

Levantamento da Ocorrência de Resíduos de Antibióticos em Leite Cru Produzido na Região dos Campos Gerais, Paraná

Survey of the Occurrence of Antibiotic Residues in Raw Milk Produced in the Region of Campos Gerais, Paraná

Marjory Xavier Rodrigues^{a*}; Letícia Dall'Agnol^b; Juliana Vitória Messias Bittencourt^a

^aUniversidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Mestrado em Engenharia de Produção, PR, Brasil

^bLabmark Microbiologia Industrial, PR, Brasil

*E-mail: marjory.xavier@hotmail.com

Recebido: 25 de novembro de 2011; Aceito: 24 de abril de 2012

Resumo

A detecção de resíduos de antibióticos em leite é indispensável para direcionar ações corretivas visando à saúde do consumidor, a qualidade do leite e dos produtos derivados. Desta forma, uma política de incentivo à qualidade da produção leiteira foi implantada em 2005 na região dos Campos Gerais, Paraná. Neste caso, o produtor é penalizado com desconto sobre a produção mensal quando sua produção de leite cru for identificada com resíduos de agentes antibacterianos. Assim, o objetivo do presente artigo foi efetuar um levantamento que permita estabelecer a ocorrência de resíduos de antibióticos em leite cru na região dos Campos Gerais no período de implantação e pós-implantação da política de pagamento quanto ao requisito ausência de inibidor. Foram analisadas amostras provenientes de 400 produtores de leite no período de 2005, ano da implantação da política, até a ano de 2010, usando o teste microbiológico comercial Delvotest® SP-NT. A análise dos dados, realizada a partir da frequência de aparecimento de resíduos, apontou redução da ocorrência de antibióticos e baixa ocorrência quando comparada a outras regiões do país. Portanto, foi possível realizar o levantamento de resíduos de antibióticos em leite cru na região dos Campos Gerais, permitindo demonstrar que a ocorrência de antibióticos está reduzindo sensivelmente desde o ano da implantação da política de pagamento. Além da política de pagamento implantada, a elevação na qualidade de leite se deve a diversas ações corretivas e preventivas, principalmente no manejo, por meio de esclarecimentos ao produtor.

Palavras-chave: Leite. Segurança Alimentar e Nutricional. Antibacterianos.

Abstract

The detection of antibiotic residues in milk is essential for directing corrective actions searching for the consumer's health and quality of milk and milk products. Thus, a policy to promote the quality of milk production was implemented in 2005 in the region of Campos Gerais, Paraná State. In this case, the producer is penalized with discount on the monthly production when the raw milk production is identified with residues of antibacterial agents. The objective of this paper was to perform a survey that would establish the occurrence of antibiotic residues in raw milk in Campos Gerais region during deployment and post-deployment policy of payment regarding the absence of inhibitor. The samples from 400 dairy farmers were analyzed from 2005, the year of implementation of the policy, to 2010, using the commercial microbiological inhibition test Delvotest® SP-NT. The data analysis showed a decrease of antibiotic residues in raw milk, which was lower than other regions in Brazil. It was possible to study these residues present in raw milk from Campos Gerais region, showing that its occurrence is decreasing significantly since the year of the payment policy implementation. In addition to the payment policy, the milk quality improved due to various corrective and preventive actions, particularly in handling through an educational program involving the producers.

Keywords: Milk. Food Security. Anti-Bacterial Agents.

1 Introdução

A presença de inibidores em leite provoca alterações nos resultados das análises de controle, além de erros na sua interpretação, o que pode acarretar prejuízos à indústria e à saúde pública. Entre os agentes químicos inibidores, estão os antibióticos ou quimioterápicos que, junto aos sanitizantes e detergentes, formam o grupo de agentes químicos que mais preocupam a indústria de alimentos¹⁻³.

Entretanto, o uso de antibióticos em animais produtores de leite é imprescindível em casos de infecções como a mastite, doença que afeta as glândulas mamárias e reduz a produção de leite dos quartos afetados, porém o emprego de antibióticos vem se apresentando de forma indiscriminada⁴⁻⁶. O uso extensivo pode provocar o desenvolvimento de

bactérias resistentes, o que tornou-se, nos últimos anos, uma preocupação internacional^{7,8}.

