

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE
MINAS GERAIS - IFSULDEMINAS**

Elaine Cristina Bastos

**DESCARTE DE LEITE CONTAMINADO COM RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO
SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS**

**Machado/MG
2019**

Elaine Cristina Bastos

**DESCARTE DE LEITE CONTAMINADO COM RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO
SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva

**Machado/MG
2019**

B327d

Bastos, Elaine Cristina

Descarte de leite contaminado com resíduos de antibióticos no Sul do estado de Minas Gerais / Elaine Cristina Bastos. -- Machado: [s.n.], 2019.

47 p.

Orientador: Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Campus Machado.

Inclui bibliografia

1. Leite in natura. 2. Resíduos de β -lactâmicos e de tetraciclinas. 3. Teste BetaStar® S Combo. I Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. II.

Título.

CDD: 664

Elaine Cristina Bastos

**DESCARTE DE LEITE CONTAMINADO COM RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO
SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS,
como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do
título de Mestre.

APROVADA em 24 de abril de 2019.

Prof. Dra. Brígida Monteiro Vilas Boas
IFSULDEMINAS – Campus Machado

Dr. Gleydson José P. Vidigal
IFSULDEMINAS – Campus Machado

Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva
IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho

*Dedico ao meu
Esposo Paulo César Alves Ferreira,
E
À minha irmã Camila Bastos
Por me apoiarem em todos os momentos da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por ter me concedido saúde, por me tornar forte, e me iluminar em toda minha trajetória. Por ter concluído essa etapa tão importante em minha vida.

Ao meu amado esposo Paulo César, pela força, carinho, paciência e atenção.

Aos meus filhos Arthur e Lucas. Meus grandes amores.

Aos meus pais Sebastião José Bastos e Dulcinéa Pessoa Bastos pelo bom exemplo, pelo amor, educação, e carinho.

À minha querida irmã, Mestre Camila por várias horas da sua dedicação com a minha dissertação, pelo apoio e incentivo.

Ao meu cunhado Ênio pelo apoio.

Aos meus avós Luzia e João pelo carinho e aconchego.

Ao Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva pela orientação, amizade e contribuição em minha vida profissional.

Aos professores do programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia de Alimentos do IFSULDEMINAS pelos ensinamentos, que com certeza se estenderão por toda vida.

Aos colegas do mestrado, com esses dividimos momentos de alegrias e compartilhamos vários aprendizados.

Aos diretores da CORPLES João Batista de Figueiredo, Luiz Fernando César Siqueira e José Américo Simões por me conceder a liberação do trabalho para estudar no programa de mestrado.

A toda equipe do laboratório de Controle de Qualidade da CORPLES por me auxiliarem com a coleta e análise das amostras;

Ao amigo e colega de trabalho Cleberson que supriu minha ausência na empresa nos dias de estudo;

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

“Aqueles que se sentem satisfeitos sentam-se e nada fazem. Os insatisfeitos são os únicos benfeitores do mundo.”

(Walter S. Landor)

RESUMO

A produção de leite de qualidade deve ser prioridade para estabelecer um mercado forte. A qualidade do leite pode ser afetada devido à presença de resíduos de antibióticos decorrentes do tratamento de forma inadequada de doenças inflamatórias em vacas lactantes. Apesar da existência de diversas pesquisas que comprovam a incidência significativa e frequente de resíduos em amostras de leite existem lacunas ao mostrar o impacto financeiro. O desperdício e os transtornos que a presença de resíduos acarreta no cotidiano das indústrias de beneficiamento. Com base nesses fatores, o objetivo deste trabalho foi demonstrar o volume de leite descartado pelas indústrias de beneficiamento devido à presença de resíduos de antibióticos no leite captado em fazendas produtoras na região Sul de Minas Gerais. Para isso, foram feitas análises no laboratório da Cooperativa Regional de Produtores de Leite de Serrania Ltda utilizando o kit BetaStar® S Combo (Neogen) para detecção dos resíduos das classes β -lactâmicos e tetraciclina. Com os resultados obtidos foi possível demonstrar que houve descarte de leite na indústria pela presença de resíduos de antibióticos da classe β -lactâmicos e tetraciclina, sendo que o maior volume de leite descartado foi devido a presença dos resíduos da classe β -lactâmicos. Também foi possível observar que nas estações da primavera e verão e nos períodos chuvosos houve um maior descarte de leite pela presença de resíduos da classe tetraciclina em relação às estações do outono e inverno. Esses resultados apontam que a má utilização dos antibióticos em vacas lactantes e o não descarte do leite durante o período de carência nas propriedades rurais impactam em um volume maior de leite descartado pela indústria.

Palavras chaves: Resíduos de β -lactâmicos e de tetraciclina, leite *in natura*, teste BetaStar® S Combo.

ABSTRACT

The quality milk production should be a priority to establish of a strong market. The milk's quality can be affected due to antibiotic residues presence arising from improper inflammatory illness treatment in lactating cows. Even though many searches prove the frequently and significant incidence of residues in milk samples, there are gaps to show the financial impact.

Daily, processing industries suffer from the wastage and derangement that residues cause. Based on these factors, this work aimed to demonstrate the bulk of discarded milk made by processing industries due to antibiotic residue presence in milk collected in producing farms at the South Minas Gerais zone. For this, the analysis was made at the Cooperativa Regional de Produtores de Leite de Serrania Ltda laboratory using the BetaStar® S Combo (Neogen) Kit for residue's detection of β -lactams and tetracyclines classes. With the obtained results was possible to demonstrate the discard was done at the industry because of antibiotics residues of β -lactams class. Also was possible to note summer and spring season and in the rainy periods, there was major milk discard because of residues presence of tetracycline-class regarding winter and autumn. These results indicate that the mal utilization of antibiotics in lactating cows and the no milk discard during the Grace period at rural properties impact in a major milk bulk forwent by industry.

Key-words:AntibioticWaste, Milk, BetaStar® Combo Test, Disposal.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	10
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Segurança dos alimentos	12
2.2 A importância do leite bovino	14
2.3 Boas práticas de produção para obtenção de leite de qualidade.....	15
2.4. Mastite.....	16
2.5 Antibioticoterapia em vacas no período da lactação	18
2.5.1 Legislação e Limites Máximos de Resíduos (LMR) de antibióticos no leite.....	24
2.6 Danos causados à saúde do consumidor e às indústrias de laticínios pela presença de resíduos de antibióticos no leite	26
2.7 Métodos de detecção de resíduos de antibióticos no leite.....	27
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
CAPÍTULO 2	34
1 INTRODUÇÃO	34
2 MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 Amostragem	35
2.2 Detecção de resíduos de antibióticos no leite utilizando o kit BetaStar® S Combo.....	36
2.3 Controles analíticos	37
2.4 Processamento dos dados e análise estatística.....	37
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4 CONCLUSÃO	44
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
6 APÊNDICE 1	47

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A produção de leite de qualidade deve ser prioridade para atender as exigências dos consumidores e estabelecer um mercado forte no segmento lácteo, uma vez que as características do leite *in natura* refletem nos seus derivados. A qualidade do leite é consequência da sanidade dos animais e de boas práticas de produção adotadas na propriedade. Os critérios mais importantes para caracterizar o leite de boa qualidade incluem o sabor agradável e característico, alto valor nutritivo, baixa carga microbiana, inexistência de agentes patogênicos e outros contaminantes, como resíduos de antibióticos, carrapaticidas, pesticidas, metais pesados e desinfetantes (SANTOS, 2007).

Um dos fatores que impactam diretamente na qualidade do leite é a presença de resíduos de antibióticos. Esses resíduos podem surgir no leite devido ao tratamento de forma inadequada de doenças inflamatórias nos animais lactantes, como por exemplo, a mastite (SANTOS; FONSECA, 2007). As principais causas da incidência de resíduos de antibióticos no leite são: i) alta dosagem do medicamento; ii) tratamento inadequado das vacas no período de lactação; iii) retenção prolongada do medicamento na glândula mamária em alguns animais e; iv) antecipação do parto (COSTA *et al.*, 2000).

A presença de resíduos de antibióticos no leite acima dos limites máximos previstos pela legislação o torna impróprio para o consumo, sendo prejudicial à saúde, inviabilizando o processo industrial de derivados e causando sérios prejuízos econômicos (BRASIL,2017; BRASIL,1999; BOISON *et al.*, 1994; NERO, 2007). Desse modo, considerando os impactos negativos na qualidade do leite causados pela presença de resíduos de antibióticos acima do Limite Máximo de resíduos - LMR, pesquisadores buscaram formas de identificar e de comprovar a presença de resíduos de antibióticos classificados em diferentes grupos utilizando testes distintos.

Com base nisso, as indústrias de beneficiamento utilizam técnicas como a inibição microbiológica, métodos imunológicos, métodos enzimáticos e cromatografia para identificar e quantificar a presença de resíduos de antibióticos no leite coletado nas fazendas. Caso sejam identificados resíduos acima do LMR, o leite não pode ser utilizado para pasteurização ou produção de derivados, devendo ser devidamente descartado.

O descarte de leite ocasionado pela presença de resíduos de antibióticos gera grandes desperdícios e prejuízos para a indústria. Apesar da existência de diversas pesquisas

que comprovam a incidência significativa e frequente de resíduos em amostras de leite, existem lacunas ao mostrar o impacto financeiro, o desperdício e os transtornos que a presença de resíduos acarreta no cotidiano das indústrias de beneficiamento.

Com base nesses fatores, o objetivo deste trabalho foi demonstrar o volume de leite descartado pelas indústrias de beneficiamento devido à presença de resíduos de antibióticos no leite captado em fazendas produtoras. Para isso, foram feitas análises no laboratório da Cooperativa Regional de Produtores de Leite de Serrania Ltda utilizando amostras do leite coletado na região Sul de Minas Gerais, considerando as classes de antibióticos β -lactâmicos e tetraciclina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Segurança dos alimentos

A lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006, preconiza o direito da população ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade. O alimento de qualidade é aquele isento de resíduos prejudiciais à saúde, sendo livres de contaminantes de natureza química (resíduos de antibióticos, agrotóxicos, metais pesados e outros), de natureza biológica (bactérias, vírus, fungos e outros) e de natureza física (pedra, sujeiras, borracha e outros) (BRASIL, 2006; HOBBS; KERR, 1992).

O aumento da demanda por uma alimentação saudável, composta por alimentos de qualidade, impulsiona cada vez mais a procura por alimentos de origem e composição conhecidas, com menor quantidade de ingredientes químicos e isento de contaminantes. De acordo com pesquisas realizadas pela BRASIL FOOD TREND, a qualidade e confiabilidade dos alimentos são os principais requisitos considerados por aproximadamente 23% dos consumidores no ato da aquisição de um produto (ZACARCHENCO, 2017).

Para atender as necessidades dos consumidores e as leis regulamentadoras, as indústrias precisam produzir alimentos de qualidade, seguros e rastreáveis. Desse modo, a aplicação de alguns programas de qualidade é considerada pré-requisito para a segurança na produção dos alimentos. Esses programas se preocupam com a inocuidade dos alimentos e procuram garantir que sejam adequados e saudáveis para o consumo (ZACARCHENCO, 2017).

As indústrias de laticínios que trabalham sob regime do Serviço de Inspeção Federal (SIF), aplicam programas de qualidade desenvolvidos com procedimentos descritos, implantados, monitorados e verificados pelas indústrias. O objetivo de tais programas é assegurar a inocuidade, a identidade, a qualidade e a integridade dos seus produtos. Os programas de qualidade podem ser descritos e aplicados de acordo as definições do Programa de Auto Controle – PAC, sendo que seus procedimentos são organizados em elementos de inspeção ou de controle. (BRASIL, 2017)

Dentre os programas de qualidade aplicados nos laticínios, destacam-se as Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Os BPFs são um conjunto de normas e procedimentos exigidos na elaboração de produtos alimentícios industrializados

para o consumo humano, visando assegurar que os produtos sejam fabricados com a qualidade exigida e com ênfase na segurança do alimento (BRASIL, 1997).

