

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS
NO LEITE *IN NATURA***

Autora: Janine de Freitas Alves
Orientador: Dr. Marco Antônio Pereira da Silva
Coorientador: Dr. Adriano Carvalho Costa

Rio Verde - GO
Agosto - 2017

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS
NO LEITE *IN NATURA***

Autora: Janine de Freitas Alves
Orientador: Dr. Marco Antônio Pereira da Silva
Coorientador: Dr. Adriano Carvalho Costa

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde - Área de concentração Produção animal.

Rio Verde - GO
Agosto - 2017

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

A474d Alves, Janine de Freitas
 DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS
 NO LEITE IN NATURA / Janine de Freitas
 Alves; orientador Marco Antônio Pereira da Silva ; co-
 orientador Adriano Carvalho Costa . -- Rio Verde,
 2017.
 72 p.

 Dissertação (Mestrado em PÓS GRADUAÇÃO EM
 ZOOTECNIA) -- Instituto Federal Goiano, Câmpus Rio
 Verde, 2017.

 1. : vacas em lactação. 2. antibiótico. 3.
 ceftiofur. 4. resíduos químicos. I. , Marco Antônio
 Pereira da Silva, orient. II. , Adriano Carvalho
 Costa, co-orient. III. Título.


INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA


DETECÇÃO E AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE
ANTIBIÓTICOS NO LEITE *IN NATURA*


Autora: Janine de Freitas Alves
Orientador: Marco Antônio Pereira da Silva

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração Zootecnia
– Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

APROVADA em 01 de setembro de 2017.


Prof. Dr. Edgar Alain Collao Saenz
Avaliador externo
UFG/Jataí


Prof. Dr. Karen Martins Leão
Avaliadora interna
IF Goiano/RV


Prof. Dr. Marco Antônio Pereira da Silva
Presidente da banca
IF Goiano/RV

Dedico essa dissertação aos Pais que sempre me apoiaram e me incentivaram, e a todos que de alguma maneira me motivaram e desafiaram a chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e a oportunidade de estudos que me concedeu.

Aos meus Pais: Margarida Rosa de Freitas Alves e Joalci Alves da Silva (Balena), pela paciência, dedicação e apoio que sempre tiveram comigo, pela educação que me deram, pelo exemplo de vida e honestidade.

Agradeço ao meu irmão (Baleninha), pelos ensinados de vida e de prática vivenciado por ele.

Sou grata ao meu Orientador Prof. Dr. Marco Antônio Pereira da Silva, pelos ensinamentos acadêmicos e de vida, pela paciência e compreensão diante todos os obstáculos vencidos nessa fase que conquistamos.

Agradeço aos componentes da banca avaliadora, ao meu Professor de graduação Edgar Alain Collao Saenz e a professora Karen Martins Leão.

Obrigada aos meus companheiros de LPOA (Laboratório de Produtos de Origem Animal), em particular aos meus colegas Ranio e Guilherme, pela parceria e ajuda durante o desenvolvimento desse experimento.

Ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, por disponibilizar a estrutura para realização das análises da qualidade do leite.

Às agências de fomento a pesquisa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (Fapeg) e Financiadora de Estudos e Projetos (Finep), pelo apoio financeiro a pesquisa.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Janine de Freitas Alves, filha de Joalci Alves da Silva e Margarida Rosa de Freitas Alves, nascida no dia 05 de junho de 1987, na cidade de Santa Vitória, Minas Gerais. Solteira. Em março de 2006, ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás, na cidade de Jataí - GO, concluindo o curso em 2010 e graduando-se em março de 2011. Trabalhou como Corpo Técnico na Terra Forte distribuidora Merck Shap Dow no Estado do Maranhão, no período de março de 2011 a agosto de 2012. Trabalhou com assistência técnica no programa Balde Cheio da Embrapa, de dezembro de 2012 a junho de 2014, no Estado de Goiás. De julho de 2014 até o atual momento, trabalha como supervisora técnica de qualidade na empresa de laticínios Italac. Em agosto de 2015, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, Rio Verde - GO, sob orientação do Professor Dr. Marco Antônio Pereira da Silva. No segundo semestre de 2017, concluiu o Mestrado em Zootecnia no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde.

ÍNDICE

	Página
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
OBJETIVOS GERAIS	14
Objetivo geral	14
Objetivos específicos	14
REVISÃO DA LITERATURA	15
Qualidade do Leite	15
Antibiótico	20
Ceftiofur	25
Penicilina	27
Tetraciclinas	28
Enrofloxacina	29
Teste Snap	30
RESUMO	33
ABSTRACT	34
INTRODUÇÃO	35
MATERIAL E MÉTODOS	37
Local e Descrição da Pesquisa	37
Análises Físico-Químicas do Leite	38
Análise do Resíduo de Antibiótico	39
Análise Estatística	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - TABELA 1 - Período residual de antibióticos no leite de vacas mestiças avaliadas pelo kit IDEXX SNAP ST Plus Test [®] após aplicação de penicilina, ceftiofur, oxitetraciclina, enrofloxacina e grupo controle	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Variação da gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD) e ureia do leite de vacas mestiças submetidas a aplicação intramuscular de ceftiofur, enrofloxacina, oxitetraciclina, penicilina e sem aplicação de antibióticos (Controle) em diferentes períodos de coleta.	40
FIGURA 2 - Variação da contagem de células somáticas (CCS) do leite de vacas mestiças submetidas a aplicação intramuscular de ceftiofur, enrofloxacina, oxitetraciclina, penicilina e sem aplicação de antibióticos (Controle) em diferentes períodos de coleta.	43
FIGURA 3 - Variação da contagem bacteriana total (CBT) do leite de vacas mestiças submetidas a aplicação intramuscular de ceftiofur, enrofloxacina, oxitetraciclina, penicilina e sem aplicação de antibióticos (Controle) em diferentes períodos de coleta.	44
FIGURA 4 - Presença de resíduos de antibióticos (%) em amostras de leite refrigerado de indústria de laticínios do sudoeste goiano no período de fevereiro de 2015 a janeiro de 2016.	50

ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO 1 - Requisitos mínimos de indicadores da qualidade do leite para recebimento do leite refrigerado por estabelecimentos processadores de leite no Brasil.	16
QUADRO 2 - Limites máximos da contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS) do leite de tanques de expansão (propriedades ou tanque comunitário) estabelecidos pela Instrução Normativa n. 62 de 2011.	16
QUADRO 3 - Limites máximos de resíduos antimicrobianos no leite (LMR) em µg/kg ou partes por bilhões (ppb).	21
QUADRO 4 - Limites máximos resíduos (LMR) permitido pela norma Brasileira detectados pela sensibilidade do SNAP ST PLUS e porcentagem (%) da detecção do kit em relação a norma brasileira.	32
QUADRO 5 - Antibióticos e dosagens conforme recomendações do fabricante.	37
QUADRO 6 - Avaliação das amostras pelo kit IDEXX SNAP ST PLUS Test [®] de leite dos animais tratados com antibiótico da base Ceftiofur após diluição com leite sem residual.	48

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Símbolo	Sigla
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CEPEA	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CS	Células Somáticas
PPB	Parte por Bilhão
EFSA	European Food Safety Authority
ESD	Extrato Seco Desengordurado
EST	Extrato Seco Total
et al.	E outros
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDF	<i>International Dairy Federation</i>
IF Goiano	Instituto Federal Goiano
IPCA	Instituto Nacional de Preços ao Consumidor Amplo
ITR	Instrumentos para laboratórios
Kg	Quilogramas
L	Litro
LMR	Limite Máximo de Resíduos
mL	Miligramas
NAFDAC	<i>National Agency for Food and Drug Administration and Control</i>
nm	Nanômetros
IN	Normativa
OCDE	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i>
USA	Estados Unidos da América
Mg	Micrograma
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração (HPLC)

