



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

---

ANNA JÚLIA PORTZ

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS E DA QUALIDADE  
MICROBIOLÓGICA EM LEITES CRU E BENEFICIADO NO DISTRITO FEDERAL.**

BRASÍLIA

2011

ANNA JÚLIA PORTZ

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS E DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA EM LEITES CRU E BENEFICIADO NO DISTRITO FEDERAL.**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do grau de médico veterinário.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia de Aguiar Ferreira

Brasília

2011

Nome do autor: Portz, Anna Júlia

Título: Avaliação da Presença de Resíduos de Antibióticos e da Qualidade Microbiológica em Leites Cru e Beneficiado no Distrito Federal.

Monografia de conclusão de Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovada em: \_\_\_\_ de fevereiro de 2011.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Márcia de Aguiar Ferreira  
Julgamento: \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Luiz Antonio Borgo.  
Julgamento: \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Msc. Marcio Antonio Mendonça  
Julgamento: \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília  
Assinatura: \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço

Em, primeiro lugar a Deus, por me permitir o ingresso no curso de Medicina Veterinária na Universidade de Brasília, em 2006, e sua conclusão, em 2011.

À minha orientadora, Dra. Márcia, que sempre demonstrou muita dedicação à sua profissão e que me ajudou muito na escolha do tema desse trabalho, mostrando a importância do veterinário atuando como higienista, responsável pela segurança alimentar do homem.

Ao coordenador do curso de Gestão do Agronegócio da UnB, prof. Msc. Marlon Brisola, por me proporcionar oportunidades de crescimento profissional e desenvolvimento intelectual.

Ao coordenador da CRC/SDA/MAPA, Leandro Feijó, pelo aprendizado adquirido estagiando em sua coordenação e por incentivar o estudo sempre, visando o crescimento profissional.

À MADASA, especialmente à Andrea, pelo fornecimento dos Kit's de análise SNAP Duo Beta Tetra, empréstimo de equipamento para análise, auxílio e presteza no esclarecimento de dúvidas.

À minha família, que indiretamente me orientou na escolha dessa profissão, me proporcionando o contato com os animais desde pequena, pelo apoio financeiro e emocional para concluir meus estudos, nos momentos de estresse e desânimo e, principalmente ao meu pai, por me incentivar nos estudos em busca da profissão que me agrada.

Aos amigos que fiz ao longo desse curso, que me mostraram a importância da amizade, principalmente nos momentos de maior pressão ao longo do curso.

## RESUMO

PORTZ, Anna Júlia. Avaliação da presença de resíduos de antibióticos em leite cru e beneficiado no Distrito Federal. 2011. 36 f. Monografia (Conclusão do Curso de Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

A inocuidade alimentar é de fundamental importância em uma sociedade civilizada que busca o aumento da perspectiva de vida através, principalmente, da medicina preventiva. A ausência de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos é um dos quesitos de garantia da segurança alimentar, pois evita a ocorrência de doenças no homem, como também dá garantias de respeito às boas práticas ao longo da cadeia agroalimentar; além disso, no caso do leite, é importante para evitar prejuízos à indústria de produção de derivados, pois a presença dessas substâncias afeta a qualidade do leite como matéria-prima. Este trabalho realiza um estudo da presença de resíduos de antibióticos em leites cru e processado produzidos e comercializados no Distrito Federal, por meio da análise de 30 amostras com a utilização de Kit`s SNAPduo\* Beta-tetra. Os resultados obtidos nas análises das amostras demonstraram ausência de resíduos de tetraciclina e  $\beta$ -lactâmicos, em níveis superiores aos LMR`s definidos pelo fabricante, indicando que até o momento da realização dessa pesquisa, o leite produzido e comercializado no Distrito Federal não representa perigo químico em relação à presença dessas substâncias.

**Palavras-chave:** Leite; Resíduos de antibióticos; Segurança alimentar.

## SUMÁRIO

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
1. INTRODUÇÃO .....	9
2. IMPORTÂNCIA DO LEITE NA ALIMENTAÇÃO HUMANA .....	10
3. IMPORTÂNCIA DA PECUÁRIA LEITEIRA NO BRASIL .....	11
4. ASPECTOS DA QUALIDADE DO LEITE NO BRASIL .....	13
5. IMPORTÂNCIA DOS MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS NA BOVINOCULTURA LEITEIRA .....	15
6. BOAS PRÁTICAS NA PRODUÇÃO LEITEIRA .....	16
7. RISCOS DOS RESÍDUOS.....	17
8. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA PESQUISA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM LEITE.....	20
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	21
REFERÊNCIAS .....	22
OBJETIVOS.....	25
INTRODUÇÃO .....	26
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS .....	35

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento de alto valor nutricional, pois possui em sua composição água, gordura, proteínas, sais minerais, vitaminas, carboidratos (NASCIMENTO et al, 2001) e cálcio, essencial para a formação e manutenção dos ossos, sendo um importante alimento para pessoas de todas as faixas etárias (FERREIRA, 2007). Devido a sua relevância na alimentação humana, deve seguir alguns parâmetros para que seja um produto de qualidade. No Brasil, esses parâmetros são definidos na Instrução Normativa 51, que define características físico-químicas e microbiológicas que o leite deve apresentar, desde sua produção, transporte, até sua chegada na indústria, além de outras informações sobre os estabelecimentos onde o leite é produzido (BRASIL, 2002).

A condição sanitária do rebanho também é importante para que o leite atenda os requisitos desejáveis de qualidade. A mastite, inflamação da glândula mamária, ocorre com muita frequência nos rebanhos de gado leiteiro, provocando muitos prejuízos à produção leiteira, principalmente devido à queda na produção e a inviabilidade do leite para processamento e consumo. Para evitar sua ocorrência, muitos produtores realizam o tratamento preventivo com antibióticos no seu rebanho, durante o período em que os animais não estão produzindo leite. Quando algum animal apresenta mastite no período de produção leiteira, deve ser afastado da produção desde o início do tratamento até que acabe o período de carência recomendado para o medicamento, evitando, assim, a passagem de resíduos da corrente sanguínea para o leite (LAGE, 2010).

Resíduo de drogas veterinárias, segundo o *Codex Alimentarius*, é “a fração da droga, seus metabólitos, produtos de conversão ou reação e impurezas que permanecem no alimento originário de animais tratados” (BRASIL, 1999). Os antibióticos mais utilizados em bovinos produtores de alimento, segundo Tenório (2007), são aqueles dos grupos dos beta-lactâmicos, sulfonamidas, macrolídeos, aminoglicosídeos e tetraciclina. Dentre esses, os mais utilizados para tratamento de bovinos leiteiros, portanto os mais detectados no leite, pertencem ao grupo dos beta-lactâmicos.

A presença de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos é um assunto muito discutido atualmente, já que influencia o consumo alimentar quanto a aspectos econômicos,

comerciais e sanitários. Seu controle deve ser pautado na análise de risco, uma ferramenta que auxilia nos processos de tomadas de decisão quanto à segurança alimentar (FAO & WHO, 2006).

Resíduos de antibióticos no leite podem causar diversos malefícios à saúde, desde distúrbios gastrointestinais até hipersensibilidades, teratogênias e choque anafilático em indivíduos alérgicos; também podem provocar resistência bacteriana, trazer prejuízos aos laticínios por inibir o crescimento de micro-organismos benéficos para a produção de derivados de leite (NERO et al., 2007) e causar restrições à exportação. A fim de promover a segurança do leite produzido no país, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento instituiu, em 1999, o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes, por meio do qual são coletadas amostras de leite de estabelecimentos sorteados e analisadas quanto à presença de resíduos e contaminantes (BRASIL, 1999).

Além disso, para que o Brasil mantenha sua posição de destaque no agronegócio leiteiro, considerado como o quinto maior produtor de leite desde 2008 (USDA, 2010), é necessário que sejam respeitadas as boas práticas de produção, que incluem, entre outras, a separação do leite dos animais sob tratamento, evitando o consumo de leite que contenha resíduos de medicamentos que podem ocasionar os prejuízos supracitados (FAO, 2011).