Os PPHOs são procedimentos descritos, desenvolvidos, implantados e monitorizados, que objetivam estabelecer a forma rotineira pela qual o estabelecimento industrial evitará a contaminação direta ou cruzada e a adulteração do produto. Esses procedimentos possibilitam preservar a qualidade e integridade dos alimentos por meio da higiene antes, durante e depois das operações industriais (BRASIL, 2003).

Por outro lado, o sistema APPCC controla todas etapas de fabricação do alimento, desde a recepção da matéria-prima até o consumo final do produto acabado. Para a implementação desse sistema, é necessário que a empresa possua BPF e PPHO devidamente implantados e em pleno funcionamento. O APPCC fundamenta-se em sete princípios básicos: i) identificação do perigo; ii) identificação do ponto crítico; iii) estabelecimento do limite crítico; iv) monitorização; v) ações corretivas; vi) procedimentos de verificação; e vii) registros de resultados (BRASIL, 1998).

Por meio do APPCC, é possível identificar, avaliar e calcular a probabilidade de ocorrência dos perigos durante o processamento do alimento. A análise de perigos para a determinação dos pontos críticos, assim como seu controle, é fundamental para todo o sistema. Os perigos para a saúde são classificados em biológicos, físicos e químicos (BRASIL, 1998).

Dentre os perigos químicos identificados pelo sistema APPCC, existem os resíduos de antibióticos. Esses resíduos são pontos críticos de controle, pois são considerados de alta severidade por impactar na saúde dos consumidores, podendo levar a morte. Desse modo, o sistema APPCC direciona várias regras para evitar a presença dos resíduos, monitorando criteriosamente esse perigo por meio de análises para detecção de resíduos de antibióticos (BRASIL, 1998).

A aplicação das regras do sistema APPCC são fundamentais nas indústrias de laticínios, visto que os principais procedimentos aplicados, tais como a pasteurização e a esterilização comercial do leite em altas temperaturas (*Ultra High Temperature* – UHT), não eliminam os resíduos de antibióticos. Esses procedimentos são eficazes apenas para combater as bactérias patogênicas do leite (BRITO; DIAS, 1998).

O controle de resíduos de antibióticos no leite cru refrigerado, oriundo das propriedades leiteiras, é fundamental para garantir que o produto não contenha esses resíduos acima dos limites máximos previstos pela legislação. Desse modo, os autocontroles dos laticínios devem controlar na matéria-prima os antibióticos mais utilizados por seus

fornecedores de leite, sendo necessário possuir meios apropriados para identificação desses resíduos (BRASIL, 2009).

2.2 A importância do leite bovino

Dentre as espécies que produzem leite para o consumo humano, os bovinos produzem o leite mais consumido em todo território brasileiro. O consumo de leite bovino é um dos hábitos alimentares mais antigos, sendo adotado por milhões de pessoas. Segundo dados do IBGE, a produção nacional de leite bovino é a quarta maior do mundo. No ano de 2017, a produção leiteira foi de 33,5 bilhões de litros, gerando um faturamento bruto de R\$ 37,1 bilhões com essa produção (IBGE, 2017).

O leite ideal para o consumo é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta e em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas, (BRASIL, 2017). No Brasil, a produção, identidade e qualidade do leite cru refrigerado e pasteurizado, assim como a coleta do leite nas propriedades e o transporte a granel, são regulamentados pela Instrução Normativa Nº 76 e Nº 77 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de 26 de novembro de 2018 (BRASIL, 2018a; BRASIL, 2018b).

O leite de vaca é constituído por 87% de água e 13% de componentes sólidos, sendo os sólidos totais subdivididos em carboidratos (5%), proteínas (3%), lipídios (4%), sais minerais (0,8%) e vitaminas (0,1%) (HAUG *et al.*, 2007). O leite também possui imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento, citocinas, nucleotídeos, peptídeos, poliaminas e enzimas, além de outros peptídeos bioativos que apresentam interessantes efeitos à saúde (PEREIRA, 2014).

Várias proteínas com importantes funções no organismo são encontradas no leite. Podemos citar como exemplos: caseínas (α -caseína, β -caseína e κ -caseína) são responsáveis pelo transporte do cálcio, fósforo, ferro, zinco e cobre no sangue; imunoglobulinas (IgA, IgM, IgE e IgG) atuam na proteção imunológica. As α -lactoglobulina e β -lactoglobulina agem no metabolismo do retinol e dos ácidos graxos, favorecem a absorção intestinal de cálcio e zinco, além de possuírem possíveis efeitos antioxidante, anti-hipertensivo, anticarcinogênico e imunoreguladores; lactoferrina favorece a absorção e transporte de ferro no sangue; lactoperoxidase apresenta importante atividade antimicrobiana; lisozima atua em sinergia com imunoglobulinas e lactoferrina; Glicomacropéptídeos (GMP) possuem efeito antiviral e bifidogênico (SOUZA *et al.*, 2012; MILLS *et al.*, 2011).

Em aproximadamente 200 ml de leite existem, em média, 240 mg cálcio, sendo essa quantidade capaz de atender 30% da ingestão diária recomendada deste mineral (FAO, 2013). Com base nisso, o Guia Alimentar do Ministério da Saúde do Brasil recomenda a ingestão de três porções de 200 mL leite e/ou derivados no dia (BRASIL, 2006). Assim como o leite, os derivados possuem proteínas com alto valor biológico que abrangem a quantidade adequada de todos os aminoácidos essenciais para suprir as necessidades humanas. (FAO, 2013).

Outro elemento presente em quantidades significativas no leite é a riboflavina, uma vitamina que atua como enzima nos processos metabólicos da cadeia respiratória, sendo denominada de vitamina B2. A vitamina A também é encontrada no leite em valores consideráveis e possui importante papel na saúde ocular e na multiplicação celular (PEREIRA, 2014). Um estudo recente realizado por Fu *et al*, 2017 demonstrou que os produtos lácteos integrais contêm a vitamina K2 (menaquinona). Essa vitamina contribui para a coagulação sanguínea normal e para manutenção da saúde cardiovascular e dos ossos.

Considerando suas propriedades, o leite é considerado o alimento mais completo da natureza, consistindo uma das principais fontes de proteína na alimentação de animais e de humanos em diferentes faixas etárias (PEREIRA, 2014).

2.3 Boas práticas de produção para obtenção de leite de qualidade

O uso de matéria prima de qualidade é essencial para obtenção de bons lácteos e demanda a aplicação de boas práticas de produção em fazendas leiteiras. Essas boas práticas visam saúde, bem-estar e alimentação animal, higiene de ordenha, fornecimento suficiente de água e ambiente adequado dentro das fazendas leiteiras. As boas práticas também requerem cuidados na utilização de medicamentos veterinários e defensivos agrícolas. O uso de medicamentos veterinários nas propriedades leiteiras deve ser feito conforme prescrição de um médico veterinário ou seguindo as orientações da bula (SANTOS, 2007).

As boas práticas de produção relacionadas à saúde animal também se baseiam em adotar medidas preventivas para evitar a entrada de doenças na fazenda, como por exemplo, não permitir a entrada de novos animais no rebanho sem controle sanitário prévio. Além disso, ao adquirir novos animais, o comprador deve exigir a comprovação de vacinações, registros de ocorrência de doenças e de tratamentos dos animais (SANTOS, 2007).

O rebanho deve estar livre de doenças infecto contagiosas que possam ser transmitidas ao homem por meio do leite, sendo que as matrizes devem estar clinicamente sãs e em bom estado de nutrição. A propriedade deve manter um controle sistemático de parasitoses, realizando vermifugações, tratamentos carrapaticidas nas épocas adequadas e executando medidas de controle da mastite (BRASIL, 2017; SANTOS; FONSECA, 2007).

Além dos cuidados com os bovinos, também são necessários alguns cuidados no processo de ordenha do leite, tais como: i) higienização dos tetos antes da ordenha (*pré-dipping*) e após (*pós-dipping*); ii) higienização dos utensílios, dos tanques de expansão, das tubulações de leite e da ordenhadeira; iii) resfriamento do leite imediatamente após a ordenha, sendo a temperatura de 4°C para armazenamento em tanques de expansão e 7°C para tanques de imersão. O local da ordenha deve ser mantido limpo, sem acúmulos de esterco e urina (BRASIL, 2017, SANTOS; FONSECA, 2007).

O ordenhador é um dos principais responsáveis por aplicar as boas práticas nas propriedades rurais e possui grande importância na manutenção da qualidade do leite. Esse profissional deve tomar alguns cuidados na rotina de ordenha, necessitando estar com a saúde em dia e comprovada por atestado médico realizado anualmente. Além disso, o ordenhador deve manter as unhas, o cabelo e a barba aparados, lavar bem as mãos e braços antes da ordenha, utilizar botas e avental limpos, não fumar na sala de ordenha e impedir a entrada de outros animais. Em caso de ferimentos nas mãos, é necessário utilizar luvas para ordenhar e, após finalizar a coleta do leite, deve limpar a sala de ordenha (SANTOS; FONSECA, 2007).

2.4. Mastite

Dentre as doenças que acometem as vacas em lactação, a mastite é a mais comum. A mastite é uma inflamação da glândula mamária que causa grandes prejuízos na produção leiteira, afetando a composição do leite com a diminuição da quantidade de gordura, caseína, lactose e cálcio. Além disso, a mastite aumenta a quantidade de íons de sódio e potássio, causando sabor salgado no leite e seus derivados lácteos. A inflamação da glândula mamária tem como indicativo o aumento de células somáticas no leite, que incluem as células originárias da corrente sanguínea como linfócitos, macrófagos e neutrófilos e células de descamação do epitélio da glândula mamária (SANTOS; FONSECA, 2007).

A mastite pode ser classificada como contagiosa ou ambiental, manifestando-se de forma clínica ou subclínica. A forma clínica pode ser visualmente perceptível, apresentando

sinais como edema, aumento de temperatura, endurecimento, dor na glândula mamária, grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite. A mastite clínica pode ser diagnosticada pelo uso da caneca de fundo preto ou telada, onde são visualizadas as alterações macroscópicas do leite. Por outro lado, a mastite subclínica não apresenta alterações visíveis, sendo identificada apenas na composição do leite. Esse tipo de mastite pode ser detectada por testes que avaliam o teor de células somáticas do leite, sendo o *California Mastitis Test* - CMT e Contagem de Células Somáticas - CCS os mais empregados (SANTOS; FONSECA, 2007).

O CMT é um teste prático que utiliza um detergente aniônico neutro que atua rompendo a membrana das células presentes na amostra de leite, liberando material nucleico (DNA) de alta viscosidade. Sendo assim, o resultado do teste é avaliado pelo grau da viscosidade, na qual a maior viscosidade apresenta maior positividade e, na ausência de viscosidade, a reação é considerada negativa (SANTOS; FONSECA, 2007).

A contagem de células somáticas é uma importante ferramenta na avaliação da saúde da glândula mamária e da qualidade do leite. Essa técnica é de citometria de fluxo, na qual utiliza o aparelho com sistema óptico para detecção e contagem das células somáticas do leite. O brometo de etídio adicionado a amostra de leite que, associado ao DNA, cora o núcleo das células somáticas, emitindo pulsos luminosos. Tais pulsos luminosos são convertidos em pulsos elétricos para serem contados e os resultados expressos em mil células somáticas por mililitro de leite (células/mL) (BENTLEY, 1995).