RESUMO

Objetivou-se avaliar a composição química, contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite de animais submetidos a aplicação de antibióticos; analisar a persistência de antibióticos no leite de animais em lactação, sendo dois da classe betalactâmicos, uma tetraciclina e uma quinolona; observar a persistência do Ceftiofur diluído em leite sem resíduos químicos e avaliar os prejuízos causados para a indústria e para o produtor devido ao descarte de leite com presença de resíduos de antibióticos. Houve variação nos teores de gordura, proteína, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), lactose e ureia do leite coletado sem e com resíduos de antibióticos. Após o tratamento com antibiótico, todos os animais atenderam as exigências da Instrução Normativa 62/2011 para CCS e CBT. O kit SNAP ST PLUS* utilizado para avaliação da presença de antibióticos da classe dos betalactâmicos e tetraciclinas em leite *in natura* foi eficiente na detecção de antibióticos à base de penicilina, ceftiofur e oxitetraciclina. Conforme o esperado, o leite dos animais do tratamento controle e animais submetidos a aplicação de enrofloxacinina não apresentou resíduo de antibióticos. Enrofloxacinina não está nas classes detectadas pelo kit SNAP ST PLUS Test[®]. O ceftiofur, conhecido como antibiótico de “descarte zero”, apresentou resultado positivo no kit SNAP duo* em uma média de 2,6 dias após aplicação. Todas as amostras de leite coletadas de animais tratados com antibiótico Ceftiofur, foram analisadas também, no Beta Star Combo“S” da Neogen e foi possível confirmar a eficácia do kit SNAP duo* na detecção de resíduos químicos em leite. Os resultados obtidos foram idênticos ao observado pelo SNAP durante os dias de análises. Detectou-se presença de resíduos químicos no leite de vacas tratadas com diferentes grupos de antibióticos, após o período de carência indicado nas bulas dos medicamentos utilizados. Foi observado prejuízo para a indústria e para o produtor, causado pelo descarte do leite com presença de resíduos de antibióticos.

Palavras-chave: vacas em lactação, antibiótico, ceftiofur, resíduos químicos

ABSTRACT

Quality is a requirement of the worldwide consumer and production levels have led to manufacturing practices with higher quality standard. Incorrect use of antibiotics in animals may generate antimicrobial residues in milk, due to non-compliance with indication and elimination time of the drug. In this context, the objective was to analyze residues of antibiotics, two of the beta-lactams class, one tetracycline and one quinolone in the milk of lactating animals; as well as to evaluate the interference of the composition ceftiofur drug considered zero. The losses caused to the industry and the producer due to the disposal of milk with the presence of residues of antibiotics were evaluated. There was variation in the fat, protein, EST and ESD, lactose and urea contents of all milk samples collected with residues of all antibiotics, after treatment with antibiotic, all animals met IN 62/2011 for CCS and CBT. The SNAP ST PLUS * kit used to evaluate the presence of beta-lactam antibiotics and tetracyclines in fresh milk was efficient to detect antibiotics based on penicillin, ceftiofur and oxytetracycline. As expected, the milk from control animals and animals submitted to enrofloxacin did not present antibiotic residue. Enrofloxacin is not in the classes detected by the SNAP ST PLUS Test® kit. Ceftiofur, known as a "zero discard" antibiotic, showed a positive result in the SNAP duo * kit at a mean of 2.6 days. All samples collected from animals treated with antibiotic ceftiofur were also analyzed in the Beta Star Combo "S" of Neogen and it was possible to confirm the kit SNAP duo* efficacy to detect the chemical residues in milk. The results obtained were identical to those observed by the SNAP during the days of analysis. Chemical residues were detected in the milk of cows treated with different groups of antibiotics after the grace period indicated in the package inserts of the medicines used. Losses were observed for the industry and for the producer, caused by the discarding of the milk with the presence of residues of antibiotics.

Key words: lactating cows, antibiotic, ceftiofur, chemical waste

INTRODUÇÃO GERAL

O leite para ser produzido com qualidade exigida pelo mercado, necessita de critérios, como implementação de programas de melhoria da qualidade higiênica, porém, o conhecimento técnico dos produtores de leite sobre as causas, prejuízos e medidas de controle de qualidade são deficientes em alguns pontos, sendo carente de informações técnicas seguras e confiáveis. Este tipo de avaliação deve ser regionalizado para auxiliar na determinação da forma que novos conhecimentos podem ser apresentados aos produtores, buscando um referencial de avaliação de mudanças no conhecimento e sensibilização dos produtores frente a novos conceitos (MCLEOD 2008). O leite além de ser um alimento rico em nutrientes, deve ser uma matéria-prima de boa qualidade. Qualquer indústria quer um produto de boa qualidade, porém, tem que se considerar os aspectos de segurança alimentar, pois muitos patógenos causadores de doenças no rebanho, oferecem riscos ao consumidor de leite e derivados (VASCONCELOS & ITO, 2011).

Os resíduos químicos são compostos parentais e/ou metabolitos de substâncias químicas rotineiramente utilizados em concentrações prescritas e em certas fases da produção animal. Os resíduos de antibióticos são as substâncias inibitórias artificiais mais comuns no leite de vaca com impacto negativo na saúde humana, processamento e qualidade do leite (WHO/FAO, 2009).

Estudos sobre qualidade do leite, incluem uma gama de conceitos, envolvem as proporções dos constituintes químicos e propriedades sensoriais, presença ou ausência de germes patogênicos, bem como substâncias exógenas, que podem afetar a saúde dos consumidores. Um aspecto de suma importância é a presença de resíduos de antibióticos que podem impedir a fermentação envolvida na produção de iogurtes e queijos (ROGISTER et al., 2002).

A propagação da resistência aos antibióticos tornou-se uma ameaça global à saúde. A incidência de resíduos de antibióticos no leite produzido no Brasil, pode ser considerada preocupante, e indica presença de perigo químico associado a esses produtos, dessa forma, estudos que determinem quais são essas substâncias e concentrações, são relevantes para se estabelecerem políticas de segurança alimentar e controle de resíduos químicos no leite e derivados (NERO et al., 2007).

A resistência aos antibióticos é uma preocupação global de saúde pública. Os Centros dos EUA para Controle e Prevenção de Desempenho descreveram a resistência como um dos problemas de saúde mais urgentes do mundo, porque o número de bactérias resistentes aos antibióticos aumentou na última descoberta e muitas infecções bacterianas estão se tornando resistentes ao tratamento mais comumente prescrito. A OMS identificou a resistência aos antibióticos como uma das três maiores ameaças à saúde humana (MUHAMMAD, 2015).

Vários métodos têm sido descritos na literatura para detecção de substâncias antimicrobianas no leite. Estes diferem na sensibilidade, implementação e custo. O controle de resíduos de antibióticos no leite pode ser verificado após o uso de método qualitativo, tais como métodos de rastreio microbiológico e testes imunológicos, mas também com o uso de teste quantitativo como os métodos analíticos (PERICAS et al., 2010). Portanto, pesquisas que determinem quais são essas substâncias e concentrações são de grande valia para se estabelecerem políticas de controle desses resíduos no leite (SILVA et al., 2014).

No estudo realizado, priorizou-se o grupo de antibióticos betalactâmicos e tetraciclina, uma vez que são amplamente utilizados em terapia para infecções bacterianas em bovinos, particularmente para o tratamento da mastite. Dessa forma, objetivou-se avaliar o residual de antibiótico à base de penicilina, oxitetraciclina, ceftiofur e enrofloxacin no leite de animais através do kit IDEXX SNAP duo* ST Plus Test[®]. Foi avaliado a qualidade do leite dos animais tratados com estes antibióticos e realizado estudo da incidência de resíduos de antibióticos em indústria de laticínios do sudoeste goiano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F. ; FRANCO, B. D. G. M. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 391- 393, 2007.

PERICAS C C., MAQUIEIRA A., PUCHADES R. Fast methods to detect antibiotic residues in food samples . **Trends in Analytical Chemistry**, Vol 29 (9), pp 1038 - 1049. 2010.

ROGISTER G M. (2002). « Hormones, substances anabolisantes et résidus de traitements vétérinaires en relation avec la sécurité alimentaire » in Sécurité alimentaire du consommateur, 2 Edition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris.

SILVA, D. P.; SILVA, A. D. P.; MELO, J. D. D. G.; SCHEIDT, G. N.; SILVA, A. L. L.; Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite de células de refrigeração da região sul do Estado Do Pará-Brasil. **Revista Agrotecnologia**, 4(2), 99-117. 2014.