Além deste inconveniente, resíduos de antibióticos no leite causam diversos riscos à saúde dos consumidores e problemas de ordem tecnológica na produção de alimentos. No processamento de produtos lácteos, por exemplo, pode ocorrer a inibição de culturas *starter* que conferem características sensoriais ao produto, prejudicando sua qualidade^{2,5,9-11}. No homem, pode ocasionar reações alérgicas, resistência à antibioticoterapia, desequilíbrio da flora intestinal, além de efeito teratogênico. Portanto, a detecção de resíduos de antibióticos é indispensável para direcionar ações corretivas visando à saúde do consumidor^{8,11,12}.

Também com o intuito de preservar a saúde do consumidor,

foi criada a Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, que estabelece o “Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado”¹³. Juntamente com a IN nº 51, criou-se programas de incentivo ao crescimento com qualidade na área leiteira em todo o país. Indústrias e cooperativas adotaram sistemas de incentivo por meio do pagamento superior para os produtores que possuam leite em um padrão de isenção de resíduos de substâncias inibidoras ou redução do pagamento na presença de inibidores³.

Além destes programas realizados por indústrias e cooperativas a nível regional, outra forma importante de controle é o PAMvet “Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo”, que objetiva avaliar o potencial de exposição do consumidor à resíduos de medicamentos veterinários pela ingestão de alimentos de origem animal¹⁴.

Tais sistemas, programas ou políticas contam com a detecção rápida de resíduos através de testes aplicados nas propriedades leiteiras e na recepção de cargas, fundamentados em técnicas microbiológicas simples ou sofisticadas, como no caso de biosensores^{5,15}.

Este trabalho objetivou efetuar um levantamento que permita estabelecer a ocorrência de resíduos de antibióticos em leite cru na região dos Campos Gerais, Paraná, no período de implantação e pós-implantação da política de pagamento quanto ao requisito ausência de inibidor.

2 Material e Métodos

2.1 Origem das amostras

As amostras de leite cru foram coletadas mensalmente em propriedades leiteiras de 400 produtores da região dos Campos Gerais, Paraná. As coletas foram realizadas diretamente dos tanques de armazenamento de leite nas propriedades, antes do carregamento para a indústria processadora.

As amostras de leite cru dos 400 produtores foram analisadas durante o ano de 2005, ano da implantação da política de pagamento de leite quanto ao requisito ausência de inibidor, até o ano de 2010, totalizando 72 análises por produtor.

2.2 Metodologia de detecção de antibióticos

Para a detecção de antibióticos, foi aplicado o teste Delvotest® SP-NT que fundamenta-se na inibição microbiana para a detecção dos compostos alvo. Este teste é empregado por apresentar alto grau de confiabilidade^{2,16-18}, sensibilidade¹⁹, seletividade (taxa superior a 90%)²⁰, robustez²¹, baixos limites de detecção, além do baixo custo e simplicidade^{22,23}.

Com o Delvotest® SP, é possível detectar 16 tipos de antibióticos, sendo eles: penicilina G, ampicilina, amoxicilina, cloxacilina, cefoperazone, cefalonium, ceftiofur, cefuroxime, enritromicina, tilosina, dihidrostreptomomicina, neomicina, gentamicina, oxitetraciclina, sulfadiazine e trimetoprim^{24,16}.

2.2.1 Procedimento

Ampolas contendo ágar sólido, o micro-organismo de teste (*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*), púrpura de bromocresol e nutrientes foram marcadas para identificação das amostras e, em seguida, abertas destacando a parte da folha de alumínio que a veda.