São os vários microrganismos que podem causar a mastite bovina, tais como bactérias, microplasmas, leveduras, fungos e algas. No entanto, a maioria das infecções é causada por bactérias. Em pequena escala, a mastite também pode ser ocasionada por traumas e alterações no organismo do animal do tipo metabólica, alérgica ou tóxica, (TOZZETTI *et al.*, 2008).

As bactérias causadoras da mastite mais frequentemente encontradas são: *Staphylococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasmaspp.*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus uberis*, *Enterococcus* spp., *Escheria coli* (SANTOS E FONSECA, 2007). Estudos realizados na Finlândia demonstraram que os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Non-aureus staphylococci* (NAS) foram os mais identificados nos casos de mastite, sendo o *Staphylococcus aureus*, o microrganismo que mais causou perdas na produção de leite (HEIKKILA, 2018)

Lange *et al.* 2016 analisou 73 rebanhos bovinos leiteiros, localizados na região Oeste do estado do Paraná, onde verificou que *Staphylococcus* coagulase negativo foi o agente que mais prevalente nos isolamentos microbiológicos das amostras de leite com mastite subclínica. Além disso, ressaltou que fatores como tipo de ordenha, secagem dos tetos antes da ordenha, tratamento para casos de mastite clínica, higiene das mãos do ordenhador e treinamento dos ordenhadores podem contribuir para casos de mastite subclínica.

De acordo com Fonseca e Santos (2007), a mastite é a doença que mais causa prejuízos à indústria leiteira, sendo a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros no mundo e a que mais gera perdas econômicas, variando entre 10% e 30% na produção leiteira por lactação. Dentre os diversos prejuízos, estão a redução da produção de leite, os custos com tratamento, a morte prematura de alguns animais e descarte de leite em função do tratamento.

MESQUITA *et al.* (2018) demonstraram o impacto econômico da mastite bovina sobre a produção na bacia leiteira da região de Campos das Vertentes, Minas Gerais. Por meio dos escores de células somáticas no leite do tanque, foi constatado que os produtores têm uma perda média de 6,27% de sua produção diária de leite, o que resulta em um impacto econômico negativo anual elevado.

A sazonalidade interfere diretamente na ocorrência da mastite, sendo que a contagem de células somáticas normalmente é baixa durante o período de inverno e mais alta no verão. No período chuvoso (verão e primavera), é comum o aumento da mastite em vacas leiteiras, visto que o clima úmido e quente favorece a proliferação de bactérias patogênicas. Além disso, o contato dos tetos das vacas com essas bactérias no período de lactação pode facilitar a ocorrência da mastite. Isso ocorre por causa da baixa imunidade dos animais gerada pelo estresse térmico (RIEKERINK *et al.*, 2007; SANTOS E FONSECA, 2007; GREEN, *et.al*, 2006; GONZALEZ, *et. al*, 2004).

2.5 Antibioticoterapia em vacas no período da lactação

Os antibióticos são compostos naturais ou sintéticos que agem inibindo (bacteriostático) ou destruindo (bactericida) o crescimento dos fungos e bactérias. Em bovinos, os antibióticos são utilizados para o tratamento de mastites, pneumonias, diarreias, artrite, problemas de casco, problemas no trato urinário e reprodutivo, assim como preventivo de infecções nas fases pré e pós-operatórias (SANTOS, 2013).

A utilização inadequada de antibióticos em vacas durante a lactação, sem respeitar o tempo de carência do fármaco, acarreta em resíduos acima dos valores estabelecidos pela legislação no leite. Na antibioticoterapia, o período de carência é o prazo necessário para a eliminação do antibiótico no leite a níveis seguros, sendo contabilizado a partir da última aplicação do medicamento. Durante esse período, é necessário que o leite do animal em tratamento seja devidamente descartado por estar impróprio para o consumo humano (BRASIL, 2017; SANTOS, 2013).

Dentre as enfermidades que atingem os bovinos, a mastite é a mais frequente e a que mais requer a utilização de antibióticos em vacas leiteiras, tanto no período de lactação quanto no período seco. Desse modo, o tratamento da mastite pode ser considerado como a principal causa da ocorrência de resíduos de antibióticos no leite. (TALBOT, 2013; SILVA *et al.* 2013).

Isso ocorre pelo frequente desrespeito ao período de carência e pelos procedimentos inadequados realizados durante tratamento, tais como: i-) erro na identificação dos animais tratados ou na anotação dos dados do tratamento; ii-) administração de antibióticos em dosagens superiores a do tratamento; iii-) descarte de leite apenas do quarto que possuem vacas em tratamento; iv-) uso de produtos de vacas secas para tratamento de vacas em lactação; v-) ordenha acidental de vacas secas, as quais receberam tratamento com antibióticos; vi-) antecipação de parto em vacas que tiveram tratamentos por antibióticos no período seco; vii-) erro durante a ordenha, misturando leite com e sem resíduos (SANTOS, 2013):

A via pela qual o antibiótico é administrado no tratamento da mastite implica diretamente na quantidade de resíduos presentes no leite. A antibioticoterapia local na glândula mamária resulta em grande quantidade de resíduos. Isso ocorre devido a carga de princípio ativo ser mais elevada em relação ao uso sistêmico. No entanto, a administração sistêmica também pode deixar resíduos pelo fato da glândula mamária ser extremamente vascularizada (SANTOS, 2013).

Os antibióticos frequentemente utilizados em vacas leiteiras para o tratamento da mastite são classificados nos seguintes grupos β -lactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos, quinolonas, macrolídeos, lincosamidas, sulfonamidas e polimixinas (SPNOSA, 2011).

Os antibióticos da classe dos β -lactâmicos (Figura 1) impedem a formação da parede celular das bactérias, compreendendo as penicilinas e cefalosporinas. A estrutura das penicilinas deriva do ácido 6-amino-penicilinâmico. Já das cefalosporinas deriva do ácido 7-

amino-cefalosporinâmico. São exemplos dessa classe a ampicilina, amoxicilina, cloxacilina, cefalotina, cefoperazona, ceftiofur, penicilina G, entre outros.

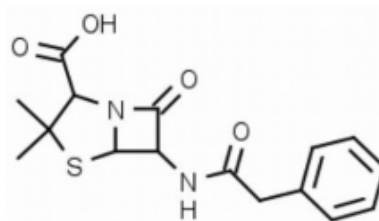


Figura 1. Estrutura química β -lactâmicos: Penicilina G (SPNOSA, 2011).

As tetraciclinas (Figura 2) possuem 4 anéis e agem inibindo a síntese protéica pela ligação à subunidade 30S dos ribossomos, não permitindo que o RNA transportador se ligue a essa subunidade. São exemplos dessa classe Clortetraciclina, Doxiciclina, Tetraciclina e Oxitetraciclina (SPNOSA et.al, 2011; ARAÚJO, 2010).

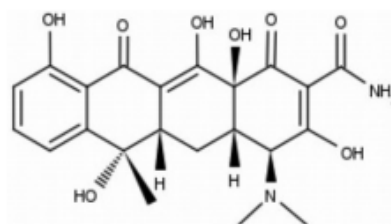


Figura 2. Estrutura química: Tetraciclina (SPNOSA, 2011).

A classe dos aminoglicosídeos (Figura 3) possui um núcleo de hexose ligado à amino-açúcares por ligações glicosídicas. São bactericidas que agem na interferência da síntese protéica bacteriana, formando proteínas defeituosas e, conseqüentemente, levando a morte celular. Os aminoglicosídeos são utilizados para o tratamento de infecções graves. São exemplos dessa classe estreptomicina, neomicina, gentamicina entre outros (SPNOSA et.al, 2011; ARAÚJO, 2010).

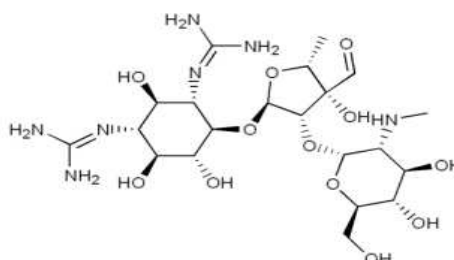


Figura 3. Estrutura química Aminoglicosídeos: Estreptomicina (SPNOSA, 2011).

As quinolonas (Figura 4) são derivadas do ácido nalidixico e são inibidores da enzima DNA topoisomerase II (girase de DNA), atuando no impedimento do enrolamento da hélice de DNA. A introdução de quinolona fluorada caracteriza um progresso terapêutico, já que essas drogas são dotadas de um amplo espectro de ação. São exemplos dessa classe ciprofloxacina, enrofloxacin, corfloxacina, danofloxacina, entre outros (SPNOSA *et.al*, 2011; ARAÚJO, 2010).

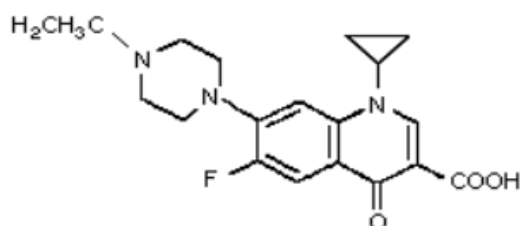


Figura 4. Estrutura química quinolonas: enrofloxacin (SPNOSA, 2011).

Os macrolídeos (Figura 5) são compostos bacteriostáticos que agem impossibilitando a síntese protéica bacteriana, atuando na translocação do RNAt na subunidade 50S do ribossomo. A eritromicina é um exemplo desse grupo (SPNOSA *et.al*, 2011; ARAÚJO, 2010).

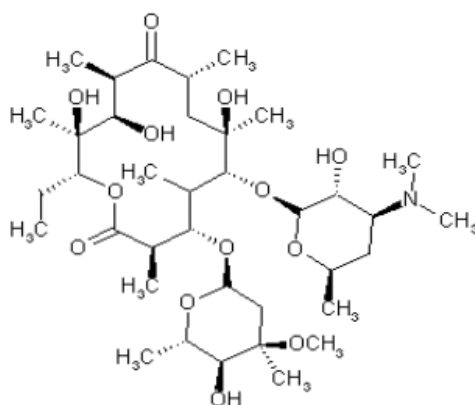


Figura 5. Estrutura química macrolídeos. : eritromicina (SPNOSA, 2011).

As lincosamidas (Figura 6) possuem monoglicosídeos ligados a um aminoácido. Agem inibindo a síntese protéica pela ligação à subunidade 50S dos ribossomos. A lincomicina é o exemplo dessa classe (SPNOSA *et al.*, 2011; ARAÚJO, 2010).

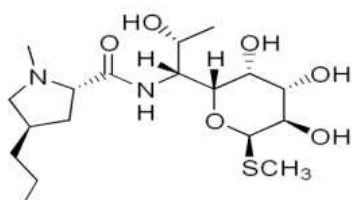


Figura 6. Estrutura química lincosamidas: lincomisina (SPNOSA, 2011).

As sulfonamidas (Figura 7) são medicamentos de baixo custo, utilizados no tratamento de infecções bacterianas com amplo espectro de atuação. Competem com o ácido para-aminobenzóico (PABA), impedindo sua utilização na síntese do ácido fólico pelas bactérias. São exemplos dessa classe sulfadimetoxina, sulfapiridina, sulfametoxazol, trimetoprim entre outros (SPNOSA *et.al*, 2011; ARAÚJO, 2010).

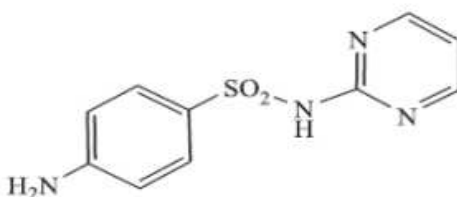


Figura 7. Estrutura química sulfonamidas: sulfadiazina (SPNOSA,2011).