VASCONCELOS S.A & ITO F.H. Principais zoonoses transmitidas pelo leite. **Ver. Educ. Contin. Med. Vet. Zootec.** 9(1):32-37. 2011.

WHO/FAO. Glossary of terms. In: Barlow S, Renwick A, (eds.). Principles and methods of the risk assessment for chemicals in food. Geneva: WHO; 2009.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a persistência de resíduos de antibióticos pelo kit enzimático SNAP ST PLUS em animais tratados com antibióticos das classes betalactâmicos, tetraciclina e quinolona; analisar a composição química e qualidade do leite dos animais e avaliar os prejuízos causados para a indústria láctea e para o produtor com o descarte de leite de animais tratados com antibiótico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o resíduo de antibiótico no leite de animais tratados com antibiótico das classes betalactâmicos (penicilina e ceftiofur), tetraciclina (oxitetraciclina) e quinolona (enrofloxacina);

Analisar a composição química e qualidade do leite desses animais;

Verificar a diluição do residual de antibiótico em animais tratados com antibióticos considerados de descarte zero;

Mensurar as perdas por descarte de leite contaminado com resíduos de antibiótico por produtores e por uma indústria de laticínios.

REVISÃO DA LITERATURA

Qualidade do Leite

O leite é um dos produtos mais importantes da agropecuária brasileira, está classificado como os seis principais produtos do agronegócio, ficando à frente de produtos tradicionais como café beneficiado e arroz (PACHECO et al., 2012).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a pecuária bovina é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro, e conseqüentemente, da economia nacional (BRASIL, 2014). O mercado do leite e derivados desempenha papel importante no suprimento de alimentos no Brasil e no mundo, na geração de emprego e renda para a população. O Brasil possui mais de 1,1 milhão de propriedades na atividade leiteira, ocupando diretamente 3,5 milhões de pessoas (PACHECO et al., 2012).

Em 2002, foi implantada a Instrução Normativa (IN) n. 51 com os requisitos necessários para produção de leite de qualidade. A cadeia do leite sofreu muitas transformações, no entanto, a qualidade do leite ainda não apresenta padrões de excelência internacionais, como reportado por Souza et al. (2008) e Cassoli et al. (2008) nas diferentes regiões do Brasil, apontando preocupação com a qualidade do leite no que se refere à contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT).

Em janeiro de 2012, a IN n. 51 foi revogada, passando a valer a IN n. 62/2011 para qualidade do leite cru refrigerado (BRASIL, 2011). O Quadro 1 apresenta os requisitos físico-químicos estabelecidos pela IN n. 62. Também foram estabelecidos novos prazos para implantação de limites legais da CCS e CBT do leite cru (Quadro 2).

Em maio de 2016, foi publicada a IN n. 7 sobre o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e Transporte a Granel, que passou a vigorar com a prorrogação dos níveis estabelecidos pela IN n. 62, para níveis de CCS e CBT de 01/07/2017 para 01/07/2018 para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste.

Em 15 de julho de 2011 foi publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a Instrução Normativa nº 34, que estabelece a obrigatoriedade de acreditação, junto ao INMETRO, na norma ABNT NBR ISO/IEC 17.025 - Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração, para os ensaios realizados pelos laboratórios pertencentes à Rede Brasileira de Laboratórios de

Controle da Qualidade do Leite (RBQL) já credenciados no MAPA.

QUADRO 1 - Requisitos mínimos de indicadores da qualidade do leite para recebimento do leite refrigerado por estabelecimentos processadores de leite no Brasil.

Requisitos	Parâmetros
Gordura (%)	Mínimo 3,0
Acidez titulável (g ácido láctico/100 mL)	0,14 a 0,18
Densidade à 15/15°C (g/mL)	1,028 a 1,034
Índice crioscópico	-0,530°H a -0,550°H (equivalentes a -0,512°C e -0,531°C, respectivamente)
Sólidos não gordurosos (%)	Mínimo 8,4
Proteína total (%)	Mínimo 2,9
Alizarol 72% (v/v)	Estável
Resíduos químicos - Antibióticos	Ausência total

Fonte: Adaptado de Brasil, (2011).

QUADRO 2 - Limites máximos da contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS) do leite de tanques de expansão (propriedades ou tanque comunitário) estabelecidos pela Instrução Normativa n. 62 de 2011.

Sul, Sudeste e Centro-Oeste Norte e Nordeste	Até 31/12/2011	Até 30/06/2014	Até 30/06/2016	01/07/2016 01/07/2017
	Até 31/12/2012	Até 30/06/2015	Até 30/06/2017	
CBT (UFC/mL)	$7,5 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
CCS ¹ (CS/mL)	$7,5 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$

¹Uma análise mensal com média geométrica dos últimos três meses. Fonte: Brasil, (2011). UFC = unidades formadoras de colônia. CS = células somáticas.

A qualidade do leite destinado ao consumo humano tem despertado atenção e preocupação de pesquisadores, tendo em vista que assume aspecto nutricional de grande importância econômico-social em todas as classes e faixas etárias da população, e sendo ainda um alimento que envolve bastante destaque na área da saúde pública. A qualidade e segurança dos alimentos devem ser referências na indústria de laticínios, já que são essenciais à saúde do consumidor (MELO, 2013).

O controle sanitário do leite é essencial para segurança do alimento e para que não haja riscos de contaminação. Quando recebido na plataforma de recepção deve ser analisado de forma idônea e deve estar em cumprimento com normas regulamentadoras que determinam os padrões de identidade e qualidade do leite *in natura*, além disso, não deve apresentar resíduos de antibióticos, deve possuir contagens mínimas de CCS e CBT e não apresentar nenhum tipo de fraude na composição (MARCÍLIO, 2008).

Para obtenção de leite de qualidade, faz-se necessário manejo sanitário adequado, com medidas de prevenção e controle de doenças do rebanho leiteiro, rotina de ordenha bem controlada e higienização realizada de maneira correta dos utensílios e equipamentos utilizados no processo. Entre outros fatores que contribuem para evitar a contaminação do leite na propriedade rural, Portela et al., 2014, como mastite, higiene, nível tecnológico empregado, resíduos de antibióticos, água, sanidade animal, alimentação, genética, armazenamento do leite na propriedade e transporte do produto da propriedade até a indústria (MALACARNE et al., 2016).

Outro fator importante para qualidade final dos produtos lácteos é a contaminação inicial do leite cru, visto que alguns microrganismos podem dobrar a população a cada 20 ou 30 minutos (GUERREIRO et al., 2005). A contaminação inicial do leite pode ser consequência de deficiências no manejo e higiene da ordenha, manutenção e desinfecção inadequadas dos equipamentos, refrigeração ineficiente e mão de obra desqualificada (VALLIN et al., 2009).

A entrada em vigor de novas legislações de qualidade do leite cru (IN 51 e IN 62) demandou por parte dos produtores a estocagem e refrigeração do leite cru na própria fazenda. Pinto et al., 2006 comentou que o resfriamento do leite na propriedade e transporte granelizado em caminhões isotérmicos inibem o crescimento bacteriano, diminuindo perdas econômicas com acidificação e prolongando o armazenamento do leite na propriedade, desta forma, evita-se perda de qualidade e reduz custos com transporte.

A qualidade é uma exigência do consumidor mundial, os níveis de produção levaram à contínua evolução da fabricação com padrão de qualidade superior. Assunto esse, que passou a ser global, sendo que a rotina do serviço prestado pelas indústrias passou a ser monitorada diariamente. Não se pode atender à exigência do consumidor de acordo com a qualidade necessária sem se falar em padronização de nível de produção, e isso atende consumidores nacionais e internacionais. Com essas exigências de desenvolvimento na produção com padrões, surgem as normas da série ISO 9000 que formam um conjunto de padrões mundiais que estabelecem exigências para o funcionamento do sistema de gestão da qualidade das empresas (ISO, 9000).

Os padrões de exigências são assuntos prioritários para as indústrias, sendo essas as maiores interessadas já que a qualidade do leite está ligada diretamente a qualidade de produtos, uma vez que a matéria-prima de má qualidade que chega até as plataformas das indústrias, acarreta em aumento de custos e perdas no processamento, diminuição

do shelf life (vida de prateleira) dos produtos lácteos e em alguns casos afetando a exportação já que está associada diretamente à saúde pública.