A partir desta etapa, foi acoplada uma pipeta descartável à seringa que acompanha o teste, sendo utilizada uma pipeta para cada amostra. Para obtenção das alíquotas, manteve-se o êmbolo da seringa completamente pressionado para o uso do volume adequado (0,1 mL). Logo após, o volume foi adicionado na ampola correspondente à amostra e a folha de alumínio foi fechada manualmente. As ampolas foram então incubadas à 64°C±1°C por 3 horas e, após o tempo de incubação, fez-se a leitura das amostras considerando a cor desenvolvida abaixo dos 2/3 do ágar.

A coloração amarela significa ausência de substâncias antimicrobianas, a púrpura indica presença de substâncias antimicrobianas e a coloração amarelo/púrpura indica presença de inibidores próximo do limite de detecção.

2.3 Análise dos dados

A análise dos dados foi realizada de acordo com Nero *et al.*², Nascimento *et al.*⁵, Bilandzic *et al.*²³ e Fonseca *et al.*¹¹, os quais consideram a frequência (%) de aparecimento de resíduos de antibióticos.

Os resultados foram listados nos registros do laboratório durante a pesquisa, a fim de contribuir com dados que possam subsidiar ações corretivas nas propriedades que apresentassem resultados positivos para a presença de antibióticos.

3 Resultados e Discussão

Os dados obtidos demonstraram que a frequência de aparecimento de resíduos de antibióticos é pequena na produção leiteira dos produtores inseridos no programa de incentivo à qualidade. O levantamento realizado mostrou que a ocorrência de amostras positivas vem decaindo sensivelmente. Os resultados obtidos em relação ao número de amostras positivas e a frequência de aparecimento de resíduos de antibióticos estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Resíduos de antibióticos em leite cru durante o período estudado

Ano	Amostras Positivas (%)
2005	35 (0,12)
2006	29 (0,10)
2007	29 (0,10)
2008	27 (0,09)
2009	23 (0,07)
2010	12 (0,04)

A frequência de amostras positivas encontrada é baixa quando comparada com pesquisas desenvolvidas em outras

regiões do país^{2,5,25,26}, nas quais houve frequência de 4,33% a 50%. A baixa frequência e a redução na ocorrência de antibióticos na região é vista como uma conquista pelas organizações cooperativistas, pois estas investem em trabalhos educativos e programas de qualidade.

A frequência de antibióticos e a aplicabilidade do teste Delvotest® também foram apontadas por Bilandzic *et al.*²³, que encontraram, durante três anos de análises (2008, 2009 e 2010), na Croácia, uma frequência de 0,69% de resíduos de antibióticos em leite cru utilizando Delvotest®, valor esse mais próximo da frequência encontrada neste estudo, o que aponta a alta qualidade do leite produzido.

Nascimento *et al.*⁵ apontaram a frequência da presença de antibióticos em leite de 0 a 70% em diversas regiões do Brasil. Entretanto, a alta frequência de positividade foi encontrada em estudos antecedentes a IN nº51¹³ e ao PAMvet¹⁴, como verificado no estudo realizado por Borges *et al.*²⁵ no período de 1997 a 1998.

Já Nero *et al.*² avaliaram amostras de leite cru num período após a criação da IN nº 51 e detectaram positividade para antibióticos em 8,5% em Viçosa (MG), 6% em Pelotas (RS), 8% em Botucatu (SP) e 20,6% em Londrina (PR). Os autores indicaram que os resultados são consequência da não obediência ao período de carência dos medicamentos em animais em lactação.

A detecção de valores em torno de 6% revela a necessidade de programas de controle e monitoramento efetivo na região^{27,28}. Logo, o fato da região dos Campos Gerais possuir a política de incentivo ou programa de pagamento, além de uma organização fundamentada em conceitos do cooperativismo e com ideal de “produzir leite com qualidade”^{29,30}, pode ser considerado um fator de relevância para a baixa incidência de antibióticos.

Em Mossoró (RN) foram detectadas 100% de amostras negativas para o grupo beta-lactâmicos utilizando Delvotest® SP²⁴.