Os antibióticos da classe das polimixinas (Figura 8) tem em comum a estrutura de um polipeptídico. Atuam alterando a permeabilidade da membrana da célula bacteriana e, conseqüentemente, levando a bactéria à morte. A colistina é o exemplo dessa classe.

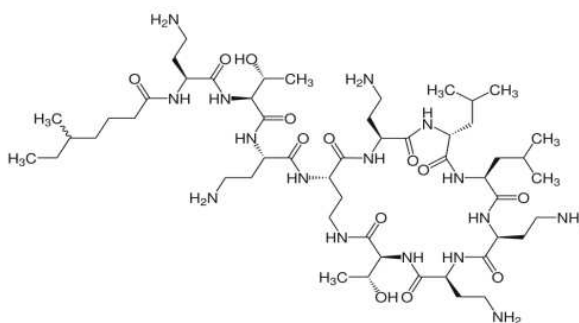


Figura 8. Estrutura química polimixinas: colistina (SPNOSA, 2011).

Os resíduos de antibióticos dessas classes aparecem no leite predominantemente por descuidos na administração de antibióticos em vacas leiteiras, em comparação a adulteração. Supostamente a adulteração do leite por resíduos de antibióticos tem por finalidade a sua conservação, (PEREIRA; SCUSSEL, 2017). Para o tratamento da mastite, os grupos das tetraciclina e dos betalactâmicos são os mais utilizados (MACEDO; CORTINHAS; SANTOS, 2013).

Um estudo realizado por Souza *et al.*, (2017) teve como objetivo detectar resíduos dos grupos β -lactâmicos, tetraciclina, sulfonamidas, macrolídeos e aminoglicosídeos no leite bovino cru produzido no Rio Grande do Norte. Nesse estudo, foi utilizado o teste ECLIPSE 50®, onde foi constatada a presença de resíduos em 6,72% das amostras. Esses resultados foram expostos às autoridades sanitárias e laticínios para que medidas fossem tomadas a fim de reduzir esse percentual.

Outro estudo também realizado por Sousa *et al.*(2010) utilizando o teste ECLIPSE 50®, demonstrou a incidência de resíduos de antibióticos em 76,67% das amostras analisadas no leite pasteurizado comercializado no Ceará. A finalidade deste estudo foi comprovar a existência de resíduos nos produtos comercializados e enfatizar a necessidade da implementação de um programa eficiente de monitoramento de resíduos de antibiótico no leite.

O objetivo do estudo realizado por Nero *et al.* (2007) foi identificar a incidência de resíduos das classes β -lactâmicos e sulfonamidas, além dos antibióticos gentamicina e tilosina. Foram coletadas e analisadas amostras de leite cru oriundas da região de Viçosa-MG, Pelotas-RS, Londrina-PR e Botucatu-SP. Como resultado, identificaram resíduos em 11,43% das amostras analisadas decorrente da má utilização de antibióticos em animais durante a lactação, indicando a não obediência ao período de carência dos antibióticos.

Costa, *et al.* (2017) analisou o leite cru dos tanques de refrigeração dos produtores situados na região do município de Marília – SP, considerando as classes de antibióticos β -lactâmicos e tetraciclina. Nessa análise, foi possível constatar a positividade de 12,7% para os antibióticos da classe dos β -lactâmicos. Os resultados obtidos revelaram a importância da adoção eficiente de políticas de segurança dos alimentos na região em relação ao controle de resíduos de antibióticos no leite.

O leite produzido e comercializado na microrregião de Capanema-PR foi analisado por meio dos testes comerciais SNAPduo™ Beta-Tetra ST (para a detecção de grupos antibióticos β -lactâmicos e tetraciclina) e Charm ROSA Test (para detecção dos grupos quinolonas e sulfonamidas). Foi constatada a positividade em 17% das amostras para os

resíduos das classes β -lactâmicos ou tetraciclinas acima do limite de segurança estabelecido pela legislação, demonstrando deficiências no monitoramento desses resíduos químicos (SCHLEMPER; SACHET, 2017).

Amostras de leite pasteurizado foram coletadas pela Vigilância Sanitária Municipal nos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo. Essas amostras foram analisadas pelos testes SNAP BL®, SNAP TET® e RIDASCREEN® visando detectar antibióticos das classes β -lactâmicos e tetraciclinas, além dos antibióticos estreptomicina e diidroestreptomicina. A análise indicou a presença de resíduos no leite pasteurizado, sendo que 44% das amostras estavam contaminadas por resíduos de tetraciclinas, 3,5% das amostras por β -lactâmicos e 7% das amostras por estreptomicina e diidroestreptomicina. Com isso, foi possível concluir que é extremamente necessária a implementação de um programa de monitoramento para resíduos de antibióticos nessas regiões. (MORAIS *et al.*, 2009).

2.5.1 Legislação e Limites Máximos de Resíduos (LMR) de antibióticos no leite

O LMR é um limite de segurança que estabelece a concentração máxima de resíduos presentes em um determinado alimento, sendo ocasionado pela má utilização de medicamentos veterinários, podendo ser expresso em mg/kg ou μ g/kg (BRASIL, 1999). A determinação do LMR é realizada em instituições científicas a partir de estudos toxicológicos realizados em animais de laboratórios, microrganismos e genomas celulares. Depois de estabelecidos, os LMRs são recomendados pelos países membros do *Codex Alimentarius* - Programa das Nações Unidas Sobre Harmonização de Normas Alimentares (BRASIL, 1999).

No Brasil, a segurança química do leite é controlada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC/Animal) do MAPA estabelece um cronograma anual para análise de resíduos antimicrobianos no leite fluido proveniente de estabelecimentos sob o serviço de Inspeção Federal. Além disso, a Instrução Normativa nº 76 de 2018 do MAPA incentiva a pesquisa de resíduos de antibióticos, recomendando pelo menos uma análise mensal desses resíduos em laboratório da Rede Brasileira de Laboratórios para Controle da Qualidade do Leite (BRASIL, 2018; BRASIL, 2017; BRASIL, 1999).

O Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVET) da ANVISA complementa o PNCRC/Animal, analisando leite em pó e leite integral fluido ultrapasteurizado (UHT). No Brasil, é seguido o LMR de antibióticos no leite recomendados pelo Mercosul, *Codex Alimentarius*, União Européia e Estados Unidos. (PAMVET, 2009.) Na Tabela 1, são apresentados os valores de LMR adotados por esses programas (BRASIL, 1999).

Tabela 1. Valores de LMR no leite estabelecidos pelo PNCRC/Animal e PAMVET.

Grupo/ Antibióticos	LMR (µg/L)	Grupo/ Antibióticos	LMR (µg/L)
Beta-lactâmicos		Macrolídeos	
Ceftiofur	100	Eritromicina	40
Cefapirina	60	Aminoglicosídeo	
Cefazolina	50	Diidroestreptomicina/ Estreptomicina	200
Cefaperazona	50	Anfenicóis	
Cloxacilina -	30	Cloranfenicol	0,3
Dicloxacilina	30	Tianfenicol	50
Neomicina	500	Sulfonamidas	
Ampicilina	4	Sulfatiazol	100
Amoxicilina	4	Sulfametazina	100
Oxacilina	30	Sulfadimetoxina	100
Penicilina G	4	Sulfaclorpiridazina	100
Penicilina V	4	Sulfadiazina	100
Tetraciclinas		Sulfadoxina	100
Tetraciclina	100	Sulfamerazina	100
Oxitetraciclina	100		
Clortetraciclina	100		
Doxiciclina	100		

Fonte: Adaptado de BRASIL (1999).

A presença de resíduos de antibióticos no leite em valores acima do LMR, proveniente do tratamento de vacas no período da lactação, é impróprio para o consumo, devendo ser devidamente descartado (BRASIL, 2017; SANTOS, 2013).

2.6 Danos causados à saúde do consumidor e às indústrias de laticínios pela presença de resíduos de antibióticos no leite

A exposição humana aos resíduos de antibióticos pode causar diversos efeitos indesejáveis. Os riscos para a saúde incluem os toxicológicos/farmacológicos, microbiológicos e imunopatológicos. Os resíduos de antibióticos podem provocar o desenvolvimento de microrganismos resistentes, já que facilitam o risco de indução à resistência bacteriana e, posteriormente, a transferência de multirresistência entre os microrganismos por meio dos plasmídeos. Desta maneira, a ação terapêutica dos antibióticos em indivíduos que consumiram alimentos com resíduos é prejudicada. Nesse sentido, tanto as drogas consideradas clássicas no arsenal terapêutico, como as mais modernas podem se tornar ineficientes na antibioticoterapia (CODEX, 1993; HEESCHER; SUHREN, 1993).

O consumo de leite com resíduos de antibióticos pode levar os consumidores a apresentarem reações alérgicas, podendo até propagar a choque anafilático em indivíduos mais sensíveis. Já foram constatados casos de reações asmática, digestiva e cutânea em indivíduos que consumiram leite contaminado com pequenas quantidades de resíduos de penicilina. (COSTA, 1996; DAYAN, 1993; LEDERER, 1991).

Outro risco eminente é o consumo de leite com resíduos de antibióticos por gestantes, tendo em vista que alguns desses resíduos possuem potencial teratogênico. Como exemplo, temos o metronidazol, rifampicina, trimetropim, estreptomicina e tetraciclina que podem causar toxicidade nos ouvidos, além de alterações no desenvolvimento ósseo fetal. (PEZZA, 2006; COSTA, 1996). Além disso, os resíduos de antibióticos presentes no leite consumido por crianças com idade inferior a um ano podem causar desequilíbrio na flora intestinal, uma vez que os intestinos dessas crianças se encontram em formação (COSTA, 1996).

Além de todos os problemas ocasionados à saúde dos consumidores, os resíduos de antibióticos também podem gerar diversas complicações tecnológicas para a indústria. Os resíduos atuam inibindo os fermentos lácteos utilizados na fabricação de queijos, iogurtes e demais produtos fermentados, contribuindo para a formação de odores desagradáveis na manteiga e no creme de leite (GIGANTE, 2004). Nos queijos, provoca a má dessoragem da coalhada, fermentação indesejada com produção de gás e maturação prejudicada, além de sabor anormal e textura alterada. Na manteiga, inibem a fermentação láctea parcial ou total, induzindo menor produção de diacetil responsável pelo aroma característico do produto (FAGUNDES 2003)

2.7 Métodos de detecção de resíduos de antibióticos no leite

A detecção de resíduos de antibióticos no leite pode ser realizada por métodos qualitativos, quantitativos ou semi-quantitativos. Pela praticidade e baixo custo, as indústrias de laticínios utilizam, na maioria das vezes, os testes qualitativos para detecção desses resíduos no leite. Embora os resultados das análises serem expressos em negativo ou positivo, os testes apresentam uma boa precisão. Os testes mais comuns disponíveis no mercado para essa finalidade são baseados em diferentes técnicas, podendo ser por inibição do crescimento bacteriano, ligação ao receptor, ELISA, enzimático e aglutinação em látex (SANTOS, FONSECA, 2007)

O teste que utiliza a inibição do crescimento bacteriano tem como princípio a incubação da amostra do leite juntamente com um microrganismo conhecido, geralmente *Bacillus stearothermophilus*, em meio ágar de cor púrpura com temperatura controlada. Caso os esporos microbianos germinem, ocorrerá a acidificação do meio ocasionando a diminuição do pH, sendo verificado pela mudança da cor púrpura para amarelo. Caso estejam presentes resíduos químicos na amostra do leite, como resíduos de antibióticos em quantidade capaz de inibir o crescimento dos esporos microbianos, não ocorrerá alteração no pH e nem na coloração do meio (ZOETIS, 2019).