Os programas de pagamento por qualidade do leite cru das indústrias nacionais são baseados em indicadores de qualidade adotados por países com pecuária leiteira desenvolvida e em desenvolvimento, alterando apenas os critérios de gratificação e penalização (IDF, 2006). Com o intuito de promover os programas de pagamento por qualidade, a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) procura orientar grupos de produtores de leite no estabelecimento de parâmetros para colocar em prática indicadores de qualidade do leite (DRAAIYER, 2009).

O leite é fonte de nutrientes, como proteínas, destacando-se gordura e minerais, porém, esses nutrientes são excelente meio de cultura para bactérias, e, por este motivo, deve ser refrigerado imediatamente após a ordenha, até o momento do transporte para a indústria (MARTINS et al., 2008). Medidas como o resfriamento do leite logo após a ordenha e a coleta granelizada, são importantes para reduzir a multiplicação de bactérias e garantir a qualidade do leite (SILVA et al., 2009). No entanto, essas medidas não são suficientes para mantê-lo com baixa contagem bacteriana, pois a contaminação do leite pode ter origem na própria glândula mamária de vacas com mastite, na pele dos tetos (lama, esterco e contaminação ambiental), contato com as mãos dos ordenhadores, limpeza deficiente dos equipamentos de ordenha, bem como na água utilizada durante as diversas etapas do manejo de ordenha (KELLY et al., 2009).

Dados publicados pela Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL) em 2012, quando 2,8 milhões de amostras de leite no Brasil foram analisadas, 71% apresentaram CCS abaixo dos limites de 600 mil CS/mL e apenas 60% das amostras apresentaram resultado de CBT abaixo de 600 mil UFC/mL (limites estabelecidos até junho de 2014 nas regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste). No entanto, somente 48% e 29% das amostras estariam em conformidade com os limites de 400 mil CS/mL para CCS e 100 mil UFC/mL para CBT, estabelecidos pela IN 62 (BRASIL, 2011) para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste em 2016 e para as regiões Norte e Nordeste em 2017 (SANTOS, 2013).

Um dos componentes do leite mais sujeitos a variações é o teor de gordura, e variações nos teores de proteína são determinantes do rendimento industrial (LINDMARK-MANSSON et al., 2003). De acordo com Reis et al. (2003) estão incluídos nessas variações fatores ambientais e de manejo, especialmente relacionados à nutrição, além de fatores genéticos. Assim como a CCS, a CBT influencia

negativamente os constituintes do leite, afetando a composição química e reduzindo o rendimento no processamento do leite.

Os procedimentos de limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha estão relacionados diretamente com a CBT do leite. A contaminação por bactérias psicrotróficas no leite do tanque e CCS nas linhas do equipamento de ordenha foram correlacionadas com a temperatura das soluções detergentes e de enxágue (BAVA et al., 2011). Os autores concluíram que a inspeção e adequação da temperatura da água durante a limpeza dos equipamentos pode ser uma medida simples e efetiva no controle dos fatores de risco para a qualidade higiênica do leite informal refrigerado.

Ainda há comercialização de leite sem inspeção sanitária, no Brasil, estima-se que cerca de 20% a 30% da produção de leite não tem o tratamento térmico adequado (VIANNA, 2009). Esse tipo de produto é denominado “leite informal” e é comercializado em utensílios plásticos ou de vidro elaborados para armazenar outros produtos, como refrigerantes por exemplo.

Apesar da irregularidade na comercialização do leite informal, são escassas as informações sobre a presença de microrganismos, toxinas, resíduos de antimicrobianos, contagens bacterianas totais e de células somáticas (CS), bem como dos constituintes nutricionais e físico-químicos (VIDAL-MARTINS et al. 2013). A ausência de informações de qualidade expõe a população ao consumo de leite com baixa qualidade, riscos de reações orgânicas indesejáveis, além de veicularem toxinas e microrganismos com potencial zoonótico (VASCONCELOS & ITTO 2011).

O crescimento bacteriano produz enzimas que causam alterações físico-químicas no leite, resultando em perdas na qualidade, gerando conseqüentemente, perdas econômicas pela queda no rendimento industrial, problemas no processamento, produção de derivados lácteos mais instáveis, de pior qualidade e com menor shelf life (VINHOLIS & BRANDÃO, 2009). Além disso, o rápido crescimento bacteriano pode produzir toxinas bacterianas termoestáveis, frequentemente associadas a surtos de toxinfecção alimentar (FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004).

Um dos problemas mais graves são as diversas fraudes que causam prejuízos econômicos, riscos à saúde dos consumidores e, às vezes, problemas para as indústrias, como diminuição do rendimento industrial. Muitos alimentos estão sujeitos às fraudes, mas o leite é um dos mais comumente fraudados por água (MOORE et al., 2012).

Antibióticos são usados para tratar infecções bacterianas. O uso indevido de diferentes classes de antibióticos provoca resistência bacteriana contra doenças

infecciosas tanto humanas como animais. Sabe-se que entre todos os antibióticos, alguns são aplicados através da glândula mamária, tanto em humanos como animais. O uso generalizado de antibióticos no manejo de gado leiteiro pode resultar na presença de resíduos de antibióticos no leite. O consumo de leite com tais níveis de resíduos de antibióticos por seres humanos predispõe os a efeitos graves para a saúde. Em um estudo realizado, foi analisado quais antibióticos são frequentemente utilizados para tratamento de animais em lactação e que deixam resíduos no leite, foi também avaliado a quantidade desse resíduo para assegurar a saúde dos consumidores em relação à ingestão de resíduos químicos (HOSEN et al., 2010).

Antibiótico

As modernas operações de alimentação animal em escala industrial dependem amplamente de veterinária farmacêutica, incluindo antibióticos, para estimular o crescimento animal. Após a excreção, os antibióticos são transportados pelo meio ambiente através de escoamento, lixiviação e aplicação de adubação (ANDREW et al., 2015).

A Instrução Normativa nº 42, publicada em 1999 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999), estabelece os Limites Máximos de Resíduos (LMR) em vigor no Brasil e altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR, em que está inserido o Programa de Controle de Resíduos em Leite - PCRL. O PNCR foi instituído pela Portaria Ministerial nº. 51, de 06 de maio de 1986 e adequado pela Portaria Ministerial nº. 527, de 15 de agosto de 1995. O Quadro 1 mostra os valores estabelecidos para os LMR pelo *Codex Alimentarius*, pela União Europeia (UE) e Brasil, e os valores de tolerância estabelecidos pelos Estados Unidos (EUA). No quadro 3, é possível observar as classes e LMR permitidos de acordo com o *Codex Alimentarius*.

Resíduos de medicamentos no leite, são de suma relevância, em destaque os de antibióticos são de grande preocupação para produtores de leite, processadores, consumidores e agências reguladoras. Para garantir segurança alimentar dos consumidores, várias autoridades reguladoras em todo o mundo, incluindo a *National Agency for Food and Drug Administration and Control* (NAFDAC) - Agência Nacional de Administração e Controle de Alimentos e Medicamentos, European Food Safety

Authority (EFSA) Agência Europeia de Segurança Alimentar, *Food and Drug Administration* (FDA) e Estados Unidos da América - *USA Codex Alimentarius*, estabeleceram tolerância, de níveis seguros de resíduos de antibióticos no leite para proteção ao consumidor (ADEWUYI et al., 2011).

QUADRO 3 - Limites máximos de resíduos antimicrobianos no leite (LMR) em µg/kg ou partes por bilhões (ppb).

Grupo/Substância	Brasil	LMR Codex	LMR UE	EUA
<i>BetaLactamicos:</i>				
Penicilina	4	4	4	5
Ampicilna	4	-	4	10
Amoxicilina	4	-	4	10
Cloxacilina	-	-	30	10
Ceftiofur	100	100	100	50
<i>Tetraciclinas:</i>				
Tetraciclina	100	100	100	300
Oxitetraciclina	100	100	100	300
Clortetraciclina	100	100	100	300
<i>Macrolídeos:</i>				
Eritromicina	40	-	40	50
Tilosina	-	100	50	50
<i>Aminoglicosídeos:</i>				
Estreptomicina	200	200	200	125
Neomicina	500	1500	500	150
Gentamicina	-	200	100	30
<i>Sulfonamidas:</i>				
Sulfametazina	100	-	-	10
Sulfadimetoxina	100	-	-	10
Sulfatiazol	100	-	-	10
Sulfadimidina	-	25	-	10
<i>Outros:</i>				
Cloranfenicol	-	-	0	0
Trimetropim	-	-	50	-

Fonte: adaptado de Brasil (1999) - *Codex Alimentarius* (2011).