## **2. IMPORTÂNCIA DO LEITE NA ALIMENTAÇÃO HUMANA**

O leite, devido aos componentes, é considerado um alimento completo, essencial para o desenvolvimento adequado de crianças e adolescentes e importante na alimentação de adultos e idosos, principalmente por apresentar, em sua composição, proteínas (3,6%), que contêm um grande número de aminoácidos essenciais, como triptofano, treonina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, histidina, fenilalanina e valina (MARTINS, 2005).

Outros componentes do leite são: lactose (4,5%), lipídios (3,6%), água (87,5%), vitaminas e sais minerais (0,8%). (FERREIRA, 2007).

O mineral de maior importância presente no leite é o cálcio, pois é essencial ao ser humano em todas as fases, sendo importante para a formação dos ossos ao fim da gestação, para o desenvolvimento ósseo adequado em crianças e adolescentes e para a prevenção da reabsorção óssea e da osteoporose em adultos e idosos. As proteínas encontradas no leite previnem a desnutrição por apresentarem elevado valor biológico e, conforme Almeida (2010), um litro de



leite, por dia, supre as necessidades proteicas de crianças com até seis anos, mais de 60% das necessidades proteicas de adolescentes e 50% das necessidades dos adultos.

Devido à sua importância nutricional, o Ministério da Saúde recomenda doses de Ingestão Diária Recomendada (IDR) de leite de: dois copos para crianças, de três a quatro copos para adolescentes e de três copos para adultos e idosos (YAMAGUCHI et al, 2005).

### 3. IMPORTÂNCIA DA PECUÁRIA LEITEIRA NO BRASIL

O controle dos resíduos de antibióticos em leite é de fundamental importância, pois é uma questão de interesse crescente no comércio internacional de alimentos, devido à preocupação com a saúde do consumidor.

O Brasil ocupa uma posição de destaque no comércio de lácteos, sendo o quinto maior produtor de leite. A partir da década de 90, devido à estabilidade econômica do Plano Real, ao estabelecimento de nova governança na cadeia em função da liberação dos preços do leite em 1991, entre outros fatores, a produção do leite no Brasil aumentou de 12,1 para 27 bilhões de litros por ano, aumentando mais de 123% entre 1985 e 2007 ( Tabela 1 e Gráfico 1).

A competitividade do Brasil nesse mercado é vantajosa devido ao econômico sistema de produção, que é, em sua maior parte, a pasto. Além disso, há possibilidade de crescimento horizontal da produção, com aumento da área de rebanho de gado leiteiro e vertical, com melhoramento genético, nutricional e de manejo (LEITE, 2008).

**Tabela 1.**

Produção mundial de leite fluido.

Produção de leite fluido	2006	2007	2008	2009 (p)	2010 (f)	2011
<b>North America</b>						
Canada	8,041	8,212	8,27	8,28	8,35	8,35
Mexico	10,051	10,657	10,907	10,866	11,033	11,06
United States	82,455	84,211	86,174	85,881	87,461	88,768
Sub-total	100,547	103,08	105,351	105,027	106,844	108,178
<b>South America</b>						
Argentina	10,2	9,55	10,01	10,35	10,6	11,07
Brazil	25,23	26,75	27,82	28,795	29,948	30,846
Sub-total	35,43	36,3	37,83	39,145	40,548	41,916
European Union	132,206	132,604	133,848	133,7	135,35	136,6
<b>Former Soviet Union</b>						
Russia	31,1	32,2	32,5	32,6	31,9	31,2
Ukraine	12,89	11,997	11,524	11,37	10,95	10,57

Sub-total	43,99	44,197	44,024	43,97	42,85	41,77
<b>South Asia</b>						
India	41	42,89	44,5	48,16	50,3	52,5
<b>Asia</b>						
China	31,934	35,252	34,3	28,445	29,1	30,5
Japan	8,137	8,007	7,982	7,91	7,721	7,55
Sub-total	40,071	43,259	42,282	36,355	36,821	38,05
<b>Oceania</b>						
Australia	10,395	9,87	9,5	9,326	9,327	9,6
New Zealand	15,337	15,918	15,58	16,983	17,173	18,049
Sub-total	25,732	25,788	25,08	26,309	26,5	27,649
<b>TOTAL</b>	<b>418,976</b>	<b>428,118</b>	<b>432,915</b>	<b>432,666</b>	<b>439,213</b>	<b>446,663</b>
Notes:						
(p) Preliminary.						
(f) Forecast.						
(1) Based on deliveries						
(2) Year ending June 30 for the period 2006-2008 ISAD/OGA/FAS July 2011						

Fonte: FAS post reports, official statistics, and office research.. Modificado.

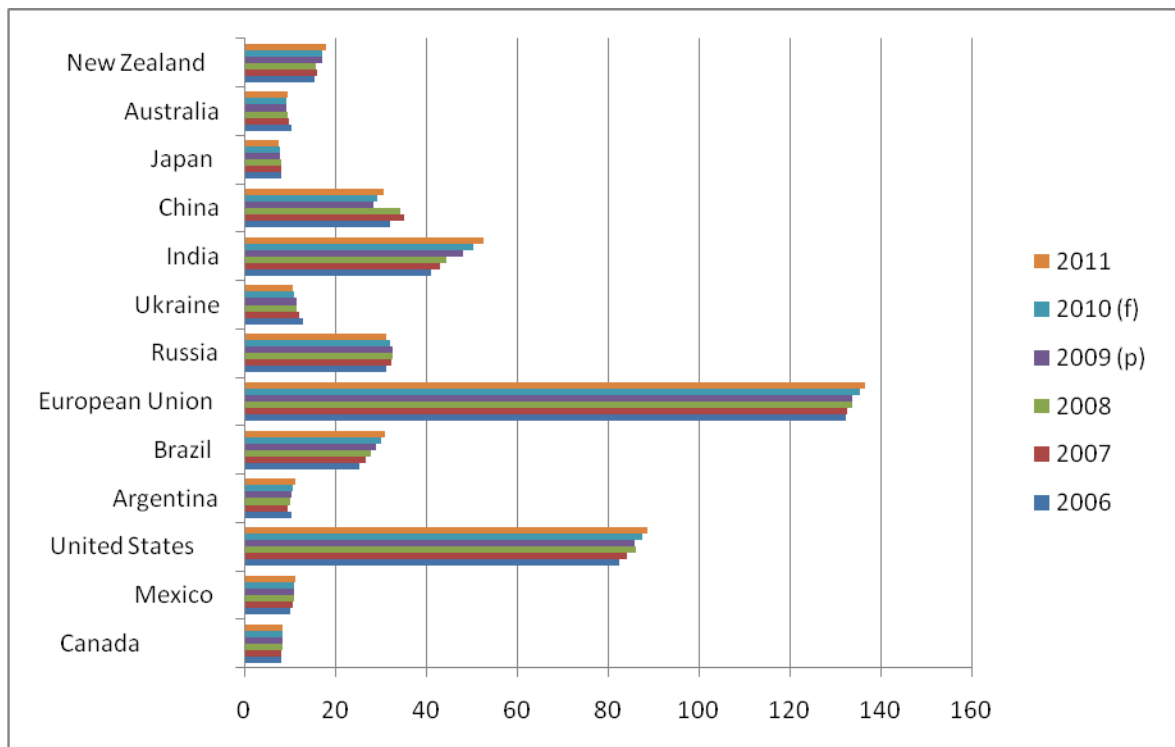


Figura 1 - Produção mundial de leite fluido.

Fonte: FAS post reports, official statistics, and office research. Modificado.