Delvotest-P, Delvotest-SP, Cowside e Eclipse 50 são alguns exemplos de testes que utilizam a inibição do crescimento microbiano. Esses testes considerados lentos por gastarem, em média, 3 horas para serem executados. Embora os testes de inibição apresentem um tempo demorado para a execução, são comumente utilizados devido ao baixo custo e o fácil manuseio (ZOETIS, 2019; SANTOS, FONSECA, 2007).

O teste Elisa (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) é um teste imunoenzimático baseado na reação entre antígeno e um anticorpo, sendo um conhecido e outro proveniente da amostra a ser analisada, sendo unidos para reagir e formar imunocomplexos. A detecção da reação é conduzida pela adição de um reagente denominado enzima conjugada, quando o conjugado reage com o imunocomplexo forma-se um produto colorido (MITCHELL *et. al.*, 1998).

A detecção de resíduos de antibióticos pela metodologia enzimática consiste na captura do antibiótico por uma proteína ligante em uma matriz, com suporte sólido absorvente localizado em uma unidade plástica moldada. A presença de antibióticos na amostra resulta no desenvolvimento de uma marca colorida, sendo comparado a uma marca

controle. A comparação entre as cores da marca controle e o teste pode ser realizada visualmente ou por refratômetro (ZOETIS, 2019).

O teste de ligação ao receptor utiliza a tecnologia de fluxo lateral. Os receptores possuem afinidade para determinados resíduos de antibióticos, sendo ligados covalentemente a partículas de ouro visíveis. Ao adicionar a amostra do leite no teste, é formado o complexo (leite + receptor), sendo escorrido pela membrana lateral do teste. Na presença de resíduos de antibióticos na amostra, o complexo (leite + receptor) é ligado ao receptor, onde sobra menos complexos livres, formando assim uma linha teste como coloração de menor intensidade ou ausência de linha teste quando comparado a linha controle (NEOGEN, 2017).

Na ausência de resíduos de antibióticos na amostra, não há interação do receptor com os resíduos. Desse modo, é formada uma linha com coloração mais intensa quando comparada a linha do controle. Os kits BetaStar® S Combo e Charm® MRL BLTET2 são exemplos de testes que utilizam o princípio do fluxo lateral (NEOGEN, 2017).

As análises por métodos cromatográficos também são utilizadas para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite. No entanto, são métodos mais complexos e de alto custo, não sendo empregados na rotina dos laboratórios das indústrias de laticínios. As técnicas cromatográficas de análise estão entre as principais técnicas de separação. Por essa metodologia é possível detectar antibióticos das classes β -lactâmicos, tetraciclina, quinolonas e sulfonamidas em quantidades extremamente baixas, muito abaixo dos limites máximo de resíduos estabelecidos pela UE e LMR do Codex (HONKANEN;REYBROECK, 1997).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M.M.P. **Validação de métodos imunoenzimáticos para determinação de resíduos de antimicrobianos no leite.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Belo Horizonte: UFMG. 46p. 2010.

BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 300: operator's manual.** Chaska, 1995b.12 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 76, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A.** Brasília, 2018. (a)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 77, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial.** Brasília, 2018. (b)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA).** Artigo 542. Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Ofício Circular Nº 07 DILEI/CGI/DIPOA. Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole⁸⁶ em estabelecimentos processadores de leite e derivados, mel e produtos apícolas.** Brasília, 2009.

BRASIL. **LEI Nº 11.346, DE 15 DE SETEMBRO DE 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências Artigo 3.** Brasília, 2006

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Resolução Nº 10, DE 22 DE MAIO DE 2003. Institui o Programa Genérico de PROCEDIMENTOS PADRÃO DE HIGIENE OPERACIONAL - PPHO, a ser utilizado nos estabelecimentos de Leite e Derivados que funcionam sob o regime de Inspeção Federal, como etapa preliminar e essencial dos Programas de Segurança Alimentar do tipo APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle).** Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Portaria n. 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle: APPCC a ser implantado nas indústrias de produtos de origem animal.** Brasília, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. **Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos.** Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa SDA/MAA 42/1999. Altera o Plano Nacional do Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel - PCRM, Leite - PCRL e Pescado - PCRP.** Brasília, 1999.

BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **Qualidade do leite.** Juiz de Fora: Embrapa – CNPGL. Tortuga, 1998. 98 p.

CODEX ALIMENTARIUS –FAO/WHO Food Standards. **Codex Guidelines for the Establishment of Regulatory Programme for Control of Veterinary Drug Residues in Foods.** CAC/GL 16, 1993.

COSTA, A.B.L; SOUZA, J.B; DIAS, L.S.B; SILVA, L.P.; SPRESSÃO, R.L.; PAULA, R.A.; MAIOLINO, S.R.; NICOLAU, W.M.C. **Avaliação de resíduos de antibióticos em leite cru produzido na região de Marília - São Paulo.** UNIMAR CIÊNCIAS-ISSN 1415-1642, Marília/SP, V. 26, (1-2), pp. 114-123, 2017.

COSTA, E.O. **Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. Higiene Alimentar.** São Paulo, v.10, n.44, p.15-17, 1996.

DAYAN, A.D. **Allergy to antimicrobial residues in food-assessment of the risk to man.** Veterinary Microbiology, Amsterdam, v.35, n.3-4, p.213-226, 1993.

FAGUNDES H. **Ocorrência de resíduos de antimicrobianos utilizados no tratamento de interrupção de lactação no início da lactação subsequente em animais com período seco recomendado.** Dissertação (Mestrado em Qualidade Produtiva Animal). Pirassununga: USP. 76p. 2003

FAO. Food and Agriculture Organization. **Milk and dairy products in human nutrition.** Rome; 2013.

FU, X.; HARSHMAN S.; SHEN, X.; HAYTOWITZ, D.; KARL, J. **Multiple Vitamin K Forms Exist in Dairy Foods.** Curr Develop Nutr. 12017; : 638 p

GIGANTE, M. L. **Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos.** In: DÜRR, J. W. *et al.* (Org.) O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo – RS. Universidade de Passo Fundo, 2004. p. 235-254.

GONZALEZ, H.L.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; GOMES, J.F.; STUMPF JR., W.; SILVA, M.A. **Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS.** Efeito dos Meses do Ano. R. Bras. Zootec., v.33, n.6, p.1531-1543, 2004.

GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J.; NEWTON, H.; BROWNE, W. J. **Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds: investigations of the Summer rise.** Preventive Veterinary Medicine, v.74, p.308, 2006.

HAUG, A; HOSTMARK, A.T.; HARSTAD, O.M. **Bovine milk in human nutrition: a review.** *Lipids Health Dis.* 2007; 6: 1–16.

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.** *KielerMilchWirts, Kiel*, v.45, n.1 p.43-60, 1993.

HEIKKILA, A.M.; LISKI, E.; PYÖRÄLÄ, S. **Taponen. Pathogen-specific production losses in bovine mastitis.** Department of Production Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine. University of Helsinki, *Journal of Dairy Science* Vol. 101 n. 10. Finlandia, 2018.

HOBBS, J. E.; KERR, W. A. 1992. **“Costs of Monitoring Food Safety and Vertical Coordination in Agribusiness: What Can Be Learned from the British Food Safety Act, 1990.”** *Agribusiness, An International Journal.* 575-584.

HONKANEN, B. T.; REYBROECK, W. **Antimicrobials.** In: **BLUTHGEN, A.; TUINSTR, L.G.M. (Ed.). Monograph on residues and contaminants in milk and milk products.** Brussels: International Dairy Federation. Cap. 4, p.26-34. 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal.** 2017

LANGE, M.J.; ZAMBOM, M.A.; RAMOS, C.E.C.O.; CASTAGNARA, D.D.; BÁNKUTI, F.I.; NEUMANN, M.E.; BRITO, M.M.; TININI, R.C.R. **Typology of dairy production systems based on the characteristics of management in the Region of West Paraná.** *Semina, Ciênc. Agrárias* 37(1):473-482. 2016.

LEDERER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar: intoxicações alimentares.** São Paulo : Manole, 1991. p.205-215.

MACEDO, S. N.; CORTINHAS, C. S.; SANTOS, M. V. **Cultura microbiológica do leite na fazenda: uma nova ferramenta para o diagnóstico da mastite.** *Revista Leite Integral*, n. 50, p.6-12 maio 2013.

MESQUITA, A.A.; BORGES, J.; PINTO, S.M.; LUGLI, F.F.; CASTRO, A.C.O.; OLIVEIRA, M.R.; COSTA, G. M. **Contagem bacteriana total e contagem de células somáticas como indicadores de perdas de produção de leite.** *Pubvet Medicina Veterinária e Zootecnia* v.12, n.6, a119, p.1-9, Jun., 2018.

MILLS, S.; ROSS, R.P.; HILL, C.; FITZGERALD, G.F. **Stanton C. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health.** *IntDairy J.* 2011; 21:377-401.

MITCHELL, J.M.; GRIFFITHS, M.W.; EWEN, S.A.; NAB, W.B.; YEE, A.J. **Antimicrobial drug residues in Milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and tests performance.** *Journal of Food Protection* 61: 742-756. 1998

MORAIS, C.M.Q.J; DURÃES, T.S; NOBREGA, A.W; JACOB, S.C. **Presença de resíduos de antibióticos em leite bovino pasteurizado.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.30. Campinas. Dez. 2009.

NEOGEN. **Informações técnicas do produto BetaStar® S Combo.** Neogen Corporation, 2017.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; FRANCO, B.D.G. **Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 391-393, abr.-jun. 2007.

PEREIRA, M.N.; SCUSSEL, V. M. **Resíduos de antimicrobianos em leite bovino: fonte de contaminação, impactos e controle.** Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v.16, n.2, p.170-182, 2017.

PEREIRA, P.C. **Milk nutritional composition and its role in human health.** Nutrition. 2014; 30(6):619-27.

PEZZA L et. al. 2006. **Determinação simultânea de resíduos de cloranfenicol, tianfenicol e florfenicol em leite bovino por cromatografia eletrocínética micelar.** Química Nova 29: 926-931

RIEKERINK, R. G. M.; BARKEMA, H. W.; STRYHN, H. **The effect of season on somatic cell count and the influence of clinical mastitis.** American Dairy Science Association, n.4, v.90, p.1704-1715, 2007.

SANTOS, M. V. **Boas práticas de produção associadas à higiene de ordenha e qualidade do leite.** AgripointLtda . Piracicaba, SP : 2007, v.1, p. 135-154.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite.** Barueri: Manole, 1. ed. p. 314, 2007.

SANTOS, M.V. **Mastite bovina e o uso de antibióticos. Tratamento da doença é apontado como a principal causa de ocorrência de resíduos no leite.** Rev. Mundo do leite. Jun-Jul. 2013. 18-20 p

SCHLEMPER, V.; SACHET, A.P. **Resíduos de antibióticos no leite pasteurizado e não pasteurizado comercializados no sudoeste do Paraná.** Brasil. Cienc. Rural vol.47 no.12 Santa Maria Dec. 2017 Epub Nov 17, 2017.

SILVA DP *et al.* 2013. **Resíduos de antibiótico em leite: prevalência, danos à saúde e prejuízos na indústria de laticínios.** Evidência 13: 127-152. 2013

SOUZA G.T.; LIRA, F.S.; OLIVEIRA, R.J.C; OYAMA L.M.; SANTOS R.V.; PIMENTEL G.D. **Dietary whey protein less ensseveral risks factors for metabolic diseases: a review.** Lipids Health Dis. 2012;11-67.