A pesquisa de fraudes é obrigatória somente para leite cru (BRASIL, 2011) e se houver falhas no controle realizado pela indústria, a falta de determinação legal para leite pasteurizado ou UAT expõe o consumidor ao produto adulterado. No Rio Grande do Sul, duas indústrias de laticínios foram investigadas por fraude no leite pasteurizado, requeijão e leite UAT (CARNEIRO, 2014).

Os antibióticos são substâncias produzidas naturalmente por organismos vivos ou produzidas sinteticamente em laboratório e são capazes de eliminar ou inibir o crescimento de microrganismos. Podem ser classificados de acordo com os efeitos,

como bactericidas ou bacteriostáticos. O uso de antibióticos em animais logo seguiu o uso em seres humanos, com a finalidade de prevenção de doença e tratamento. As drogas antimicrobianas são usadas para controlar, eliminar, e tratar infecções, porém também podem ser utilizadas para estimular o crescimento animal e melhorar a eficiência alimentar (TOLLEFSON & MILLER, 2000).

Os fármacos antimicrobianos comumente utilizados, particularmente os antibióticos no nível da fazenda, são de grupos variados. Incluem os beta-lactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos e sulfonamidas, dentre estes, as penicilinas e tetraciclina (BUKUKU, 2013). Esses antibióticos podem ser usados isoladamente ou às vezes em combinação ao tratar os animais. Estudos foram realizados na Tanzânia (KATAKWEBA et al., 2012) e no Quênia (SHITANDI, 2004) e revelaram que esses antibióticos são amplamente utilizados para o tratamento de diferentes doenças do rebanho leiteiro.

O uso incorreto de antibióticos utilizados em animais pode gerar resíduos de antimicrobianos no leite, devido ao não cumprimento de indicação de receituário e tempo de eliminação do medicamento, bem como adição destes na alimentação animal ou até mesmo quando as boas práticas de produção não são atendidas. A mastite é a causa principal de resíduos de antibióticos em leite (BANSAL et al., 2011).

Resíduos de medicamentos, como os antibióticos, que vão para o leite, pode estar relacionado à alimentação do animal, que também podem conter aditivos para o crescimento, ou relacionados a alta dose de medicamento aplicado, que em excesso pode se tornar tóxico ou aumentar o tempo para ser totalmente excretado do organismo do animal, por exemplo, em vacas lactantes uma dose alta de antibióticos seria necessário um tempo de espera maior para a ordenha, até que todo medicamento seja eliminado pelo organismo, frequentemente os pecuaristas obedecem essa restrição, o que acarretará em leite com resíduos do medicamento, isso ocorre pois, sabe-se que o leite é uma das vias de secreção do animal (NASCIMENTO, 2001).

Os antibióticos possuem característica de resistência térmica variável e mesmo quando submetidos a tratamentos térmicos na faixa de 72°C a 75°C/15 a 20 segundos, como pasteurização, fervura ou até mesmo tratamento a ultra alta temperatura (UAT) a 130°C a 140°C por 4 segundos não inativam os resíduos de antimicrobianos supostamente presentes no leite.

A introdução de antibióticos no campo veterinário começou logo após o uso de antibióticos para o tratamento de doenças bacterianas em seres humanos, na década de

1930. O principal uso de antibióticos na criação de animais foi para o tratamento e prevenção de doenças. De fato, os antibióticos têm sido utilizados para o tratamento de várias infecções, como: mastite, artrite, doenças respiratórias e infecções gastrointestinais (MOORE et al., 2012).

Os resíduos de antibióticos no leite que é utilizado para produzir produtos fermentados, pode interferir no processo de fermentação, afetando as bactérias do ácido láctico. Normalmente, trata-se apenas de problema técnico que resulta em perdas financeiras, mas, quando ocorre, os agentes patogênicos presentes no leite podem crescer e representar perigo para a saúde, mais tarde. Por estas razões, muitos países têm regulamentos que proíbem a venda do leite de vacas que estão sendo tratadas para a mastite e o leite é testado rotineiramente para a presença de resíduos do antibiótico (SOBHY et al., 2013).

Os resíduos antimicrobianos são atualmente as substâncias inibitórias mais comuns detectadas no leite e podem ter efeitos indesejáveis sobre a qualidade do leite, propriedades tecnológicas, qualidade dos produtos lácteos e, por fim, a saúde humana (ZHAN et al., 2012).

A importância do monitoramento de resíduos antimicrobianos no leite é enfatizado pelo papel do leite e produtos lácteos na nutrição humana. A União Europeia (UE) estabeleceu Limites Máximos de Resíduos (LMR) seguros para substâncias farmacologicamente ativas em gêneros alimentícios de origem animal (COMISSÃO EUROPEIA, 2010).

O Regulamento Europeu nº 178/2002/UE (Comissão Europeia, 2002) afirma que na UE os operadores das empresas do setor alimentar, são responsáveis legais pela garantia da segurança alimentar, e, é geralmente reconhecido que os produtores são conhecedores e coresponsáveis na produção de matéria-prima segura.

Vários métodos são utilizados para detecção de resíduos de antibióticos em leite refrigerado, dentre estes, tem-se testes inibidores de crescimento microbiano, testes imunológicos, testes receptores e enzimáticos, e ainda alguns testes especiais (PHILPOT, 2000).

Os programas de segurança alimentar, como o controle e monitoramento da presença de resíduos de antimicrobianos veterinários no leite e derivados é primordial dentre os programas de segurança nas fábricas de laticínios, pois, existe grande número de diferentes compostos e formulações comerciais. O conhecimento das substâncias antimicrobianas mais utilizadas em explorações leiteiras servirá para escolher testes de

rastreio apropriados para detectar resíduos de antimicrobianos no leite (VRAGOVIĆ et al., 2011).

Porém, existem enormes falhas na implementação porque a avaliação técnica de uma aplicação de marketing é limitada apenas ao procedimento administrativo, a informação dada ao produtor sobre o produto, pode ser falha por falta de conhecimento técnico do vendedor ou por negligência das informações necessárias. Esses países não possuem ferramentas de controle científico efetivas para garantir a validade dos dados fornecidos pelo requerente. Além disso, os procedimentos não abrangem todas as especialidades veterinárias comercializadas nesses países (MENSAH, 2014).

Pequenos níveis de antibióticos podem ser muito perigosos para seres humanos suscetíveis, causando severos efeitos. Em relação aos riscos associados aos resíduos de antibióticos, é necessário desenvolver programas de garantia de qualidade para resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal. O uso de método químico como cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração (HPLC) permite quantificar e identificar antibióticos no consumo de carne. (SAMANDOULOGOU et al., 2015).

Foram encontrados resíduos de antibióticos em amostras de leite *in natura*. Isso pode ser explicado pelo uso intenso e indevido de medicamentos veterinários, bem como a falha no respeito do período entre a administração do antibiótico ao animal e a coleta de leite. Para resolver esta situação, devem ser aplicadas medidas, tais como: boas práticas veterinárias, cumprimento do tempo de descarte do leite antes do destino do mesmo para a indústria. Finalmente em outros estudos espera-se identificar resíduos de antibióticos no leite, utilizando a combinação de duas técnicas: o método microbiológico com difusão em ágar e o método analítico (cromatografia líquida de alta eficiência) para determinar não apenas o tipo de resíduos de antibióticos utilizados mas também a concentração no leite coletado (TITOUICHE et al., 2013).

Uma vez que o consumidor ficou mais acessível as informações sobre a fabricação dos produtos, as pessoas estão agora mais atentas à qualidade dos alimentos que consomem, incluindo os produtos lácteos. Portanto, o controle efetivo é necessário para assegurar a qualidade do leite e produtos lácteos como alimentos saudáveis essenciais. Se os antimicrobianos forem mal aplicados no rebanho, sem monitorar as recomendações de segurança, as restituições de antibióticos podem afetar o leite e leite em pó. Vários métodos de seleção podem ser usados para detecção de resíduos de antibióticos no leite e derivados em fábricas de laticínios (NOORI et al., 2013).