#### 4. ASPECTOS DA QUALIDADE DO LEITE NO BRASIL

O leite, como citado anteriormente, é um alimento de grande importância nutricional para o homem em todas as fases de sua vida; porém, para que possua suas características nutricionais e não prejudique a saúde do consumidor, é necessário que seja um produto de qualidade. No Brasil, essa qualidade é regulada, desde 18 de setembro de 2002, pela Instrução Normativa 51 (IN 51), que aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade de Leite tipo A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, bem como o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel (BRASIL, 2002).

Esta Normativa tem como objetivo a melhoria da qualidade do leite brasileiro, por meio do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade de Leite, estabelecendo a padronização dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos diversos tipos de leite, bem como as características estruturais necessárias para sua produção e transporte, obrigando os estabelecimentos com Serviço de Inspeção Federal (SIF) a implantarem a Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle - APPCC e as Boas Práticas de Fabricação – BPF (PERIN et al, 2009).

Segundo a IN 51, o leite é classificado por tipos, de acordo com as características de sua produção e o processamento ao qual foi submetido. O leite do tipo A é produzido, beneficiado e envasado em granjas leiteiras; o leite tipo B é aquele mantido na propriedade em que foi produzido, refrigerado, por até 48 horas, em temperatura de 4°C, atingida até 3 horas após a ordenha, e beneficiado em laticínio, sendo que deve chegar ao laticínio na temperatura de até 7°C.

O leite tipo C teve seu prazo de vigência expirado em 01/07/2007 em todo o país sendo substituído pelo cru refrigerado, que deve ser mantido em condições de refrigeração, transportado em carro-tanque isotérmico da propriedade em que foi produzido até um posto de refrigeração ou estabelecimento industrial; após o tratamento térmico recebe a denominação de leite pasteurizado.

Todos os tipos são classificados quanto ao teor de gordura em: integral (maior ou igual a 3%), padronizado (igual a 3%), semidesnatado (de 2,9 a 0,6%) e desnatado (igual ou menor que 0,5%). O tratamento térmico deve ser, preferencialmente, a pasteurização rápida (72°C a 75°C/15 a 20 segundos), que ocorre em circuito fechado, seguido de resfriamento a 4°C.

Ainda, a Portaria 370 de 04 de setembro de 1997, do MAPA, que regulamenta o leite Ultra Alta Temperatura (UAT) ou *Ultra High Temperature* (UHT), estabelece que esse leite deve

ser submetido a tratamento térmico em circuito fechado, em média de 140°C de 1s a 4s, seguido de resfriamento a 32°C e esse leite, obrigatoriamente, deverá ser homogeneizado. Os parâmetros microbiológicos estabelecidos para os tipos de leite cru estão contidos na Tabela 2 e a Tabela 3 contém os critérios microbiológicos para os leites tipos A, B, Pasteurizado e UAT (BRASIL, 2002; BRASIL, 1997).

**Tabela 2.**

Critérios para Contagem Padrão em Placas (CPP) e de Células Somáticas (CS) para os leites tipos A, B e cru refrigerados.

Critério	Tipo A refrigerado	Tipo B refrigerado	Cru refrigerado
CPP (UFC/mL)	$10^4$	$5,0 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$
CCS (CS/mL)	$6,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$	$7,5 \times 10^5$

Fonte: BRASIL,2002.

**Tabela 3.**

Critérios microbiológicos para os leites tipos A, B e pasteurizado.

Critério	Tipo A	Tipo B	Pasteurizado	UAT
Contagem Padrão em Placas (CPP)	n=5; c=2 m=5x10 <sup>2</sup> M= 1x10 <sup>3</sup>	n=5; c=2 m=4x10 <sup>4</sup> M= 8x10 <sup>4</sup>	n=5; c=2 m=4x10 <sup>4</sup> M= 8x10 <sup>4</sup>	n=5; c=0 m≤ 100
Coliformes a 35°C	n=5; c=0; m<1	n=5; c=2 m=2; M=5	n=5; c=2 m=2; M=4	--
Coliformes a 45°C	n=5; c=0; m=aus.	n=5; c=1; m=1; M=2	n=5; c=1 m=1; M=2	--
<i>Salmonella</i> spp.	n=5; c=0; m=aus.	n=5; c=0; m=aus.	n=5; c=0; m=aus.	--

Fonte: BRASIL,2002.

## 5. IMPORTÂNCIA DOS MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS NA BOVINOCULTURA LEITEIRA

A produção de um leite de qualidade tem como premissa os cuidados com a saúde do rebanho, já que a maioria das doenças nos bovinos produtores de leite interfere direta ou indiretamente na produção leiteira da propriedade. A fim de evitar a ocorrência dessas doenças e o prejuízo econômico decorrente das mesmas, são utilizados alguns medicamentos para tratar o rebanho de forma preventiva e alguns para tratamento terapêutico.

Febre aftosa, brucelose, tuberculose, raiva e carbúnculo sintomático, são doenças que requerem vacinação do rebanho. As vermifugações devem ser realizadas em esquemas de acordo com a região, com a utilização de produtos que atuem sobre a maioria dos vermes, principalmente em animais e cria e recria (MARTINS, 2005).

Para tratamento preventivo de cascos, que apresentam mais problemas se a criação de bovinos for intensiva, pode ser utilizado pedilúvio com solução de sulfato de cobre e formol a 5%. Quanto ao tratamento terapêutico, realiza-se limpeza cirúrgica da ferida e curativos, evitando a contaminação. Carrapaticidas são utilizados para evitar a espoliação dos animais e a Tristeza Parasitária Bovina. O tratamento para berne geralmente é feito durante a primavera, para reduzir a população de moscas durante o verão (MARTINS, 2005).

As doenças provocadas por micro-organismos causam enormes prejuízos para a produção leiteira, devendo ser tratadas da forma correta a fim de evitar a contaminação do leite e sua transmissão para o consumidor. Dentre os micro-organismos que podem ser veiculados pelo leite ao homem, de origem endógena, que passam do animal para o leite, são predominantes, em condições higiênicas adequadas, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* e lactobacilos saprófitas do úbere e canais galactóforos (JAY, 2005 *apud* ALMEIDA, 2010).

Dentre os causadores de mastite, doença muito frequente nos rebanhos de bovinos leiteiros, podem ser encontrados *Corynebacterium SSP*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus spp* (BIRGEL JUNIOR, 2006). O tratamento preventivo de mastites deve ser feito no período em que a vaca não esteja produzindo leite, período seco, a fim de aumentar a eficácia do tratamento e evitar a passagem de resíduos de antibióticos para o leite (BRASIL, 2009 *apud* SILVA, 2009).

Para tratamento de infecções provocadas por esses micro-organismos, são utilizados antibióticos, que são substâncias químicas capazes de impedir as funções vitais de determinados

micro-organismos, de forma temporária ou permanente (BRASL, 1999a *apud* ARAÚJO, 2010). Os antibióticos mais utilizados em animais de produção, segundo MITCHELL et al (1998 *apud* ARAUJO, 2010), são a penicilina e cefalosporinas ( $\beta$ -lactâmicos), oxitetraciclina e tetraciclina (tetraciclinas), a sulfametazina (sulfonamidas), a eritromicina, a estreptomicina, gentamicina e neomicina (macrolídeos).

Os antibióticos também são utilizados, em doses subterapêuticas, como aditivos na ração e água para aumentar o ganho de peso e melhorar a conversão alimentar dos animais (BRITO e PORTUGAL, 2003). Seu uso deve ser feito de forma controlada, sempre com prescrição veterinária, a fim de evitar a passagem de seus resíduos para o leite e também diminuir as chances de ocorrência de resistência bacteriana.

## **6. BOAS PRÁTICAS NA PRODUÇÃO LEITEIRA**

Prevenir é a melhor solução para evitar problemas sanitários, gastos com medicamentos, queda na produção leiteira e descarte de leite por estar impróprio para o consumo humano. Para realizar essa prevenção da forma correta, deve-se fazer uso das boas práticas agropecuárias.