Contudo, junto com a ocorrência de antibióticos em leite cru na região dos Campos Gerais, está a penalização com descontos sobre a produção leiteira, descontos que podem chegar a 7% na produção mensal. Os números referentes aos produtores penalizados no período de pesquisa estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2: Produtores penalizados com desconto devido a presença de antibiótico em leite cru

Ano	(%)
2005	8,75
2006	7,25
2007	7,25
2008	6,75
2009	5,75
2010	3,00

Os números são baixos, porém ao considerar litros produzidos por produtor, estes valores se tornam relevantes, uma vez que na região dos Campos Gerais cada produtor chega a entregar 15.000 litros/dia para a industrialização. De acordo com Labmark – Labvet, esse volume reflete em um alto valor em reais ao aplicar o desconto de 7% na produção mensal.

No entanto, observa-se uma redução de positividade de antibióticos em leite devido ao sucesso de programas de incentivo à qualidade, cujos programas dependem das mudanças de atitude e de manejo, em que o produtores e seus funcionários desempenham papel essencial⁵. Assim é possível observar que tais mudanças foram e estão sendo realizadas.

As políticas ou programas de qualidade indicam um caminho para que a qualidade do leite seja efetiva, portanto há a necessidade de criação de políticas que incentivem a produção de leite de qualidade nas diversas regiões do país.

4 Conclusão

Foi possível realizar o levantamento de resíduos de antibióticos em leite cru na região dos Campos Gerais, o que permitiu demonstrar que a ocorrência de antibióticos tem se reduzido sensivelmente desde o ano da implantação da política de pagamento baseada no requisito ausência de inibidor.

Este fato permite concluir que a atual política de pagamento está melhorando a qualidade do leite na região, pois promove o incentivo à qualidade dentro dos padrões preconizados pela organização pagadora e pela instrução normativa vigente. Além disso, a elevação na qualidade de leite também envolveu diversas ações corretivas e preventivas, principalmente no manejo, por meio de esclarecimentos ao produtor.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao laboratório Labmark – Labvet, localizado na cidade de Carambeí, Paraná, pela contribuição concedida para a presente pesquisa.

Referências

1. Fagundes CM. Inibidores e controle de qualidade do leite. Pelotas: UFPEL; 1997.
2. Nero LA, Mattos MR, Beloti V, Barros MAF, Franco BDG. Resíduos de antibióticos em leite cru em quatro regiões leiteiras do Brasil. *Ciênc Tecnol Aliment* 2007;27(2):391-3.
3. Tenório CGMSC. Avaliação da eficiência do teste Copan (Microplate e Single) na detecção de resíduos antimicrobianos no leite. Belo Horizonte: Universidade de Minas Gerais; 2007.
4. Cunha Filho LFC, Garcia AL, Schafranski EB, Pedro JR, Silva LC, Sturion DJ. Incidência de mastite subclínica no início do período de transição em vacas leiteiras da fazenda experimental da UNOPAR, no município de Tamarana, Paraná. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde* 2006;8(1):25-30.
5. Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. *Rev Nutr* 2001;14(2):119-24.
6. Fontana VLDS, Giannini MJSM, Leite CQF, Miranda ET, Almeida ANF, Fontana CAP, *et al.* Etiologia da mastite