O uso de antibióticos para o tratamento de mastite clínica apresentou ser mais frequente em rebanhos com alta CCS, a mastite é uma doença causada por diferentes microrganismos e, por este motivo, apresenta difícil controle (OLIVER & MURINDA, 2012). É caracterizada pela presença de grumos ou secreções anormais no leite com ou sem sintomas de inflamação local ou sistêmica (BARLOW, 2011).

O leite fora do padrão de qualidade não pode ser comercializado, desta forma, o tratamento com antibióticos deve ser realizado imediatamente após o aparecimento dos sintomas, com o objetivo de reduzir ou eliminar os sinais clínicos. Outro objetivo do tratamento da mastite é obter a cura bacteriológica, ou seja, a eliminação do patógeno do quarto mamário infectado após o tratamento (PINZÓN- SANCHEZ & RUEGG, 2011).

Penicilina

A penicilina foi descoberta por Alexander Fleming em 1928 como coproduto do *Penicillium notatum*, que deu origem ao nome do medicamento. Possui anel beta-lactâmico fundido a anel sulfúrico com cinco membros contendo tiazolidina. Uma modificação na posição seis da cadeia lateral do anel beta-lactâmico resulta em drogas com diferentes propriedades antibacterianas e farmacológicas (PAMVET, 2009).

Penicilinas e cefalosporinas são polipeptídeos que apresentam anel beta-lactâmico. As penicilinas derivam do ácido 6-amino-penicilinâmico e as cefalosporinas do ácido 7-amino-cefalosporinâmico. Ambas atuam impedindo a formação da parede celular, interferindo na síntese de peptidoglicano do microrganismo em fase de crescimento logarítmico, sendo, portanto, bactericida. Estas agem inibindo a transpeptidase, enzima que participa da última etapa da síntese da parede celular (PRESCOTT, 2006).

A penicilina tem alta eficiência, pois inibe fortemente as bactérias do ácido láctico e pode desencadear choque anafilático em pacientes involuntariamente sensíveis a quem foi administrado anteriormente. Outros antibióticos podem causar reações semelhantes, mas evidências indicam que a penicilina é uma grande preocupação. Sugeriu-se que o presente limite recomendado de 0,05 UI de penicilina/mL no leite é muito alto e não oferece garantia de segurança (SWANTARA et al., 2014).

Os antibióticos beta-lactâmicos (ampicilina, amoxicilina, cefazolina, oxacilina, dicloxacilina, nafcilina, cloxacilina, penicilina G, penicilina V) são largamente

utilizados no tratamento de mastite em vacas leiteiras, mas seu uso também é comum no rebanho bovino de corte, em suínos e em aves (Bogialli, 2009). Nessa última espécie também são utilizados para tratar infecções respiratórias e artrites ou como aditivo alimentar para preveni-las. São rapidamente excretados do sangue por via renal, e eliminados em sua maior parte no leite, na urina, embora possam ser encontrados em pequena quantidade também na bile e nas fezes (DOYLE, 2006).

A manipulação das substâncias deste grupo necessita de algumas precauções, pois os beta-lactâmicos são bastante solúveis em água e apresentam, na sua estrutura, anéis instáveis de quatro membros que promovem degradação da molécula por aquecimento e isomerização em meio ácido (Bogialli, 2009). Em virtude dessas particularidades a otimização dos procedimentos de extração e purificação para estes analitos deve ser realizada com as condições bem controladas para que não ocorra degradação dos mesmos.

Ceftiofur

A primeira cefalosporina foi descoberta em 1945, por Giuseppe Botzu, a partir de *Cephalosporium acremonium*. Possuem anel beta-lactâmico ligado a um anel de dihidrothiazina de seis componentes contendo enxofre. O núcleo é mais resistente à ação de muitas enzimas bacterianas, propriedade que explica o amplo espectro de ação (PAMVET, 2009).

As cefalosporinas provêm do fungo *Cephalosporium acremonium* e apresentam mecanismo de ação semelhante ao das penicilinas, por impedirem a síntese da parede celular do microrganismo. Há disponibilidade de mais de 20 cefalosporinas que podem ser classificadas em gerações, segundo características e ordem cronológica de sua síntese e, atualmente, quatro gerações estão disponíveis no comércio (ITO et al., 2005).

As cefalosporinas são classificadas como de primeira, segunda, terceira e quarta gerações, com base nas características gerais de sua atividade antibacteriana (KOROLKOVAS, 2006). O Ceftiofur está descrito no THE INDEX MERCK (2001), é uma cefalosporina de terceira geração de uso exclusivo em medicina veterinária, apresentando estrutura molecular que lhe proporciona espectro de atividade contra patógenos gram-positivos e gram-negativos, incluindo os resistentes a outros antibióticos.

Em 1991, o FDA aprovou o ceftiofur para uso em vacas leiteiras e para o tratamento de infecções respiratórias em suínos associadas com *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Salmonella cholerasuis* e *Streptococcus suis* (FDA, 1991). Atualmente o ceftiofur sódico também está indicado para ser utilizado em aves, equinos, cães e gatos (FDA, 1999).

O ceftiofur é um dos fármacos comumente usados em fazendas leiteiras, principalmente no tratamento de infecções respiratórias e mastite, tanto em vaca seca, como em lactação. É comercializado com várias denominações com apelo de descarte zero em leite, podendo esse, ser metabolizado resultando em metabólitos diferentes da molécula primária. É de amplo espectro, incluindo as cepas produtoras de β -lactamase. É rapidamente metabolizado formando vários metabólitos, sendo o principal destes o desfuroilceftiofur (ANVISA 2009).

Ceftiofur é a única cefalosporina de terceira geração aprovada para uso em bovinos nos Estados Unidos e atualmente está rotulada para tratamento de pneumonia bovina, necrobacilose interdigital, metrite aguda e mastite (PETRI, 2011).

Um estudo mostrou a eficácia terapêutica de ceftiofur com alta dose para tratamento de salmonelose induzida experimentalmente em bezerros recém-nascidos. Houve redução da infecção nos bezerros tratados em comparação com o grupo não medicado. Concluiu-se que o uso de ceftiofur pode aumentar a depuração das salmonelas e também aumentar o bem-estar dos animais, reduzindo a concentração de salmonela no bolo fecal (FECTEAU et al., 2003).

O efeito da idade sobre a farmacocinética do ceftiofur sódico foi estudado por Brown et al. (1996), foram formados dois grupos, o grupo I composto por dezesseis bezerros Holstein de um dia e 14 bezerros Holstein Stear, de seis meses de idade alocados no grupo II. Uma dose de 2,2 mg/kg de ceftiofur sódico foi avaliada em animais de dois grupos etários diferentes. As amostras de sangue foram coletadas e a concentração plasmática de ceftiofur foi determinada como desfuroilceftiofur acetamida (DCA) por HPLC. Concluiu-se que o ceftiofur sódico na dose aprovada de 1,1 a 2,2 mg/kg pode fornecer concentração plasmática mais baixa por um período de tempo mais longo em recém-nascidos em comparação com bezerros mais velhos.

Tetraciclina

As tetraciclina são antibióticos de largo espectro. Atuam sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas, clamídias, riquetsias e protozoários como *Plasmodium falciparum*, *Trichomonas* spp., *Entamoeba coli* e *Giardia lamblia*. Estes antibióticos podem ocasionalmente se ligar a subunidade de ribossoma dos animais superiores, o que explica reações adversas como náusea, vômito, diarreia, quando administrado via oral, e dor local, por via intramuscular (GIGUÈRE, 2006).

As tetraciclina possuem propriedades favoráveis, tais como amplo espectro de ação e baixa toxicidade. Devido a essas propriedades, tem ocorrido o uso indiscriminado desses fármacos, e conseqüentemente, a resistência bacteriana à esses fármacos (MACHADO et al., 2009).