SOUZA, F.C.; OLIVEIRA, E.N.A; SANTOS, D.C; SILVA, E. F. M. **Ocorrência de resíduos de antibióticos em leites pasteurizados comercializados no estado do Ceará - BRASIL.** Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.5, n.4, p.10-14. out-dez. 2010.

SOUZA, L.B; PINHEIRO, C G.M. E.; NETO, S. G.; SILVA, J.B.A. **Resíduos de antimicrobianos em leite bovino cru no estado do Rio Grande do Norte.** Ciência Animal Brasileira, 18. 2017.

SPINOSA, H.S.; GORNIAK, S.L; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária. Agentes Antimicrobianos.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2011.738p.

TALBOT, G. H. (2013). **Beta-Lactam antimicrobials: what have you done for me lately?** Annals of the New York. Academy of Sciences, 1277, pp. 76-83.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R.; PICCININ, A. **Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas: revisão de literatura.** Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, 6,. 2008.

ZACARCHENCO, P.B.; VAN DENDER, A.G.F; REGO, R.A. **Brasil Dairy Trends 2020.** Capítulo 3: As macrotendências do setor de produtos lácteos. Capítulo 9: Sustentabilidade e Naturalidade. 1 ed. Campinas: ITAL, 2017. 99 -241.

ZOETIS. Indústria de Produtos Veterinários Ltda. **Resíduo de produtos antimicrobianos: Descarte zero x Resíduo zero.** Boletim técnico. Disponível <https://www.zoetis.com.br/search-results.aspx?q=boletim>. Acesso em 28-mar-2019.

CAPÍTULO 2

1 INTRODUÇÃO

A presença de resíduos de antibióticos impacta diretamente na qualidade do leite. Esses resíduos podem surgir no leite devido ao tratamento de forma inadequada de doenças inflamatórias nos animais lactantes, principalmente a mastite (SANTOS; FONSECA, 2007). A legislação brasileira considera que a presença de resíduos de antibióticos no leite acima do Limite Máximo de Resíduos (LMR) o torna impróprio para o consumo, sendo prejudicial à saúde, inviabilizando o processo industrial de derivados e causando sérios prejuízos econômicos (BRASIL,1999; BRASIL,2017; BOISON *et al.*, 1994; NERO, 2007).

O controle de resíduos de antibióticos no leite cru refrigerado, oriundo das propriedades leiteiras, é fundamental para garantir que o produto não contenha esses resíduos acima dos limites máximos previstos pela legislação. Desse modo, os laticínios devem controlar na matéria-prima os antibióticos mais utilizados por seus fornecedores de leite, sendo necessário possuir meios apropriados para identificação desses resíduos (BRASIL, 2009).

As indústrias de beneficiamento utilizam técnicas como a inibição microbiológica, métodos imunológicos, métodos enzimáticos e cromatografia para identificar e quantificar a presença de resíduos de antibióticos no leite coletado nas fazendas. Caso sejam identificados resíduos acima do LMR, o leite não pode ser utilizado para pasteurização ou produção de derivados, devendo ser devidamente descartado (BRASIL, 2017; SANTOS, FONSECA, 2007).

O descarte de leite ocasionado pela presença de resíduos de antibióticos gera grandes desperdícios e prejuízos para a indústria. Com base nesses fatores, o objetivo deste trabalho foi demonstrar o volume de leite descartado pelas indústrias de beneficiamento devido à presença de resíduos de antibióticos no leite captado em fazendas produtoras. Para isso, foram feitas análises no laboratório da Cooperativa Regional de Produtores de Leite de Serrania Ltda utilizando amostras do leite coletado na região Sul de Minas Gerais, considerando as classes de antibióticos β -lactâmicos e tetraciclínas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

A coleta das amostras do leite *in natura* foi realizada na área industrial da Cooperativa Regional de Produtores de Leite de Serrania, em Minas Gerais, no ano de 2016 janeiro de 2015 a dezembro de 2018. As amostras foram coletadas em cada compartimento dos caminhões que captaram o leite nas propriedades da região do Sul de Minas Gerais, especificamente, nos municípios de Serrania, Alfenas, Machado, Divisa Nova, Monte Belo, Paraguaçu, Fama, Areado, Alterosa, Turvolândia, Botelhos, Carvalhopolis, Cabo Verde, Silvianópolis, Poços de Caldas, Campestre, Cordislândia e Campos Gerais. Na Figura 9, é ilustrado o processo responsável pela coleta do leite na propriedade rural até a chegada no laticínio para coleta das amostras.

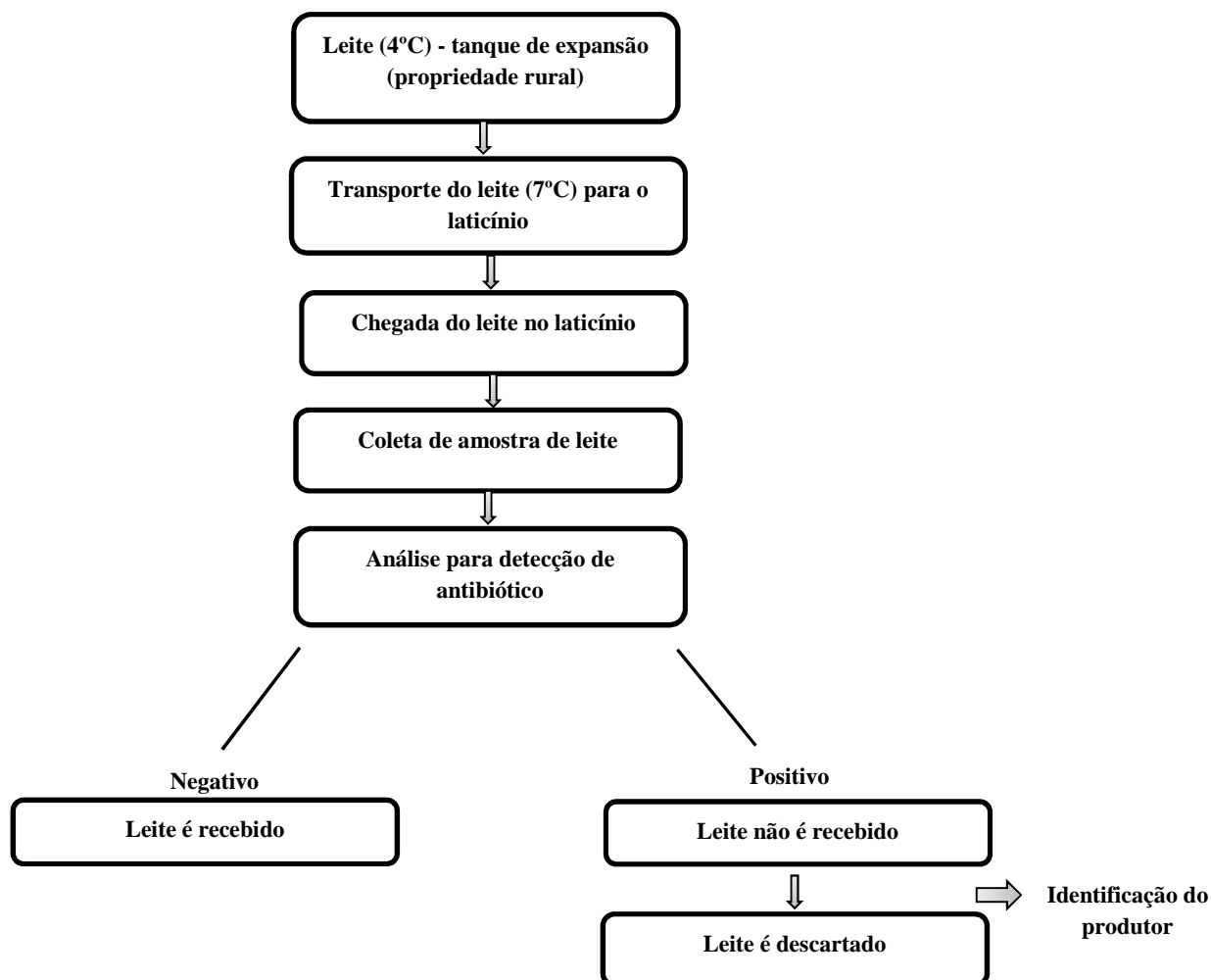


Figura 9: Fluxograma da recepção do leite no laticínio

O caminhão responsável pelo transporte do leite é dividido em compartimentos isolados. Cada compartimento possui capacidade para transportar até 3.000 litros de leite

(Figura 10). As amostras foram coletadas de forma separada em cada um dos compartimentos. No momento da coleta o leite de cada compartimento foi misturado com agitador próprio por 15 vezes consecutivas. Em seguida, com auxílio de caneca específica e devidamente higienizada, foi retirada uma alíquota de 300 mL do compartimento do tanque, que posteriormente foi transferida para frasco de vidro devidamente higienizado. As amostras foram imediatamente transportadas em caixa isotérmica até o laboratório. Durante a coleta e no transporte até o laboratório as amostras foram mantidas a temperatura inferior a 7° C. O tempo do início da coleta das amostras até a análise para detecção de resíduos de antibióticos não foi superior a 30 minutos.

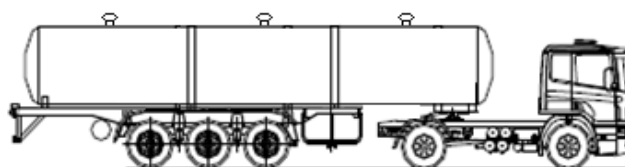


Figura 10: Tanque para transporte de leite a granel (Adaptado de PLURINOX, 2019).

2.2 Detecção de resíduos de antibióticos no leite utilizando o kit BetaStar® S Combo.

As análises para detecção de resíduos de antibióticos foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade do Leite da Cooperativa Regional de Produtores de Leite de Serrania Ltda, utilizando o teste comercial BetaStar® S Combo, conforme procedimento descrito no manual. Esse teste é considerado um teste qualitativo de rápida execução, validado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, além de ser bem utilizado na rotina das indústrias de laticínios como um teste de triagem. O BetaStar® S Combo é capaz de detectar resíduos de antibióticos das classes dos β -lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas) e tetraciclina, de acordo com as sensibilidades descritas na Tabela 2 (NEOGEN, 2017).

Tabela 2: Sensibilidade do teste BetaStar® S Combo

Grupo	Substância	LMR ($\mu\text{g/L}$)	BetaStar S Combo
β -lactâmicos(Penicilinas e Cefalosporinas)	Penicilina G	4	2
	Ampicilina	4	3
	Amoxicilina	4	2
	Oxacilina	30	6
	Cloxacilina	30	5
	Dicloxacilina	30	4
	Nafcilina	30	20
	Ceftiofur	100	30
	Desfuroylceftiofur	100	35
	Cefquinoma	20	16
	Cefazolina	50	90
	Cefapirina	6	20
	Cefacetila	125	60
	Cefoperazona	50	3
Cefalônio	20	2	
Tetraciclina	Tetraciclina	100	45
	Oxitetraciclina	100	50
	Clortetraciclina	100	80
	Doxiciclina	--	50

Fonte: Adaptado de Neogen, 2017.

2.3 Controles analíticos

Foram realizados determinados controles durante as análises para garantir a confiabilidade dos resultados, tais como aferição periódica da temperatura do bloco aquecedor e do leitor AccuScan. Também foi realizado o controle negativo e positivo para todos os *kits* BetaStar® S Combo utilizados nas análises. O controle negativo foi feito por meio da análise de amostras de leite isento de resíduos de antibióticos. Por outro lado, o controle positivo foi feito por meio da análise de amostras de leite contendo comprimidos de antibióticos com concentração definidas. Nesse caso, uma amostra continha comprimidos de antibióticos da classe do β -lactâmicos e a outra continha tetraciclina. Essas amostras foram analisadas, possibilitando identificar a positividade de resíduos para ambas as classes.

