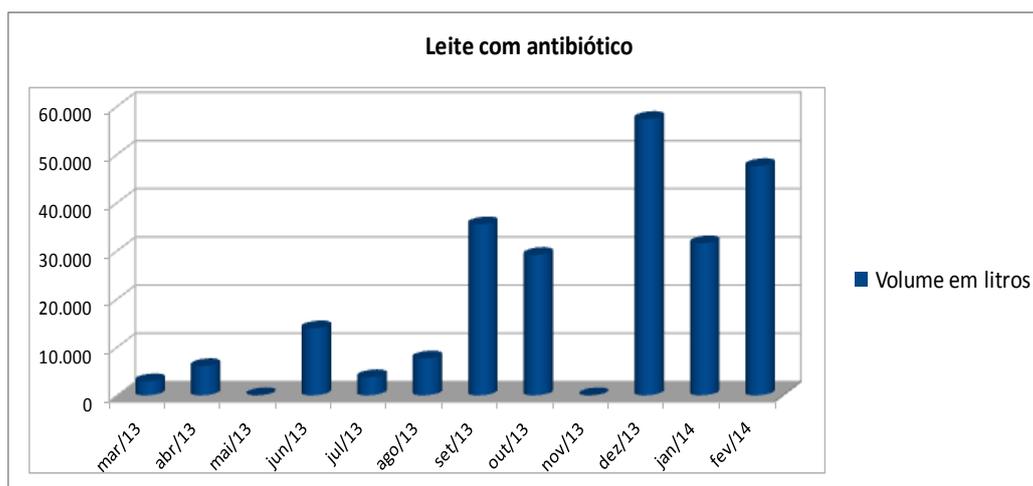
3. RESULTADO E DISCURSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, nota-se na tabela 1 e no gráfico 1 que a ocorrência de resíduos de antibióticos oscilou com um decorrente aumento, com uma média de aproximadamente 20 mil litros/mês, no período analisado.

Tabela 1: Volume de leite rejeitado correspondente ao período de Março de 2013 a Fevereiro de 2014.

Mês/Ano	Volume (Litros)	FR %
Março/13	2.906	1
Abril/13	6.049	2,5
Mai/13	-----	-----
Junho/13	13.905	5,9
Julho/13	3.759	1,5
Agosto/13	7.560	3,2
Setembro/13	35.476	15
Outubro/13	29.128	12,3
Novembro/13	-----	-----
Dezembro/13	57.354	24,3
Janeiro/14	31.559	13,4
Fevereiro/14	47.577	20,2
Total	235.393	

Gráfico 1: Comparativo de volume de leite com presença de antibióticos no período de Março de 2013 a Fevereiro de 2014.



Outros dados mostram que o problema da presença de resíduos de antimicrobianos em leite cru ocorreram em outras ocasiões no país como constatou, Barreira et al. em 2004, quando analisaram amostras de leite cru de 199 tanques de refrigeração do município de Macuco (RJ) no período de 06 de maio a 06 de junho de 2004. Utilizou-se o kit Deltotest-SP e das amostras

analisadas, 7,54% (15 amostras) apresentaram resultado positivo para presença de resíduos de antimicrobianos.

Nero et al.⁸, avaliaram 210 amostras de leite cru de pequenas e médias propriedades rurais de quatro importantes estados produtores de leite (MG, RS, PR e SP), utilizando o Charm-test. Em 11,5% das amostras, observou-se resultado positivo para presença de resíduos de antimicrobianos.

Alves, no ano de 2006, em seu trabalho, analisou 41 amostras de leite cru provenientes de duas propriedades na região metropolitana de Belo Horizonte (MG), no período de outubro de 2004 a setembro de 2005. Observou-se uma frequência de 9,8% de amostras positivas e 17,1% de amostras suspeitas à contaminação por inibidores microbianos, utilizando o teste COPAN Microplate e o kit Delvotest-P. Do total das amostras analisadas, 26,9% apresentaram resultado positivo ou suspeito para presença de resíduos de antimicrobianos.

E em leite beneficiado e comercializado, também foram detectada a presença de resíduos de antimicrobianos, como constatou Nascimento et al.⁷, na cidade de Piracicaba-SP, constataram a presença de resíduos de penicilina em 48 amostras de leites pasteurizados e UHT (50%), num total de 96 amostras analisadas, após a utilização do Método Difusão em Disco.