Segundo o Guia de Boas Práticas Agrícolas Leiteiras (FAO, 2011), as boas práticas na produção leiteira devem garantir que o leite e seus produtos sejam seguros e adequados ao seu destino. Para isso, o estabelecimento de boas práticas deve ocorrer no âmbito da saúde do animal, da ordenha higiênica, da nutrição adequada dos animais leiteiros, da garantia do bem estar animal, dos cuidados com o ambiente em que ocorre a produção, da gestão sócio-econômica.

Em relação à saúde do animal, as boas práticas devem garantir o estabelecimento de um rebanho livre de doenças, evitar a entrada de novas doenças no rebanho através de novos animais, possuir um bom plano de saúde para o rebanho e fazer uso dirigido dos medicamentos veterinários aplicados nos animais, respeitando os períodos de carência, utilizando apenas medicamentos registrados e aplicando a dose necessária para a doença específica.

Quanto à ordenha higiênica, os cuidados que devem ser observados são: coleta de leite apenas de animais saudáveis, evitando a contaminação do leite e dos equipamentos de ordenha; a higienização dos materiais utilizados durante a ordenha e o armazenamento higiênico do leite após a ordenha.

Em relação à alimentação, os animais devem receber comida e água livres de contaminantes, em quantidade adequada e com a qualidade nutricional necessária para cada tipo

de animal; o armazenamento do alimento deve ser feito de forma correta e deve ser garantida a rastreabilidade desse alimento.

O bem estar deve ser garantido evitando que o animal apresente medo, fome, sede, desnutrição, maus tratos, doença, desconforto e proporcionando condições que permitam que ele expresse seu comportamento natural.

A questão ambiental deve ser tratada com a adoção de um sistema de produção ambientalmente sustentável, com destinação adequada do lixo produzido e utilização de práticas que não causem impactos negativos ao meio ambiente. Por último, as boas práticas também devem ocorrer com uma boa gestão dos recursos humanos, garantindo condições adequadas e seguras de trabalho, bem como uma viabilidade financeira da propriedade.

## **7. RISCOS ASSOCIADOS À PRESENÇA DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE E DERIVADOS**

Os resíduos de antibióticos no leite são um risco por não serem inativados por nenhum tratamento tecnológico do leite, daí a importância das boas práticas agrícolas na sua produção, como citado anteriormente.

A definição de risco, segundo o *Codex Alimentarius* (2003 *apud* ANVISA, 2008) é “Função da probabilidade da ocorrência de um efeito adverso à saúde e da gravidade desse efeito, causado por um perigo ou perigos existentes no alimento.”

Os resíduos de medicamentos, que são subprodutos da biotransformação dos antibióticos, podem passar para o leite independente da via de aplicação do medicamento (oral, tópica, alimentar, intramamária, intrauterina ou intramuscular), pois são absorvidos pelas células de secreção do alvéolo da glândula mamária e passam para o leite produzido nos quatro quartos do úbere do animal medicado (FONSECA & SANTOS, 2001 *apud* SILVA, 2009).

Entre os riscos que os resíduos de antibióticos podem trazer à saúde humana, estão: carcinogenicidade, toxicidade, desencadeamento de fenômenos alérgicos, desequilíbrio da microbiota intestinal e seleção de bactérias resistentes (ARAÚJO 2010; FOLLY e MACHADO, 2001).

Segundo Tozzeti et al (2008, *apud* ARAÚJO, 2010), a presença de antimicrobianos, mesmo em níveis baixos, pode prejudicar a saúde dos seus consumidores. Araújo (2010) cita ainda, baseado em experimentos realizados com animais, que os nitrofuranos podem causar o

surgimento de tumores malignos no homem e o cloranfenicol pode causar anemia aplástica em indivíduos susceptíveis.

Também podem ocorrer efeitos teratogênicos em fetos e embriões de mulheres que consomem leite contendo resíduos de antibióticos, segundo Silva (2009).

Nascimento et al (2001) citam casos de reações alérgicas dos tipos asmática, digestiva e cutânea, após consumo de leite e realização de teste negativo para alergia a leite e positivo para alergia à penicilina.

Quanto aos prejuízos para as indústrias, os resíduos de antibióticos afetam o processo de produção dos derivados de leite, principalmente por inibição da atividade das bactérias ácido-láticas, interferência nos processos de fermentação e formação de odores desagradáveis em produtos lácteos, especialmente nos queijos e fermentados (FOLLY e MACHADO, 2001). Na tabela 4 são descritos os principais efeitos da presença de resíduos de antibióticos em leite utilizado na produção de queijos.

Diversas pesquisas têm relatado a ocorrência de resíduos de antibióticos em leite cru e pasteurizado. Nero et al (2007) analisaram 210 amostras de leite cru coletadas em propriedades leiteiras de quatro regiões do Brasil, sendo 50 de Botucatu (SP), 47 de Viçosa (MG), 50 de Pelotas (RS) e 63 de Londrina (PR), sendo que foram encontradas 24 amostras positivas para  $\beta$ -lactâmicos, sulfonamidas, gentamicina e tilosina, através de análise com o Kit *Charm test*<sup>TM</sup>.

Folly e Machado (2001) analisaram 300 amostras de leites tipo C e Integral, já embaladas, da região norte do estado do Rio de Janeiro, utilizando o Kit “Delvotest P” e o “ $\beta$ L Snap Test” , e encontraram 13 resultados positivos.

Macedo e Freitas (2009) encontraram resíduos de antibióticos em 11 amostras de leite, dentre 103 analisadas, provenientes de propriedades leiteiras, usinas de beneficiamento e varejo de Belém. As análises foram realizadas com a utilização dos Kit's: BL Snap Test para Tetraciclina, Charm SL Test e Copan CH ATK, para análise de beta-lactâmicos, tetraciclina e sulfonamidas.

Nascimento et al (2001) analisaram 96 amostras de leite pasteurizado dos tipos A, B, C e integral, de seis marcas diferentes, provenientes de Piracicaba (SP), por meio de ensaios microbiológicos, encontrando 48 amostras com resíduos de antibióticos, sendo 33 com resíduos de  $\beta$ -lactâmicos.



Além desses, outros trabalhos citam a presença de resíduos de antimicrobianos em leite: 24,26% em amostras de leite cru provenientes da região metropolitana de Belo Horizonte (TENÓRIO, 2007), 9,95% em amostras de leite pasteurizado padronizado analisadas no estado de Goiás, 38,5% em amostras de leite pasteurizado tipo C analisadas em Salvador e 33% em amostras de leite cru analisadas no Triângulo Mineiro (SILVA, 2009).

Em pesquisa realizada no Distrito Federal foram analisadas 19 amostras de leite cru e 95 de leites pasteurizados por meio do teste Eclipse 50 (Zeu Inmnotec S.L., Zaragoza, Espanha), sendo encontrada uma amostra de leite cru positiva para a presença de resíduos de antibióticos (SILVA, 2010).

Entretanto, os resultados do Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal também indicam pouco risco para o consumidor de leite cru, já que não foram encontrados resultados de violações aos Limites Máximos de Resíduos (LMR`s) para resíduos de antimicrobianos nas amostras de leite analisadas nos últimos anos (SILVA, 2009; BRASIL, 2010; BRASIL, 2011). Também, os resultados do Programa de análises de Medicamentos Veterinários em Produtos de Origem Animal (ANVISA, 2009) indicam que o risco de exposição aos resíduos de antibióticos devido à ingestão de leite UHT e leite em pó é baixo.

**Tabela 4.**

Defeitos na produção de queijos, decorrentes da presença de resíduos antibióticos no leite.

Etapa	Defeitos
Aquecimento a 100 °C.	Ausência de coagulação do leite.
Cozimento e agitação prolongada.	Massa úmida e pastosa, não há produção de acidez dentro do grão.
Dessoragem e prensagem.	Queijo apresenta-se macio demais, soltando soro em quantidade anormal.
Fermentação	pH alto; para o Mussarela e o Provolone, a massa demora a filar; risco de formação de gás por coliforme é maior, pois é mais resistente aos resíduos de antibióticos.
Maturação	Queijo não matura adequadamente, apresentando-se borrachento e com sabor e aroma fracos.