A base estrutural das quinolonas é o anel 4-quinolona que tem sido modificado na tentativa de obter aumento no espectro da droga que age inibindo as topoisomerasas bacterianas do tipo II (DNA girase), impedindo o enrolamento da hélice de DNA. A introdução de quinolona fluorada representa progresso terapêutico, pois estas drogas são dotadas de amplo espectro de ação (MANDELL & PETRI JR., 1997).

Além dos efeitos tóxicos comumente causados por resíduos de antimicrobianos, as tetraciclina também são capazes de interferir na reabsorção de cálcio, comprometendo o desenvolvimento ósseo de crianças (ANVISA 2009).

As tetraciclina, incluindo tetraciclina, oxitetraciclina e clorotetraciclina são antibióticos de amplo espectro amplamente utilizados na pecuária para prevenção e tratamento de doenças e aditivos alimentares para promover o crescimento. As tetraciclina podem ser administradas oralmente através de ração ou água potável, por via parentérica ou por infusão intramamária (ABBASI et al., 2011).

Estes antibióticos podem ocasionar reações alérgicas em humanos, comprometer o desenvolvimento ósseo de crianças, interferir na reabsorção de cálcio pelos ossos, além de provocar alterações na dentição. São ainda pouco absorvidas no trato gastrointestinal, e permanecem em altas concentrações interferindo na microbiota intestinal (PAMVET, 2009).

As tetraciclina presentes no leite podem potencialmente manchar os dentes de crianças pequenas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO) estabeleceram normas para a ingestão diária aceitável e os teores máximos de resíduos a fim de proteger os seres humanos contra efeitos

nocivos dos resíduos de drogas no leite. A OMS, a União Europeia (UE) e o Ministério da Agricultura da China estabeleceram LMR de 100 ng/g para tetraciclina e oxitetraciclina. O LMR aceitável para tetraciclinas (isoladamente ou em combinação), conforme recomendado, é o limite máximo de 300 ng/g para resíduos totais de tetraciclinas. Pelo Comitê Misto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares é de 100 ng/g para o leite bovino (NAVRATILOVA et al., 2008).

A associação de vários kits de teste rápido comercialmente disponíveis mostrou-se satisfatória para determinação dos antimicrobianos veterinários mais utilizados, mas pelo menos três kits são necessários. Para determinação de substâncias antimicrobianas menos frequentemente utilizadas são necessários mais dois kits de teste. Um plano de controle eficaz para evitar a presença de resíduos de fármacos veterinários requer monitoração frequente do leite e utilização de vários kits de teste, que tornam o teste antimicrobiano caro e demorado. Resultados mostram que as classes antimicrobianas mais comumente utilizadas em fazendas leiteiras são as mesmas que as mais frequentemente detectadas como resíduos no leite (SERRAINO et al., 2013).

Enrofloxacina

As quinolonas e fluoroquinolonas são antibióticos, derivados do ácido nalidixico, usado no tratamento de infecções bacterianas (MACHADO et al., 2009). O uso é proibido para animais de produção de leite nos Estados Unidos e permitido no Brasil, na União Europeia a aplicação não é indicada para poedeiras (COMUNIDADE ECONÔMICA EUROPEIA, 2010).

As quinolonas foram os antimicrobianos com o maior número de citações de uso seguidas das tetraciclinas e das quinoxalinas. Os princípios ativos mais observados foram: enrofloxacina (25,8%), oxitetraciclina (21,5%), olaquinox (15,1%), norfloxacina (9,7%), doxiciclina (6,5%), sulfaquinoxalina (6,5%) e bacitracina (6,5%).

As quinolonas e fluoroquinolonas são grupos relacionados de antimicrobianos, obtidos por síntese laboratorial e usados no tratamento das infecções bacterianas. A primeira quinolona introduzida foi o ácido nalidíxico, seguindo-se a flumequina e o ácido oxolínico (MACHADO 2009).

As quinolonas, antimicrobianos obtidos por síntese laboratorial, possuem amplo espectro e possuem ampla aplicação tanto na medicina humana quanto na veterinária.

Uma das principais vantagens do uso das fluoroquinolonas é a ampla distribuição pelo organismo (CALDEIRA, 2012).

A enrofloxacinina não é recomendada para uso em bovinos leiteiros pois, segundo Ribeiro et al. (2009) em pesquisa da suscetibilidade bacteriana com linhagens de microrganismos isolados do leite de animais com e sem mastite em quatro rebanhos de produção orgânica de leite, foi observada resistência a esta droga.

O extensivo uso das quinolonas em aves tem sido facilitado por uma legislação de prescrição muito flexível, pelo aparecimento dos genéricos para uso em ração e água, com custo mais baixo que os primeiros produtos aprovados e, sem dúvida, pela a eficácia contra salmonelas (CALDEIRA, 2012).

Teste Snap

O primeiro teste para o estabelecimento de resíduos de agentes antimicrobianos no leite (teste de inibidor microbiano) foi desenvolvido no início de 1952 (MITCHELL et al., 1998). Também era conhecido, que a presença desses agentes poderia causar a inibição das culturas iniciais usadas em produtos lácteos, e para isso, o desenvolvimento de tais métodos foi iniciado para estabelecer os níveis de agentes inibidores no leite. Era importante que os kits fossem relativamente pequenos, simples de realizar e capazes de detectar grande variedade de agentes antimicrobianos .

Dentre os testes para análise de resíduos de antibióticos no leite mais utilizados, o enzimático SNAP beta-lactâmicos é o que mais se destaca, pela facilidade operacional tanto em laboratório quanto no campo, excelente repetibilidade e resultados confiáveis (ALMEIDA et al., 2003).

No teste imunoenzimático Snap, o antimicrobiano é capturado por uma proteína conjugada com receptor específico em um suporte sólido absorvente localizado em uma unidade plástica moldada que permite detectar no leite resíduos de tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina e penicilina G, amoxicilina, ampicilina, ceftiofur e cefapirina. A presença de resíduos na amostra resulta em um *spot* colorido que é comparado com *spot-controle* de concentração conhecida. O teste apresenta resultado em um tempo total de dez minutos por amostra, o resultado pode ser fornecido visualmente, pela comparação da cor no *spot*, quando há dúvidas, a leitura do teste pode ser esclarecida pela leitora (NEW SNAP, 2009).

Os testes qualitativos (SNAP Beta-lactâmicos e SNAP Tetraciclina) detectam

substâncias inibitórias no leite por reação imunoenzimática, com alteração na intensidade da cor no círculo de ativação da amostra e do controle, de azul escuro em ambos os orifícios (teste negativo) a azul claro ou ausência de coloração no círculo teste (teste positivo). A detecção destes resíduos de antimicrobianos no leite é rápida e tem como objetivo, atender aos requisitos do *Food and Drug Administration* (FDA) - USA, LMR - *Codex Alimentarius*, Ministério da Saúde e MAPA (RUGGED, 2009). No Quadro 4 estão relacionadas as classes e os LMR detectados pelo SNAP ST PLUS.

QUADRO 4 - Limites máximos resíduos (LMR) permitido pela norma brasileira detectados pela sensibilidade do SNAP ST PLUS, e porcentagem (%) da detecção do kit em relação a norma brasileira.

Droga	Classe	Norma Brasileira LMR ppb (µg/L)	Snap Duo ST PLUS ppb (µg/L)	Snap Duo ST Plus LMR (%)
Amoxicillin	Betalactamico	4	3	75%
Ampicilin	Betalactamico	4	4	100%
Cefacetrole	Betalactamico	100	50	50%
Cefalexin	Betalactamico	100	30	30%
Cefalonium	Betalactamico	20	14	70%
Cefazolin	Betalactamico	50	20	40%
Cefaperazone	Betalactamico	50	35	70%
Cefquinome	Betalactamico	20	16	80%
Ceftiofur metabolites	Betalactamico	100	33	33%
Cefuroxime	Betalactamico	50	15	30%
Cephapirin	Betalactamico	60	30	50%
Cloxacilin	Betalactamico	30	4	13%
Dicloxacin	Betalactamico	30	4	13%
Nafcilin	Betalactamico	30	3	10%
Oxacilin	Betalactamico	30	3	10%
Penicilin G	Betalactamico	4	2	50%
Chlortetracycline	Tetraciclina	100	40	40%
Doxycycline	Tetraciclina	100	25	25%
Oxytetracycline	Tetraciclina	100	18	18%
Tetracycline	Tetraciclina	100	16	16%

Fonte: Adaptado de Snap ST Plus, (2017).