- bovina subclínica, sensibilidade dos agentes às drogas antimicrobianas e detecção do gene da B-lactamase em *Streptococcus aureus*. *Vet Zootec* 2010;17(4):552-9.
7. Pericás CC, Maquieira A, Puchardes R. Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *Trends Anal Chem* 2010;29(9):1038-49.
 8. Lee JB, Chung HH, Chung YH, Lee KG. Development of an analytical protocol for detecting antibiotic residues in various foods. *Food Chemistry* 2007;105(4):1726-31.
 9. ANIL. Segurança alimentar: pesquisa de resíduos de antibióticos em leite. [acesso em 2 ago 2011]. Disponível em www.fipa.pt/artigos/art3QSA.pdf
 10. Kantiani L, Farré M, Barceió D. Analytical methodologies for the detection of β -lactam antibiotics in milk and feed samples. *Trends Anal Chem* 2009;28(6):729-44.
 11. Fonseca GP, Cruz AG, Faria JAF, Silva R, Moura MRL, Carvalho LMJ. Antibiotic residues in Brazilian UHT milk: a screening study. *Ciênc Tecnol Aliment* 2009;29(2):451-3.
 12. Moraes CMQJ, Durães TS, Nóbrega AW, Jacob SC. Presença de resíduos de antibióticos em leite bovino pasteurizado. *Ciênc Tecnol Aliment* 2010;30(1):33-5.
 13. ANVISA. Instrução Normativa nº 51, 18 setembro de 2002. [acesso em 2 ago 2011]. Disponível em <http://www.mda.gov.br/o/776834>
 14. ANVISA. Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo. [acesso em 2 ago. 2011]. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/pamvet.pdf>
 15. Gustavsson E, Bjurling P, Sternesjö A. Biosensor analysis of penicillin G in milk based on the inhibition of carboxypeptidase activity. *Anal Chim Acta* 2002;468(1):153-9.
 16. Coutinho HDM, Macedo MLAP, Cartaxo RS, Almeida TCC, Souza LBSM SantanaWJ. Mecanismos de resistência e detecção das beta-lactamases. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde* 2005;7(1):59-63.
 17. Zvirdauskienė R, Salomskienė J. An evaluation of different microbial and rapid tests for determining inhibitors in milk. *Food Control* 2007;18(5):541-47.
 18. Pontes Netto DP. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. *Acta Scient Anim Sci* 2005;27(1):145-51.
 19. Hillerton JE, Halley BI, Neaves P, Rose MD. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using Delvotest microbial inhibitor tests. *J Dairy Sci* 1999;4(4):704-11.
 20. Andrew SM, Frobish RA, Paape MJ, Maturin LJ. Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual cows and examination of factors that affect the probability of false-positive outcomes. *J Dairy Sci* 1997;80(11):3050-7.
 21. Le Breton MH, Savoy-Perroud MC, Diserens JM. Validation and comparison of the Copan milk test and Delvotest SP-NT for detection of antimicrobials in milk. *Anal Chim Acta* 2007;586(1-2):280-3.
 22. Cháfer-Pericás C. Fast screening methods to detection antibiotic residues in food samples. *Trends Anal Chem* 2010;29(9):1038-49.
 23. Bilandzic N, Kolanovic BS, Varenina I, Scortichini G, Annunziata L, Brstilo M, *et al.* Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Control* 2011;22(12):1941-8.
 24. Mendes CG, Sakamoto SM, Silva JBA, Leite AI. Pesquisa de resíduos de beta-lactâmico no leite cru comercializado clandestinamente no município de Mossoró, RN, utilizando Delvotest SP. *Arq Inst Bio* 2008;75(1):95-8.
 25. Borges GT, Santana AP, Mesquita AJ, Mesquita SQP, Silva LAF, Nunes VQ. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no estado de Goiás. *Ciênc Anim Bras* 2000;1(1):59-63.
 26. Folly MM, Machado SCA. Determinação de resíduos de antibióticos utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimáticos e imuno-ensaios no leite pasteurizado comercializado na região norte do Estado do Rio de Janeiro. *Ciênc Rural* 2001;31(1):95-8.
 27. Adesiyun AA, Stoute S, David B. Pre-processed bovine milk quality in Trinidad: Prevalence and characteristics of bacterial pathogens and occurrence of antimicrobial residues in milk from collection centres. *Food Control* 2007;18(4):312-20.
 28. Movassagh MH, Karami AR. Determination of antibiotic residues in bovine milk in Tabriz, Iran. *Global Vet* 2010;5(3):195-7.
 29. Cullor JS. Segurança alimentar relacionada ao leite e aos produtos lácteos. In: *Anais do 2º Congresso panamericano de qualidade do leite e controle de mastite*. 2002. Ribeirão Preto; 2002. p.159-66.
 30. Hoogerheide SL. Determinação da influência do Pool do leite ABC na qualidade do leite na Bacia Leiteira dos Campos Gerais do Estado do Paraná. Ponta Grossa: UTFPR; 2006.