**Fonte:** FURTADO, 1999 *apud* BRITO e PORTUGAL, 2003.

## 8. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA PESQUISA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM LEITE

Atualmente, estão disponíveis no mercado diversos métodos para pesquisa de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos, sendo que os utilizados pelo MAPA, segundo a Instrução Normativa 42/1999, são por ensaio imunoenzimático (ELISA), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia por camada delgada (CCD), densitometria (DST), cromatografia Gasosa (CG) e espectrofotometria de absorção atômica (EAA) (BRASIL, 1999).

Para pesquisa de resíduos de antibióticos em leite, os métodos disponíveis são a cromatografia gasosa, cromatografia em camada delgada, cromatografia líquida em alta pressão, testes imunológicos, microbiológicos e imunoenzimáticos (KONDO, 2010 apud ARAÚJO, 2010). Os testes mais utilizados pelas indústrias, por apresentarem resultados em pouco tempo, são Kit`s comerciais de detecção dos resíduos, que podem funcionar através dos seguintes métodos: microbiológicos, físico-químicos ou imunoenzimáticos (RAMIREZ et al, 2001 apud TENORIO, 2007).

Os testes microbiológicos, que funcionam por inibição microbiana, apresentam um meio de cultura, uma cultura de micro-organismo teste e um indicador de pH, sendo que na presença de resíduos de antibióticos, após inoculação da amostra, não haverá multiplicação do micro-organismo, não ocorrendo alteração do meio. Como exemplo de testes que utilizam esse princípio pode-se citar: Teste de Disco, Charm Farm Test, COPAN ATK P&S Microplate, Delvotest- P. Esse tipo de teste não tem apresentado bons resultados para detecção de tetraciclinas em leite, para os LMR`s adotados pela Legislação Brasileira (LAGE, 2010).

Os testes imunoenzimáticos detectam presença de resíduos de antibióticos no leite por meio de reações nas quais ocorre ligação do resíduo de antimicrobiano a proteínas conjugadas com receptor específico observando-se alteração da coloração no círculo de ativação da amostra, sendo que dentre os mais utilizados, destacam-se o SNAPduo\*Beta-Tetra e as diversas apresentações da linha CHARM TEST (ARAÚJO, 2010).

A espectrofotometria de massa consiste na geração de íons com base em compostos orgânicos ou inorgânicos por meio de um método de ionização apropriado, em seguida, os íons são separados por meio de sua relação massa-carga em um analisador de massas e detectados qualitativamente ou quantitativamente por meio de um detector. A magnitude do sinal elétrico é convertida por meio de um processador de dados e então é gerado um espectro correspondente à

magnitude do sinal elétrico produzido (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS, 2011).

A técnica de referência para detecção de resíduos em leite, na maioria dos casos, é a LC-MS-MS (Ferreira et al, 2009), porém, trata-se de um método confirmatório, não utilizado em triagem por ser caro e requerer mão de obra altamente qualificada.

## **9. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A produção de leite no Brasil tem uma grande importância econômica, tanto para o comércio nacional quanto o internacional. Para que o leite seja um produto de qualidade, é necessário que sejam seguidas as boas práticas de produção, dentre elas, o respeito ao período de carência e descarte de leite contaminado com resíduos de antibióticos, garantindo segurança na alimentação dos consumidores de leite, que, em sua maior parte, fazem parte de grupos imunologicamente mais suscetíveis, como idosos e crianças.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, G. M. **Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado no município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia- Brasil.** 2010. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- ARAÚJO, M. M. P. **Validação de métodos imunoenzimáticos para determinação de resíduos de antimicrobianos no leite.** 2010. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- ANVISA. **Perspectiva sobre a análise de risco na segurança dos alimentos.** Curso de sensibilização. Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, prevenção e controle de Doenças, OPAS/OMS, 2008.
- BIRGEL JUNIOR, E. H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Girolando e Gir, criados no estado de São Paulo.** 2006. 335 f. Tese (Livre Docência) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- BRASIL. Instrução Normativa n. 42, de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional de 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. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, Brasília, 22 dez.,1999.
- BRASIL. Instrução Normativa n° 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da coleta de Leite Cru Refrigerado e seu transporte a Granel. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, Brasília, 20 set. 2002.
- BRASIL. Instrução Normativa n° 06, de 16 de março de 2010. Publica Resultados do Acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em carnes (Bovina, Suína, Aves e Equina), Leite, Ovos, Mel e Pescado, do exercício de 2009, na forma dos anexos à presente Instrução Normativa, em conformidade com a Instrução Normativa n°14, de 25 de maio de 2009. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, Brasília, 23 mar. 2010.
- BRASIL. Instrução Normativa n° 06, de 25 de fevereiro de 2011. Publica Resultados do Acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em carnes (Bovina, Suína, Aves e Equina), Leite, Ovos, Mel e Pescado, do exercício de 2010. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, Brasília, 28 fev. 2011.
- BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** 1ªEd. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2003.

FAS. Post reports, official statistics, and office research. Disponível em:  
<<http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/dairy.pdf>>. Acesso em: 18 out. 2011.

FERREIRA, M. A. **Controle de qualidade físico químico em leite fluido**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007. 17 p. Dossiê Técnico.

FERREIRA, M. A. **Análises microbiológicas para leite fluido**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007. 18 p. Dossiê Técnico.

FERREIRA, C.R. et al. Princípios e aplicações da espectrometria de massas em produção animal. In: Simpósio de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal, 2., 2009, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2009, p.109-136. Disponível em:  
<[http://www.thomson.iqm.unicamp.br/Palestra9\\_Christina.pdf](http://www.thomson.iqm.unicamp.br/Palestra9_Christina.pdf)>.

FOLLY M.M., MACHADO, S. C. A. Determinação de resíduos de antibióticos, utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imuno-ensaios no leite pasteurizado comercializado na região Norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p.95-98, 2001.

Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO, Animal production and Health. Guide to good dairy farming practice. Rome: FAO; 2006. Disponível em:  
<<http://www.fao.org/docrep/012/a0822e/a0822e.pdf>>. Acesso em 06/09/2011.

Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO, Animal production and Health. Guide to good dairy farming practice. Rome: FAO; 2011. Disponível em:  
<<http://www.fao.org/docrep/014/ba0027e/ba0027e00.pdf>>. Acesso em: 05/12/2011.

IDEXX Laboratories. Folheto SNAP DUO®. 2010. Disponível em:  
<[http://www.verusmadasa.com.br/produtos\\_pdf/snapduo.pdf](http://www.verusmadasa.com.br/produtos_pdf/snapduo.pdf)>. Acesso em: 17 de outubro. 2011.

LAGE, A. D. **Avaliação de Kits de inibição microbiana para a detecção de resíduos de antimicrobianos em diferentes concentrações no leite**. 2010. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

LEITE, J.L.B et al. **Comércio Internacional de Lácteos**. Juiz de Fora: Templo, 2008.

MACEDO, L. C. S; FREITAS, J. A. Ocorrência de Resíduos de Antimicrobianos em Leite. **Ciências Agrárias**, Belém, 52, p.147:157, julho-dezembro, 2009.

MARTINS, C.E et al. **Aspectos técnicos, econômicos, sociais e ambientais da atividade leiteira**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2005.

NASCIMENTO, G. G. F., et al. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista Nutrição**, Campinas, 14 (2), 119-124, maio/agosto, 2001.

NERO, L.C. et al. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(2), 391:393, abril-junho, 2007.

ORGANIZAÇÕES RURAIS E AGROINDUSTRIAIS. Lavras: Universidade Federal de Lavras, v. 8, n.3, p. 368-377, 2006.