2.4 Processamento dos dados e análise estatística

O volume de leite presente no compartimento do caminhão tanque que apresentou resultado positivo para os antibióticos da classe dos β -lactâmicos foi registrado em uma planilha diária. Todos os volumes positivos para essa classe dentro do mesmo mês foram somados. O mesmo procedimento foi realizado para os compartimentos que apresentaram resultado positivo para os antibióticos da classe das tetraciclina. O volume de leite que apresentou resultados positivos para ambas as classes de antibiótico é o mesmo volume do leite que foi devidamente descartado. Foi realizada a média mensal do leite descartado para

cada classe separadamente, assim como foi realizada a média mensal do leite descartado nas diferentes estações do ano, também nos períodos chuvosos e seco. Os dados foram obtidos nos anos de 2015 a 2018. Em seguida, foram submetidos à análise estatística.

Para a análise estatística do volume de leite descartado pela presença de resíduos de antibióticos das classes dos β -lactâmicos e tetraciclina utilizou-se o software IBM® Corp Released. SPSS® Statistics for Windows. Version 20.0, Release 20.0.0. Armonk, New York: IBM Corp., 2012. A comparação entre as médias foi realizada utilizando o teste de Tukey à 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após realizar as análises em relação às classes de antibióticos β -lactâmicos e tetraciclina podem ser visualizados no Apêndice 1. Na Tabela 3 são listados os resultados médios anuais de litros de leite descartados devido à presença de antibióticos da classe de β -lactâmicos.

Tabela 3. Volume (litros) médio mensal de leite descartado devido à presença de antibióticos da classe β -lactâmicos no período de 2015 a 2018 encontrados em municípios do Sul de Minas Gerais.

Ano	Média (L)	DP	Mínimo	Máximo	Valor de P
2015	48.151,25	31.221,80	0	102.408,00	0,202NS
2016	26.231,58	13.337,90	3.285	53.766,00	
2017	36.345,67	17.144,10	12.547,00	71.241,00	
2018	49.372,08	27.910,94	5.779,00	101.800,00	
Média Geral	40.025,15	---	---	---	

^{NS} Não significativo pelo Teste F ($P > 0,05$).

DP: Desvio padrão.

Mínimo: menor valor encontrado.

Máximo: maior valor encontrado.

Na Tabela 4 são listados os resultados médios anuais (em litros) de descarte devido à presença de antibióticos da classe das tetraciclina.

Tabela 4. Volume (litros) médio mensal de leite descartado devido a presença de antibióticos da classe das tetraciclinas no período de 2015 a 2018 encontrados em municípios do Sul de Minas Gerais.

Ano	Média	DP	Mínimo	Máximo	Valor de P
2015	3.936,50	9.126,97	0	29.451,00	0,657NS
2016	3.813,08	10.151,36	0	34.306,00	
2017	3.866,00	5.800,26	0	17.981,00	
2018	7.472,42	10.446,08	0	30.347,00	
Média Geral	4.772,00	---	---	---	

^{NS}Não significativo pelo Teste F ($P>0,05$).

DP: Desvio padrão.

Mínimo: menor valor encontrado.

Máximo: maior valor encontrado.

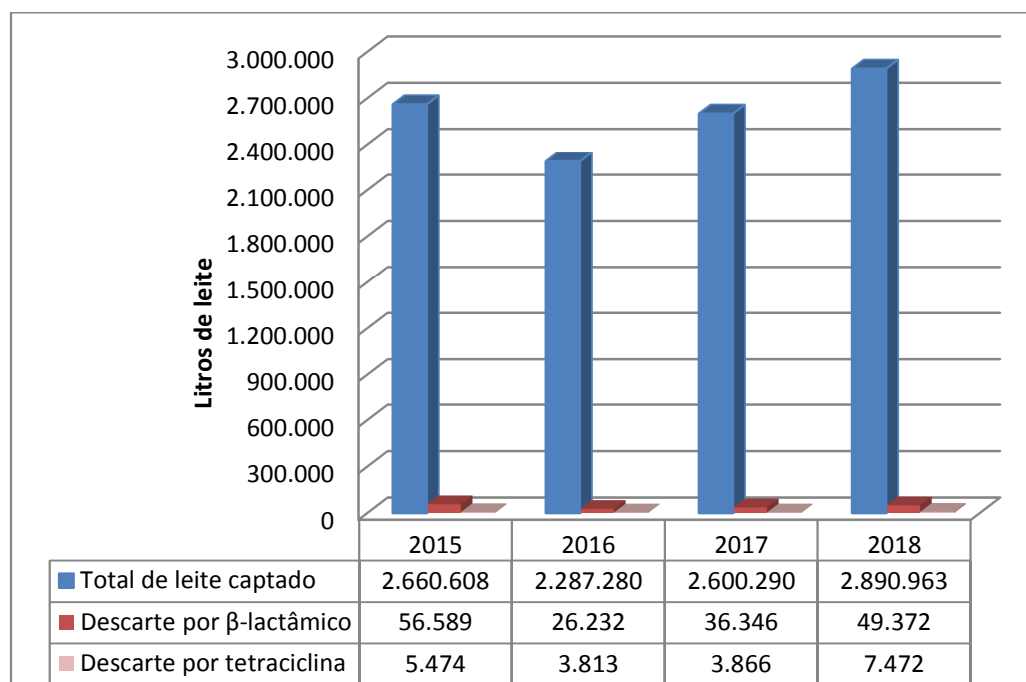
Considerando os dados da Tabela 3 observa-se que não ocorreram diferenças significativas no volume médio mensal de leite descartado devido à presença de antibióticos da classe β -lactâmicos no período de 2015 a 2018 em amostras de leite coletadas nos municípios do Sul de Minas Gerais. No entanto, grandes volumes de leite foram descartados. Mesmo com a empresa tendo prejuízos ocasionados pelo descarte do leite por um longo período de tempo, os trabalhos realizados a nível de campo para instruir sobre os cuidados com a administração de antibióticos em vacas no período de lactação não foram suficientes.

Assim como ocorreu com os antibióticos β -lactâmicos, a perda média mensal de leite descartado (Tabela 4) pela presença de antibióticos da classe tetraciclinas também não tem diferença significativa, indicando que o volume perdido com o passar dos anos se mantém na mesma média.

A maneira na qual o leite é transportado até os laticínios contribui para a manutenção do volume significativo de descarte realizado pela presença de resíduos de antibióticos. Isso ocorre pelo fato do leite ser transportado a granel juntamente com o leite de outras propriedades produtoras de leite. Conforme estabelecido pela instrução normativa N° 77 de 26 de novembro de 2018 do MAPA (BRASIL, 2018b) esse transporte foi uma grande evolução para a qualidade microbiológica do leite por mantê-lo refrigerado durante todo transporte. No entanto, pode-se afetar a qualidade do leite transportando em conjunto. Quando o leite de determinada propriedade leiteira apresenta resíduos de antibióticos, conseqüentemente a contaminação se expandirá para o leite dos demais produtores que estão no mesmo compartimento ou no mesmo tanque do caminhão.

Ao chegar à indústria de laticínios o leite contaminado com resíduos de antibióticos deve ser descartado por estar impróprio para o consumo, de acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de origem animal – RIISPOA (BRASIL, 2017). Se fossem tomados os cuidados necessários com a administração de antibióticos em vacas leiteiras, o leite seria descartado na própria propriedade leiteira, respeitando o período de carência dos animais em tratamento. Esse leite com resíduos não prejudicaria o leite das demais propriedades leiteiras durante o transporte. Dessa forma, evita-se um prejuízo bem maior para as indústrias em relação ao prejuízo da propriedade leiteira.

Na Figura 11 são apresentadas as médias mensais de descarte de leite (volume em litros) por resíduos de antibióticos das classes β -lactâmicos e tetraciclina no período de 2015 a 2018 no leite captado nos municípios do sul de Minas Gerais.



^{NS}Não significativo pelo Teste F ($P>0,05$)

Figura 11. Média mensal do volume de leite descartado (L) devido à presença de resíduos das classes β -lactâmicos e tetraciclina no período de 2015 a 2018 em relação à média do volume de leite captado nos municípios do Sul de Minas Gerais.

Como pode ser observado na figura 11, não ocorreram diferenças significativas no volume médio mensal (L) de leite descartado devido a presença de antibióticos no período de 2015 a 2018. Ao comparar o leite descartado com volume médio mensal (L) de leite captado nesse mesmo período, é possível observar que o descarte do leite é maior devido a presença de resíduos de antibióticos da classe dos β -lactâmicos.

Apesar do volume do descarte ser menor em relação ao volume captado, os prejuízos em valores monetários não são pequenos. A média dos prejuízos mensais que a empresa teve com o descarte do leite contaminado pelos resíduos das classes β -lactâmicos e tetraciclina no período de 2015 a 2018 podem ser observados na tabela 5. Os valores foram calculados considerando a média mensal do valor do litro de leite baseado no Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA) da Esalq/USP para o sul de Minas Gerais (CEPEA, 2019). Os prejuízos foram baseados somente na perda do volume do leite. Os demais custos tais como o correto descarte, transporte, análises laboratoriais e demais despesas operacionais não foram mensurados.

Tabela 5. Média mensal dos prejuízos (R\$) devido o descarte do leite contaminado com os resíduos de antibióticos das classes dos β -lactâmicos e tetraciclina.

Ano	Valor Total	β -lactâmicos	Tetraciclina
2015	R\$ 39.555,25	R\$ 36.565,87	R\$ 2.989,38
2016	R\$ 36.308,97	R\$ 31.700,86	R\$ 4.608,11
2017	R\$ 49.223,11	R\$ 44.490,73	R\$ 4.732,37
2018	R\$ 75.608,87	R\$ 65.669,80	R\$ 9.939,07

As indústrias de laticínios devem possuir controle eficiente para a detecção de resíduos de antibióticos no leite, pois a não detecção desses resíduos no leite *in natura* leva a fabricação de produtos lácteos com leite contaminado por resíduos de antibióticos. Pesquisadores já apontaram a incidência de resíduos de antibióticos em produtos lácteos disponíveis para o consumo colocando em risco a saúde dos consumidores (SCHLEMPER; SACHET, 2017; SOUZA *et al.*, 2010; MORAIS *et al.*, 2009).

Os resultados médios em litros de leite descartados nas estações do ano devido à presença de antibióticos da classe de β -lactâmicos se encontram na Tabela 6.

Tabela 6. Volume médio de leite descartado nas estações do ano, devido a presença de antibióticos da classe β -lactâmicos no período de 2015 a 2018 encontrados em municípios do Sul de Minas Gerais.

Estação	Média	DP	Mínimo	Máximo	Valor de P
Primavera	43710,42 a	29.692,60	0	101.800,00	0,035
Verão	53374,58 a	24.418,57	18.121,00	102.411,00	
Outono	32908,33 a	23.282,26	3.285,00	91.412,00	
Inverno	30107,25 a	14.951,56	11.411,00	62.374,00	

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem entre si pelo Teste *Tukey* ($P < 0,05$).

DP: Desvio padrão.

Mínimo: menor valor encontrado.

Máximo: maior valor encontrado.

Os resultados médios em litros de leite descartados nas estações devido à presença de antibióticos da classe de tetraciclina se encontram na Tabela 7.

Tabela 7. Volume médio de leite descartado nas estações do ano, devido a presença de antibióticos da classe tetraciclina no período de 2015 a 2018 encontrados em municípios do Sul de Minas Gerais.