Magalhães, em estudo realizado em Belo Horizonte-MG, analisou 250 amostras de leite tipo A, tipo B, tipo C e Integral Fazenda por meio do método TCC obtendo 15,83 % de amostras positivas para presença de resíduos de antimicrobianos.

Borges et al.⁴, pesquisaram resíduos de antibióticos em 533 amostras de 98 marcas comerciais de leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no Estado de Goiás. Os resultados mostram a presença de antibióticos em 53 (9,95%) amostras. Em relação as diferentes marcas comerciais, 32 (32,65%).

A ocorrência encontrada é provavelmente à antibiototerapia amplamente utilizada, principalmente no tratamento das mastites. O uso indiscriminado de drogas veterinárias e sem respeitar o período de carência.

4. CONCLUSÃO

A detecção da presença de resíduos de antibiótico em leite é realizada pela indústria, porém são os produtores e os veterinários quem controlam os tratamentos com utilização de medicamentos no gado leiteiro. As presenças de resíduos de antimicrobianos no leite indicam que os produtores não levam em consideração as práticas corretas no uso de medicamentos veterinários. É muito importante realizar um trabalho informativo aos produtores sobre as práticas que podem resultar em resíduos no leite.

Os resultados obtidos neste estudo indicam a necessidade de monitoração. Para garantir padrões de qualidade e inocuidade do leite, é preciso uma integração entre produtores, as indústrias beneficiadoras e as autoridades sanitárias.

1. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº42, de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCRA e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel – PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP. Diário Oficial da União, Brasília, 22 dez. 1999. Seção 1:253.
2. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº68, de 12 de Dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos, para controle de leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília-DF, 12 de Dezembro de 2006.
3. Brito MAVP. Resíduos de antibióticos no leite: um problema que tem solução. Juiz de Fora: Embrapa, 2006. Disponível em: <http://www.cnpq.embrapa.br>. Acesso em: 10 dez. 2013.
4. Borges GT, Santana AP, Mesquita AJ, Mesquita SQ, Silva LAF, Nunes VQ. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado, produzido e comercializado no Estado de Goiás. Rev. Higiene Alimentar. 1999; 13(61): 27-28.
5. Costa EO. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. Higiene Alimentar. 1996; 10(44): 15-17.

6. Maluf RS, Ribeiro AB. Resíduos de Antibióticos em Leite. *SaBios: Rev. Saúde e Biol.* 2012; 7(1): 30-44.
7. Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. Ocorrência de Resíduos de Antibióticos no Leite Comercializado em Piracicaba/SP. *Revista de Nutrição.* 2001; 14(2).
8. Nero LA, Mattos MR, Beloti V, Barros MAF, Frango BDGM. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras do Brasil. *Ciênc. Tecnol. Alimentar.* 2007; 27(2): 391-393.
9. Santos MV. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das células somáticas. In: Brito JRF, Portugal JAB. (Org). *Diagnóstico a qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.* Juiz de Fora. 2003; 1: 139-149.
10. Sousa FC, Oliveira ENA, Santos DS, Silva EFM. Ocorrência de Resíduos de Antibióticos em Leites Pasteurizados Comercializados no Estado do Ceará – Brasil. *Revista Verde.* 2010; 5(4): 10-14.
11. Souza NG, Benedet HD. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite de consumo no estado de Santa Catarina, Brasil. *Rev. do Inst. Candido Tostes.* 2000; 54(315): 156-162.
12. Tenório CGMSC, Cerqueira MMOP, Viegas RP, Resende MFS, Clinquart DL, SantosAKR, Souza MR, Penna CFAM. Eficiência dos testes COPAN (Microplate e Single) na detecção de resíduos de antimicrobianos no leite *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2009; 61(2): 504:510.
13. Vieira TSWJ, Ribeiro MR, Nunes MP, Machinski Júnior M, Netto DP. Detecção de Resíduo de Antibiótico em Amostras de Leite Pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. *Revista Semina: Ciências Agrárias, Londrina,* 2012; 33(2): 791-796.