PERIN, O. R. et al. Percepção de qualidade no processo produtivo do leite: um estudo de caso no Rio Grande do Sul. **Organizações Rurais e Agroindustriais**, Lavras, v.11, n.3, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS. Espectrometria de massas: princípios e aplicações. Disponível em: <<http://www.espectrometriademassas.com.br/>>. Acesso em: 09/12/2011.

SILVA, P.H.C. **Qualidade do leite produzido e beneficiado no Distrito Federal (BRASIL) quanto à adequação à Instrução Normativa n °51/2002**. 2010.81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Universidade de Brasília, 2010.

SILVA, T. S. **Abordagem crítica sobre o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Leite com ênfase em antibióticos**. 2009. 39f. Seminário (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

TENÓRIO, C. G. M. S. C. **Avaliação da eficiência do teste COPAN (Microplate e Single) na detecção de resíduos de antimicrobianos no leite**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

USDA. Dairy: World Market and Trade Circular Archives. Disponível em: <[http://www.fas.usda.gov/dairy\\_arc.asp](http://www.fas.usda.gov/dairy_arc.asp) >. Acesso em 08 de agosto. 2011.

YAMAGUCHI, L.C.T., et al. **Pecuária de Leite: Novos Desafios**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2005.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

- Analisar o perigo químico pela presença de resíduos de antibióticos nos leites, cru, pasteurizado e UHT, produzidos e comercializados no Distrito Federal.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Quantificar a presença de micro-organismos dos grupos dos aeróbios mesófilos e coliformes em amostras de leite cru;
- Avaliar a qualidade higiênica e sanitária dos leites pasteurizado e UAT, por meio da pesquisa de micro-organismos indicadores;
- Quantificar a presença de micro-organismos psicrotóxicos em amostras de leites cru, pasteurizado e UAT;
- Avaliar a correlação entre as análises qualitativas de lactofermentação e de teste imunoenzimático para a detecção de resíduos de inibidores em amostras de leite cru e beneficiado.

## **AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM LEITE CRU E BENEFICIADO NO DISTRITO FEDERAL.**

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil está entre os 10 maiores produtores no mercado da pecuária leiteira, proporcionando a geração de renda para os produtores e crescimento significativo na atividade leiteira. Isso porque o leite é um produto de grande importância nutricional, essencial para determinadas faixas da população e por seus derivados fazerem parte da cesta básica.

A manutenção das características do leite, assim como a sua inocuidade e seu valor nutricional, são tópicos de preocupação tanto para a indústria quanto para os órgãos reguladores e o que se observa em pesquisas realizadas no Brasil é que, no geral, a matéria-prima chega à indústria com diversos parâmetros alterados, indicando deficiências na produção e a oferta de produtos para o consumo abaixo da qualidade estabelecida pela legislação vigente (MARCÍLIO et al., 2009; TEBALDI et al., 2008; ARRUDA et al., 2007; ROCHA et al., 2006; NERO et al., 2005).

A ausência de resíduos de medicamentos veterinários e contaminantes nos alimentos, como garantia de segurança alimentar, é um assunto relativamente novo no Brasil, porém muito tem sido discutido e exigido pelo comércio internacional. Os países que se destacam no comércio internacional de alimentos possuem um programa de controle desses resíduos e contaminantes, com limites máximos de resíduos (LMR`s) permitidos de substâncias veterinárias nos alimentos de origem animal bem definidos.

Os LMR`s são definidos internacionalmente pela Comissão do *Codex Alimentarius* e visam o controle de substâncias químicas (antibióticos, hormônios, pesticidas e parasiticidas) usados na produção animal (BRITO, 2003).

No Brasil, o controle da segurança do leite em relação à presença de resíduos é realizado por meio de dois programas: o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVET-ANVISA/MS), que realiza o controle da segurança alimentar no produto final, e o Programa Nacional de Controle de Resíduos (PNCR-MAPA), que avalia a segurança da cadeia agroalimentar quanto à presença de resíduos e contaminantes inorgânicos na matéria prima.



A contaminação do leite por substâncias químicas, em especial por antibióticos, também foi verificada por outros autores em pesquisas realizadas em diferentes regiões brasileiras (Nero et al., 2007; Emanuelli et al., 2005; Nero et al., 2004); entretanto, ainda não há pesquisas publicadas sobre ocorrência de perigos químicos associados ao leite produzido e beneficiado comercializado no Distrito Federal, justificando-se, plenamente, a realização dessa pesquisa.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta das amostras**

Foram coletadas 10 amostras de leite cru (n=10) provenientes de propriedades leiteiras localizadas no Distrito Federal, sendo nove de leite armazenado em latões e uma de tanque de resfriamento, 10 de leite pasteurizado e 10 de leite UAT adquiridas no comércio local, totalizando n=30. As amostras de leite cru e pasteurizado foram transportadas e mantidas sob refrigeração até o seu processamento no Laboratório de Análises de Leite e Derivados (LABLEITE/FAV).

### **Processamento das amostras**

#### *Tratamento das amostras*

Após homogeneização foram coletados 5 mL de cada amostra, que foram mantidas congeladas, para as análises de resíduos de antibióticos. Em seguida, foram realizadas as diluições decimais seriadas, em solução salina 0,85%, para as análises microbiológicas. As amostras de leite cru e pasteurizado eram analisadas imediatamente após sua chegada ao laboratório, e as amostras de leite cru eram incubadas a 35°C durante sete dias, antes das análises microbiológicas, conforme preconizado pela Portaria 370/1997 (BRASIL, 1997).

#### *Análises microbiológicas*

As análises microbiológicas foram realizadas conforme metodologias preconizadas pela Instrução Normativa 62/2003 (BRASIL,2003). Para contagem de micro-organismos Aeróbios Mesófilos (AM), as amostras foram semeadas em Ágar Padrão para Contagem (Acumedia,

Lasing, Michigan, EUA) e incubadas a 35°C durante 48 horas. Os resultados obtidos foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL).

Para a pesquisa de micro-organismos do grupo dos coliformes pela técnica de tubos múltiplos, as diluições selecionadas foram semeadas em Caldo Bile Verde Brilhante 2% Lactose (CBVBL) para enumeração de Coliformes Totais (CT) com incubação a 35°C durante 24-48 horas; a partir dos tubos positivos no CBVBL, as amostras foram semeadas para enumeração de Coliformes Termotolerantes (CTt) em Caldos EC e Triptona (Acumedia, Lasing, Michigan, EUA) com incubação a 45°C durante 24-48 horas. Os resultados obtidos foram expressos em Número Mais Provável (NMP/mL).

Para pesquisa de micro-organismos psicotróficos (PSI) as diluições selecionadas foram semeadas em superfície e em duplicata em Ágar Padrão de Contagem (Neogen/Acumedia, Lasing, Michigan, EUA) e incubadas a 10°C por sete dias. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL).

#### ***Análise de lactofermentação***

Para realização dessa análise, 10 mL de cada amostra foram transferidos para tubos esterilizados e incubados a 35°C/24 horas; após esse período, os coágulos formados eram classificados em esfacelado, caseoso, gelatinoso ou líquidos (sem formação de coágulo).