Estação	Média	DP	Mínimo	Máximo	Valor de P
Primavera	9.116,58 a	11.266,62	0	30.347,00	0,022
Verão	7.258,25 a	11.932,40	0	34.306,00	
Outono	1.495,67 b	2.396,03	0	6.412,00	
Inverno	1.217,5 b	3.441,33	0	11.851,00	

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem entre si pelo Teste *Tukey* ($P < 0,05$).

DP: Desvio padrão.

Mínimo: menor valor encontrado.

Máximo: maior valor encontrado.

Ao observar o volume médio de leite descartado devido a presença de β -lactâmicos (Tabela 6) nota-se que o descarte ocorre em todas as estações do ano de forma homogênea. Entretanto quando se observa o volume médio de leite descartado no laticínio devido a presença de antibióticos da classe das tetraciclina (Tabela 7) verifica-se que nas estações da primavera e verão ocorre uma incidência maior e significativa.

Em relação ao volume (média no período de 2015 a 2018) de leite descartado pela presença de resíduos de antibióticos da classe das tetraciclina, foi possível observar um percentual de 86,05% nas estações da primavera e verão, e 13,95% no outono e inverno. Entretanto, o descarte pela presença de resíduos da classe dos β -lactâmicos foi de 60,54% nas estações da primavera e verão, e 39,46% nas estações do outono e inverno. Este resultado indica que provavelmente ocorreu uma maior utilização dos antibióticos da classe tetraciclina, não havendo o descarte das vacas em tratamento nas propriedades leiteiras no período da primavera, prolongando até o verão.

A utilização de antibióticos em vacas leiteiras no período de lactação ocorre principalmente por causa do tratamento da mastite. TALBOT, 2013; SILVA *et al.* 2013). RIEKERINK *et al.* (2007) demonstraram que a incidência da mastite apresenta um padrão sazonal, de modo que a contagem de células somáticas normalmente é baixa durante o período de inverno e mais alta no verão, coincidindo com o aumento da incidência de mastite clínica durante os meses do verão.

Green *et al.* (2006) também verificaram o aumento da contagem de células somáticas do tanque de leite *in natura* nas propriedades leiteiras durante a época do verão. Desta forma, foi possível observar uma maior ocorrência de mastite no período do verão, o que

consequentemente leva as vacas leiteiras a receberem tratamento com antibióticos sem que haja o descarte do leite, ou seja, sem que ocorra a obediência ao período de carência do fármaco. Esse fato acarreta um maior descarte de leite nesses meses pelas indústrias de laticínios.

Os resultados médios em litros de leite descartados nas estações do ano consideradas chuvosas (primavera e verão) e as consideradas secas (Outono e inverno) devido à presença de antibióticos da classe de β -lactâmicos se encontram na Tabela 8.

Tabela 8. Volume médio de leite descartado nas estações do ano consideradas chuvosas (primavera e verão) e as consideradas secas (outono e inverno), devido a presença de antibióticos da classe β -lactâmicos no período de 2015 a 2018 encontrados em municípios do Sul de Minas Gerais.

Estação	Média	DP	Mínimo	Máximo	Valor de P
Chuvosa	48.542,50 a	27.040,60	0	102.411,00	0,011
Seca	31.507,79 b	19.188,78	3.285,00	91.412,00	
Média Geral	40.025,15				

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem entre si pelo Teste F (P<0,05).

DP: Desvio padrão.

Mínimo: menor valor encontrado.

Máximo: maior valor encontrado.

Os resultados médios em litros de leite descartados nas estações consideradas chuvosas e as consideradas secas do ano devido à presença de antibióticos da classe de tetraciclina se encontram na Tabela 9.

Tabela 9. Volume médio de leite descartado nas estações do ano consideradas chuvosas (primavera e verão) e as consideradas secas (Outono e inverno), devido a presença de antibióticos da classe tetraciclina no período de 2015 a 2018 encontrados em municípios do Sul de Minas Gerais.

Estação	Média	DP	Mínimo	Máximo	Valor de P
Chuvosa	8.187,42 a	11.388,83	0	34.306,00	0,008
Seca	1.356,58 b	2.903,41	0	11.851,00	
Média Geral					

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem entre si pelo Teste F (P<0,01).

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem entre si pelo Teste F (P<0,05).

DP: Desvio padrão.

Mínimo: menor valor encontrado.

Máximo: maior valor encontrado.

Quando se analisa estatisticamente as médias dos volumes de leite encontrados nos períodos mais chuvosos com a presença de antibióticos das classes β -lactâmicos e tetraciclina, nota-se que em ambos os casos se obtém uma diferença significativa, indicando que em estações mais chuvosas ocorre maior descarte de leite no laticínio com a presença de antibióticos que nas estações mais secas.

Estudos realizados por Neves *et. al*, (2019), observaram, um aumento na Contagem de Células Somáticas - CCS no período chuvoso em relação ao período seco. O aumento da CCS está relacionado com a ocorrência da mastite. Logo, esses animais recebem tratamento por antibióticos. O uso inadequado desses medicamentos em animais lactantes sem o descarte do leite contaminado na propriedade rural impactou em um descarte maior de leite contaminado por resíduos de antibióticos das classes β -lactâmicos e tetraciclinas na indústria no período chuvoso.

4 CONCLUSÃO

Concluiu-se que no período de 2015 a 2018, o volume de leite descartado devido à presença de resíduos das classes β -lactâmicos e tetraciclinas não tiveram alterações significativas, indicando que o volume perdido com o passar dos anos se mantém na mesma média.

Constatou-se que o descarte de leite devido à presença dos resíduos da classe β -lactâmicos ocorreu em todas as estações do ano, porém, no período chuvoso foi maior em relação ao período seco.

O descarte de leite devido à presença dos resíduos da classe das tetraciclinas foi maior nas estações da primavera e verão e nos períodos chuvosos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 77, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial.** Brasília, 2018. (b)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA).** Artigo 542. Brasília, 2017.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Esalq/USP. **Leite.** Disponível em <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/leite.aspx>. Acesso em: mar. 2019.

GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J.; NEWTON, H.; BROWNE, W. J. **Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds: investigations of the Summer rise.** Preventive Veterinary Medicine, v.74, p.308, 2006.

MORAIS, C.M.Q.J; DURÃES, T.S; NOBREGA, A.W; JACOB, S.C. **Presença de resíduos de antibióticos em leite bovino pasteurizado.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.30. Campinas. Dez. 2009.

NEOGEN. **Informações técnicas do produto BetaStar® S Combo.** Neogen Corporation, 2017.

NEVES, R.B.S; MESQUITA, A. J. SANTOS, M.V; NICOLAU, E.S; BUENO, C.P; COELHO, K.O. **Avaliação sazonal e temporal da qualidade do leite cru goiano tendo como parâmetros a contagem celular somática e a contagem bacteriana total.** Archives of Veterinary Science, v.24, n.1, p.10-23, 2019.

PLURINOX. **Tanque para coleta e transporte.** Batatais. São Paulo. Disponível em: <http://www.plurinox.com.br/site/produtos/resfriamento-de-leite>. Acesso em mar 2019.

RIEKERINK, R. G. M.; BARKEMA, H. W.; STRYHN, H. **The effect of season on somatic cell count and the influence of clinical mastitis.** American Dairy Science Association, n.4, v.90, p.1704-1715, 2007.

SCHLEMPER, V.; SACHET, A.P. **Resíduos de antibióticos no leite pasteurizado e não pasteurizado comercializados no sudoeste do Paraná.** Brasil. Cienc. Rural vol.47 no.12 Santa Maria Dec. 2017 Epub Nov 17, 2017.

SILVA DP *et al.* 2013. **Resíduos de antibiótico em leite: prevalência, danos à saúde e prejuízos na indústria de laticínios.** Evidência 13: 127-152. 2013

SOUZA, F.C.; OLIVEIRA, E.N.A; SANTOS, D.C; SILVA, E. F. M. **OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM LEITES PASTEURIZADOS COMERCIALIZADOS NO ESTADO DO CEARÁ - BRASIL.** Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.5, n.4, p.10-14. out-dez. 2010.

TALBOT, G. H. (2013). **Beta-Lactam antimicrobials: what have you done for me lately?** *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1277, pp. 76-83.

APENDICÊ 1

Volume de leite descartado devido à presença de resíduos β -lactâmicos e tetraciclinas no período de 2015 a 2018

MÊS	2018			2017			2016			2015		
	Vol. Captado	Volume (+)	Classe antibiótico	Vol. Captado	Volume (+)	Classe antibiótico	Vol. Captado	Volume (+)	Classe antibiótico	Vol. Captado	Volume (+)	Classe antibiótico
janeiro	2.310.847	57.631 0	betalactâmico tetraciclina	2.376.169	71.241 0	betalactâmico tetraciclina	2.422.697	24.123 0	betalactâmico tetraciclina	3.465.522	48.251 15.087	betalactâmico tetraciclina
fevereiro	2.846.064	36.446 25.295	betalactâmico tetraciclina	2.322.473	41.233 12.411	betalactâmico tetraciclina	2.221.746	18.121 34.306	betalactâmico tetraciclina	3.025.756	69.257 0	betalactâmico tetraciclina
março	2.746.926	78.622 0	betalactâmico tetraciclina	2.510.431	58.333 0	betalactâmico tetraciclina	2.338.058	34.826 0	betalactâmico tetraciclina	3.525.657	102.411 0	betalactâmico tetraciclina
abril	2.906.281	32.008 5.548	betalactâmico tetraciclina	2.273.166	42.111 0	betalactâmico tetraciclina	2.202.309	37.452 0	betalactâmico tetraciclina	2.073.139	91.412 0	betalactâmico tetraciclina
maio	2.422.401	5.779 0	betalactâmico tetraciclina	2.494.198	19.161 0	betalactâmico tetraciclina	1.932.963	3.285 0	tetraciclina tetraciclina	2.191.953	45.084 2.700	betalactâmico tetraciclina
junho	2.780.045	40.155 0	betalactâmico tetraciclina	2.565.356	12.547 3.288	betalactâmico tetraciclina	1.919.846	30.125 0	betalactâmico tetraciclina	2.187.558	35.781 0	betalactâmico tetraciclina
julho	2.812.811	24.767 0	betalactâmico tetraciclina	2.516.613	18.674 0	betalactâmico tetraciclina	2.189.426	11.411 0	betalactâmico tetraciclina	2.368.324	29.452 0	betalactâmico tetraciclina
agosto	3.019.446	36.324 0	betalactâmico tetraciclina	2.886.621	25.432 0	betalactâmico tetraciclina	2.334.198	19.887 0	betalactâmico tetraciclina	2.416.260	62.374 0	betalactâmico tetraciclina
setembro	3.066.593	34.125 11.851	betalactâmico tetraciclina	2.792.953	25.841 0	betalactâmico tetraciclina	2.325.960	18.785 0	betalactâmico tetraciclina	2.468.927	54.215 0	betalactâmico tetraciclina
outubro	3.316.428	58.733 8.068	betalactâmico tetraciclina	2.867.700	41.288 0	betalactâmico tetraciclina	2.488.517	28.652 11.451	betalactâmico tetraciclina	2.773.649	39.578 29.451	betalactâmico tetraciclina
novembro	3.289.465	86.075 8.560	betalactâmico tetraciclina	2.852.340	43.157 3.541	betalactâmico tetraciclina	2.539.670	34.346 0	betalactâmico tetraciclina	2.771.793	55021 18450	betalactâmico tetraciclina
dezembro	3.174.247	101.800 30.347	betalactâmico tetraciclina	2.745.462	37.130 0	betalactâmico tetraciclina	2.531.965	53.766 0	betalactâmico tetraciclina	2.658.758	46234 0	betalactâmico tetraciclina