#### ***Análises de resíduos de antibióticos***

Para pesquisa de antibióticos, utilizou-se o teste SNAPduo\* Beta-Tetra (IDEXX Laboratories, Maine, USA) em todas as amostras, conforme recomendações do fabricante; esse teste detecta resíduos de penicilina G, tetraciclina, clortetraciclina e oxitetraciclina, em níveis iguais ou inferiores aos limites máximos estipulados para resíduos em leite de vaca, conforme quadro abaixo:

### Quadro 1

LMR`s de Antibióticos adotados pelo MERCOSUL, Codex e União Européia e detectados pelo Kit SNAPduo\* Beta-Tetra

Resíduo	LMR`s detectados pelo SNAPduo* Beta-Tetra	LMR`s estabelecidos pelo Mercosul	LMR`s estabelecidos pelo CODEX	LMR`s estabelecidos pela EU
Penicilina G	4 ppb	4 ppb	4 ppb	4 ppb
Tetraciclina	50 ppb	100 ppb	100 ppb	100 ppb
Clortetraciclina	100 ppb	100 ppb	100 ppb	100 ppb
Oxitetraciclina	50 ppb	100 ppb	100 ppb	100 ppb

**Fonte:** IDEXX Laboratories (2010), *Codex Alimentarius*, FDA (2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa pesquisa, todas as amostras de leite analisadas apresentaram resultados negativos para resíduos de antibióticos. Nas amostras de leite cru, esses resultados podem indicar respeito às boas práticas agropecuárias na produção leiteira, pois de acordo com Andrew et al (2009), se a aplicação de antibióticos ocorrer apenas no período em que a vaca não está produzindo leite e for respeitado o período de carência indicado pelo fabricante, será baixo o risco de passagem de resíduos de antibióticos para o leite.

Nas amostras de leites beneficiados, a ausência de resíduos de antibióticos pode indicar eficiência no controle de qualidade das indústrias do Distrito Federal e na fiscalização. Entretanto, não se deve descartar a possibilidade de efeito diluição, já que esses leites são provenientes do conjunto de grandes volumes, que poderia resultar em limites não detectáveis.

Estes resultados diferem dos encontrados por outros autores. Nero et al (2007) analisaram 210 amostras de leite cru coletadas em propriedades leiteiras de quatro regiões do Brasil, sendo 50 de Botucatu (SP), 47 de Viçosa (MG), 50 de Pelotas (RS) e 63 de Londrina (PR), sendo que foram encontradas 24 amostras positivas para  $\beta$ -lactâmicos, sulfonamidas, gentamicina e tilosina, através de análise com o Kit *Charm test*<sup>TM</sup>.

Macedo e Freitas (2009) encontraram resíduos de antibióticos em 11 amostras de leite, dentre 103 analisadas, provenientes de propriedades leiteiras, usinas de beneficiamento e varejo de Belém. As análises foram realizadas com a utilização dos Kit's: BL Snap Test para Tetraciclina, Charm SL Test e Copan CH ATK, para análise de beta-lactâmicos, tetraciclina e sulfonamidas.

Além desses, diversas pesquisas relatam a presença de resíduos de antimicrobianos em leite: 24,26% em amostras de leite cru provenientes da região metropolitana de Belo Horizonte (TENÓRIO, 2007), 9,95% em amostras de leite pasteurizado padronizado analisadas no estado de Goiás, 38,5% em amostras de leite pasteurizado tipo C analisadas em Salvador e 33% em amostras de leite cru analisadas no Triângulo Mineiro (SILVA, 2009).

Em pesquisa realizada no Distrito Federal, foram analisadas 19 amostras de leite cru e 95 de leites pasteurizados por meio do teste Eclipse 50 (Zeu Inmnotec S.L., Zaragoza, Espanha), sendo encontrada apenas uma amostra de leite cru positiva para a presença de resíduos de antibióticos (SILVA, 2010).

A Tabela 1 contém os resultados obtidos nas análises microbiológicas e da prova de lactofermentação das amostras de leite analisadas (n=30). Com relação à análise de lactofermentação, todas as amostras de leites crus e pasteurizados, apresentaram formação de coágulos e, nas amostras de leite UAT, como esperado, não ocorreu formação de coágulos já que esse leite passa por tratamento térmico que destrói 100% das formas bacterianas vegetativas. A análise de lactofermentação é considerada como qualitativa para a presença de substâncias inibidoras da fermentação, como os antibióticos, pois na ausência de fermentação natural, pode-se suspeitar da presença de inibidores.

Na avaliação dos coágulos formados, observou-se uma predominância de coágulos classificados como esfacelados (65%), seguido do caseoso (25%) e gelatinoso (10%). No coágulo do tipo esfacelado observa-se produção de gás e geralmente é proveniente de fermentação pseudoláctica devido à presença de coliformes; no tipo caseoso o coágulo apresenta-se contraído de um lado ou em todo o seu contorno, o soro é claro ou leitoso e com odor desagradável, sendo associado à fermentação proteolítica causada por *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Achromobacter* spp, *Flavobacterium* spp e *Clostridium* spp.; no tipo gelatinoso o coágulo apresenta-se uniforme e geralmente associado à fermentação láctica por *Lactobacillus* spp, *Leuconostoc* spp., *Streptococcus cremoris* e *S. lactis*, por exemplo. (FERREIRA, 2007)

Esses resultados são semelhantes aos relatados em outras pesquisas, que também demonstraram maior ocorrência de coágulos do tipo esfacelado, confirmando o efeito deletério das enzimas proteolíticas termoresistentes no produto final (ZOCHE et al.,2002; SILVA et al., 2008).

Ainda, a partir dos resultados obtidos na pesquisa de antibióticos por meio do teste imunoenzimático SNAPduo\*Beta-Tetra e da prova da lactofermentação, observou-se 100% de resultados coincidentes, já que nenhuma amostra de leite cru e pasteurizado apresentou-se positiva no teste e todas apresentaram formação de coágulo.

Com relação às análises microbiológicas, os resultados obtidos demonstraram que 20% das amostras de leite cru, 50% das de leite pasteurizado e 100% de leite UAT apresentaram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente quanto a contagem de AM. Os micro-organismos AM são indicadores da qualidade higiênico-sanitária em alimentos, e altas contagens no leite indicam práticas de produção inadequadas, conservação em temperaturas altas e podem resultar em redução na vida de prateleira do produto final, sendo importante ressaltar

que todos os micro-organismos patogênicos em alimentos são mesófilos (Franco & Landgraf, 2005).

Para CT não há critério microbiológico estabelecido para leite cru, entretanto, duas amostras (20%) apresentaram altas contaminações; para leite pasteurizado, 50% das amostras apresentaram-se em desacordo com o padrão estabelecido e o leite UAT apresentou 100% das amostras em concordância com o padrão vigente. Os CT, por serem fermentadores da lactose, quando em altas contagens causam acidez excessiva e perda da qualidade nutricional (Franco & Landgraf, 2005), além de riscos de toxinfecções e zoonoses. Nessa pesquisa, nenhuma amostra apresentou contaminação por CTt.

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas das amostras de leites cru e pasteurizado não diferem daqueles relatados em diversas pesquisas realizadas, demonstrando que ainda não se atingiu o padrão de qualidade proposto pela Instrução Normativa 51/2002 (Marcílio et al., 2009; Ataíde et al., 2008; Tebaldi et al., 2008; Arruda et al., 2007; Martins et al., 2007; Nero et al., 2007; Arcuri et al., 2006) e os altos níveis de contaminação podem representar risco à saúde dos consumidores devido a possibilidade de conter de micro-organismos patogênicos.

Na pesquisa de psicrotróficos 40% das amostras de leite pasteurizado apresentaram contagens que podem ser consideradas em desacordo com o RIISPOA (Brasil, 2008), que preconiza que a contagem de PSI no leite não deve exceder 10% da contagem de AM observada na amostra. Esses micro-organismos são produtores de enzimas proteolíticas e lipolíticas e responsáveis por processos de deterioração da matéria prima e perdas dos componentes sólidos do leite. Contagens iguais ou maiores de  $10^5$  UFC/mL são suficientes para promoverem alterações significativas pela presença dessas enzimas termoresistentes, comprometendo a qualidade final do leite e seus derivados (MARTH & STEELE, 2001; SØRHAUG & STEPANIAK, 1997). As amostras de leite cru apresentaram contagens menores do que 1,0 UFC/mL e uma (10%) amostra de leite UAT apresentou contagem de 10UFC/mL.

Os resultados obtidos indicam que o leite produzido e comercializado no Distrito Federal não apresenta risco químico, porém, ainda ocorrem falhas na produção que resultam em contaminações microbianas que representam riscos à saúde do consumidor. São necessários mais estudos que corroborem os achados nessa pesquisa.

**Tabela 1.**

Resultados das análises microbiológicas e de fermentação em amostras de leite cru, pasteurizado e UAT (n=30) colhidas Distrito Federal.

Leites	Amostras	AM (UFC/mL)	CT 30°C (NMP/mL)	CTt (NMP/mL)	PSI (UFC/mL)	Lactofermentação
Cru	1	1,0x10 <sup>5</sup>	3,6	ausência	<1,0	Esfacelado
	2	1,9x10 <sup>8</sup>	<3,0	ausência	<1,0	Esfacelado
	3	2,2x10 <sup>6</sup>	<3,0	ausência	<1,0	Caseoso
	4	1,0x10 <sup>7</sup>	75	ausência	<1,0	Esfacelado
	5	5,0x10 <sup>6</sup>	3	ausência	<1,0	Caseoso
	6	1,0x10 <sup>7</sup>	<3,0	ausência	<1,0	Caseoso
	7	2,1x10 <sup>8</sup>	>1100	ausência	<1,0	Gelatinoso
	8	1,0x10 <sup>7</sup>	<3,0	ausência	<1,0	Esfacelado
	9	5,0x10 <sup>5</sup>	<3,0	ausência	<1,0	Esfacelado
	10	1,55x10 <sup>9</sup>	3,6	ausência	<1,0	Gelatinoso
Pasteurizado	11	5,0 x 10 <sup>3</sup>	>1100	ausência	4,0 x 10	Esfacelado
	12	10 x 10 <sup>5</sup>	93	ausência	<1,0	Caseoso
	13	5,0 x 10 <sup>2</sup>	<3,0	ausência	1,3 x 10 <sup>2</sup>	Esfacelado
	14	3,4 x 10 <sup>4</sup>	>1100	ausência	<1,0	Esfacelado
	15	4,5 x 10 <sup>6</sup>	>1100	ausência	1,5 x 10 <sup>6</sup>	Esfacelado
	16	3,0 x 10 <sup>3</sup>	<3,0	ausência	1,5 x 10	Esfacelado
	17	8,5 x 10 <sup>6</sup>	>1100	ausência	1,1 x 10 <sup>4</sup>	Esfacelado
	18	4,5 x 10 <sup>3</sup>	<3,0	ausência	<1,0	Esfacelado
	19	7,8 x 10 <sup>4</sup>	<3,0	ausência	1,0 x 10 <sup>3</sup>	Caseoso
	20	2,0 x 10 <sup>2</sup>	<3,0	ausência	<1,0	Esfacelado
UAT	21	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	22	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	23	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	24	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	25	ausência	ausência	ausência	1,0 x 10	-
	26	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	27	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	28	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	29	ausência	ausência	ausência	<1,0	-
	30	ausência	ausência	ausência	<1,0	-

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que os leites crus e beneficiados comercializados no Distrito Federal, até o momento dessa pesquisa, não representam riscos químicos pela presença de resíduos de antibióticos, entretanto, podem representar riscos microbiológicos tendo em vista a significativa quantidade de amostras com altas contagens microbianas.

Ainda, pode-se concluir que o leite UAT comercializado no Distrito Federal apresenta qualidade superior quando comparado com o leite pasteurizado e que a prova da lactofermentação apresenta correlação de 100% quando comparada com o teste imunoenzimático utilizado.



## REFERÊNCIAS

- ANDREW, S.M, et al. Factors associated with the risk of antibiotic residues and intramammary pathogen presence in milk from heifers administered prepartum intramammary antibiotic therapy. **Veterinary microbiology**, USA, v. 134, p. 150-156, 2009.
- ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F., et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 440-446, 2006.
- ARRUDA, P.M.; CRUZ, A.G.; ZOELLNER, S.S. et al. Características físico-químicas do leite pasteurizado tipo C e leite Ultra Alta Temperatura comercializados na cidade do Rio de Janeiro. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, v. 66, n. 2, p. 126-129, 2007.
- ATAÍDE, W.S.; MACIEL, J.F.; LIMA, P.L.A. et al. Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. **Revista Instituto Adolf Lutz**, v. 67, n. 1, p. 73-77, 2008.
- BRASIL. Instrução Normativa n. 42, de 20 de dezembro de 1999. Altera o Plano Nacional de 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. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, Brasília, 22 dez.,1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62 de 18 de setembro de 2004. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, 2003. *Diário Oficial da União*, Brasília, 18 set. Seção 1, p. 14, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 370, de 4 de setembro de 1997. Aprova a inclusão do citrato de Sódio no Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade do Leite U.H.T. (U.A.T.), 1997. *Diário Oficial da União*, Brasília, 08 set. Seção 1, p. 19700, 1997.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto 6835, de 27 de fevereiro de 2008. Dá nova redação aos artigos 854 e 918 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, aprovado pelo Decreto 30.691, de 29 de março de 1952 . *Diário Oficial da União*, Brasília, 28 fev. Seção 1, p. 4, 2008.
- BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2003.

EMANUELLI, T.; SANTOS, J.S.; BECK, L. et al. Nitrato e Nitrito em Leite produzido em sistemas convencional e orgânico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 2, p. 304-309, 2005.

FERREIRA, M. A. **Análises microbiológicas para leite fluido**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007. 18 p. Dossiê Técnico.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Ahteneu, 2005. 182p.

MACEDO, L. C. S; FREITAS, J. A. Ocorrência de Resíduos de Antimicrobianos em Leite. **Ciências Agrárias**, Belém, 52, p.147:157, julho-dezembro, 2009.

MACHADO, S.C.A; FOLLY, M. M. Determinação de resíduos de antibióticos, utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imuno-ensaios no leite pasteurizado, comercializado na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 1, p. 95:98, 2001.

MARCÍLIO, T.; PICININ, L.C.A.; OLIVEIRA, S. et al. Diagnóstico de situação da qualidade do leite e água de propriedades leiteiras do município de Urupema (SC). **Revista Leite e Derivados**, n. 113, p. 38-51, jul. 2009

MARTH, E.H.; STEELE, J.L. **Applied Dairy Microbiology**. 2nd Ed., New York: Marcel Dekker, 2001. 736p

MARTINS, P.R.G.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R. et al. Produção e qualidade do leite em sistemas de produção da região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p.212-217, jan/fev, 2007

NASCIMENTO, G. G. F., et al. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista Nutrição**, Campinas, 14 (2), 119-124, maio/agosto, 2001.

NERO, L.C. et al. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(2), 391:393, abril-junho, 2007.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. *Brazilian Journal of Microbiology*, n.35, p. 211-215, 2004.

NERO, L.A.; MAZIERO, D.; BEZERRA, M.M.S. Hábitos alimentares.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução

Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n. 1, p. 191-195, jan.-mar. 2005.

ROCHA, J.S.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Condições de processamento e comercialização de queijo-de-minas frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 263-272, 2006.

SILVA, M.C.D.; SILVA, J.V.L.; RAMOS, A.C.S. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa doleite no Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 226-230, jan.-mar. 2008.

SILVA, P.H.C. **Qualidade do leite produzido e beneficiado no Distrito Federal (BRASIL) quanto à adequação à Instrução Normativa n.º 51/2002**. 2010.81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Universidade de Brasília, 2010.

SILVA, T. S. **Abordagem crítica sobre o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Leite com ênfase em antibióticos**. 2009. 39f. Seminário (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, p. 35-41, feb. 1997.

TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A. et al. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 753-760, jul./set. 2008.

TENÓRIO, C. G. M. S. C. **Avaliação da eficiência do teste COPAN (Microplate e Single) na detecção de resíduos de antimicrobianos no leite**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

ZOCHE, F.; BESSOT, L.S.; BARCELLOS, V.C. et al. Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na região oeste do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 59-67, 2002.