Embora os testes microbiológicos tenham papel de destaque na detecção de resíduos de antimicrobianos no leite, estes apresentam limitações, pois necessitam de tempo de incubação e o resultado somente é conhecido após duas a cinco horas, na maioria dos casos. Não existe um teste de inibição do crescimento bacteriano que

detecte todos os antimicrobianos dentro dos limites máximos de resíduos permitidos (BRITO et al., 2004).

Diversos kits comerciais para detecção de resíduo de antibiótico em leite estão disponíveis no mercado, sendo de fácil realização, relativamente baratos e mecanizados, (ANVISA, 2007), possibilitando análise de várias amostras de leite ao mesmo tempo, otimizando a rotina de trabalho das indústrias.

RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE: PERSISTÊNCIA E INTERFERÊNCIA NA QUALIDADE

RESUMO

Objetivou-se analisar resíduos de antibióticos, sendo dois da classe betalactâmicos, uma tetraciclina e uma quinolona no leite de animais em lactação; avaliar a interferência do medicamento de composição ceftiofur considerado descarte zero. Avaliar os prejuízos causados para a indústria e para o produtor devido ao descarte de leite com presença de resíduos de antibióticos. Foi utilizado o kit SNAP ST PLUS* para avaliação da presença de antibióticos da classe dos betalactâmicos e tetraciclinas em leite *in natura*. Foram utilizados medicamentos à base de penicilina, ceftiofur e oxitetraciclina. Conforme o esperado, o leite dos animais do tratamento controle e animais submetidos a aplicação de enrofloxacina não apresentou resíduo de antibióticos. Enrofloxacina não está nas classes detectadas pelo kit SNAP ST PLUS Test[®]. O ceftiofur, conhecido como antibiótico de “descarte zero”, apresentou resultado positivo no kit SNAP duo* e no teste Beta Star Combo“S” da Neogen. Detectou-se presença de resíduos químicos no leite de vacas tratadas com diferentes grupos de antibióticos após o período de carência indicado nas bulas dos medicamentos utilizados. Foi observado prejuízo para a indústria e para o produtor, causado pelo descarte do leite com presença de resíduos de antibióticos.

Palavras-chaves: qualidade do leite, ceftiofur, resíduo antibiótico, período de carência.

ANTIBIOTIC RESIDUES IN MILK: PERSISTENCE AND INTERFERENCE IN QUALITY

ABSTRACT

The quality of milk and its nutrients is directly linked to good production and processing practices, so it is extremely important to produce a quality raw material free of contaminants and chemical residues that can cause problems for consumers' health. In this context, the objective was to analyze residues of antibiotics, two of the beta-lactams class, one tetracycline and one quinolone in the milk of lactating animals; as well as to evaluate the interference of the drug of composition ceftiofur considered discarded zero. The losses caused to the industry and the producer due to the disposal of milk with the presence of residues of antibiotics were evaluated. The SNAP ST PLUS * kit was used to evaluate the presence of beta-lactam antibiotics and tetracyclines in fresh milk. Medications based on penicillin, ceftiofur and oxytetracycline were used. As expected, the milk from control animals and animals submitted to enrofloxacin did not present antibiotic residue. Enrofloxacin is not in the classes detected by the SNAP ST PLUS Test® kit. Ceftiofur, known as a "zero-discard" antibiotic, tested positive for the SNAP duo* kit and the Neogen Beta Star Combo "S" test. Chemical residues were detected in the milk of cows treated with different groups of antibiotics after the grace period indicated in the package inserts of the medicines used. Losses were observed for the industry and for the producer, caused by the discarding of the milk with the presence of residues of antibiotics

Key words: quality of milk, ceftiofur, antibiotic residue, grace period.

INTRODUÇÃO

O setor lácteo brasileiro tem grande importância para o segmento agropecuário, gerando milhares de empregos diretos e indiretos. A produção de leite é uma das poucas atividades do setor rural que gera renda mensal e contribui para diminuição do êxodo rural do homem do campo. O leite é importante na produção de alimentos na maioria dos países do mundo, pois apresenta alto valor nutricional e é indispensável para a dieta do ser humano (PAIVA et al., 2012).

A profissionalização do setor é uma tendência no atual mundo globalizado, que exige qualidade de forma compulsória. O conhecimento da composição do leite é essencial para a determinação da qualidade, pois define diversas propriedades sensoriais e industriais. Os parâmetros de qualidade são cada vez mais utilizados para detecção de falhas nas práticas de manejo servindo como referência na valorização da matéria-prima (DÜRR, 2004).

Segundo Silva et al. (2009), com base no conhecimento da composição do leite é possível avaliar a qualidade desse produto para atender às exigências do mercado. Para a indústria, elevada contagem de células somáticas (CCS) está associada à queda do rendimento na produção de derivados, alterações sensoriais do leite e derivados e redução da vida útil (ANDRADE et al., 2007).

O controle sanitário do leite é essencial, para segurança do alimento e para que não haja riscos de contaminação. Quando recebido na plataforma de recepção o leite deve ser analisado por laboratório idôneo, e deve estar em cumprimento com todas as normas regulamentadoras que determinam os padrões de identidade e qualidade do leite *in natura*, além disso, não deve apresentar resíduos de antibióticos, deve possuir contagens mínimas de CCS e CBT e não apresentar nenhum tipo de fraudes na composição (MARCÍLIO, 2008).

O uso incorreto de antibióticos em animais pode gerar resíduos de antimicrobianos no leite, devido ao não cumprimento de indicação de receituário e tempo de eliminação do medicamento, bem como adição destes na alimentação animal ou até mesmo quando as boas práticas de produção não são atendidas. A mastite é a causa principal de resíduos de antibióticos em leite (YABAYA et al., 2012).

A presença de resíduos de antibióticos no leite deve ser evitada, pois pode provocar graves problemas de saúde no consumidor, dentre estes, hipersensibilidade, choque anafilático em indivíduos alérgicos, teratogenia, resistência microbiana e

desequilíbrio da microbiota intestinal e ainda, desencadeando prejuízos financeiros na indústria, por interferirem na inibição de microrganismos benéficos na produção de derivados do leite (BASTOS, 2012).

Devido ao alto consumo de leite pela população, é de suma importância o estudo e pesquisa de possíveis contaminantes no leite, já que representam risco a saúde humana e animal e ainda podem causar grandes perdas econômicas aos produtores.

Em razão da importância da segurança e qualidade da população consumidora de leite e derivados lácteos, objetivou-se avaliar o residual de antibiótico à base de penicilina, oxitetraciclina, ceftiofur e enrofloxacin no leite de animais através do kit IDEXX SNAP duo* ST Plus Test[®]. Foi avaliado a qualidade do leite dos animais tratados com estes antibióticos e realizado estudo da incidência de resíduos de antibióticos em indústria de laticínios do sudoeste goiano.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e Descrição da Pesquisa

A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Produtos de Origem Animal e Bovinocultura do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, Rio Verde - Goiás, localizado na latitude 17°48'11,99"S e longitude 50°54'18,88"O. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA do IF Goiano para execução da pesquisa.

Foram utilizados animais mestiços, sendo três animais para cada tratamento de cada base de antibiótico e um animal controle, em bom estado nutricional, saudáveis, utilizados apenas para aplicação dos medicamentos, com produção média de 12 kg leite/dia.

Os antibióticos utilizados foram dois da classe dos beta-lactâmicos, sendo uma penicilina e um ceftiofur, esse último considerado “descarte zero no leite”, um da classe das tetraciclina (cloridrato de oxitetraciclina LA) e outro da classe das quinolonas (enrofloxacina 10%).

A dosagem dos medicamentos foi aplicada de acordo com indicações do fabricante, variando conforme peso do animal, e indicação em mg pelo fabricante como mostra o Quadro 5.

QUADRO 5 - Antibióticos e dosagens conforme recomendações do fabricante.

Tratamentos	Dosagem
1 - Controle	Sem aplicação de antibiótico
2 - Penicilina	1 mL/20 kg de PV, em dose única, via intramuscular.
3 - Ceftiofur	1 mL/50 kg de PV, via intramuscular.
4 - Oxitetraciclina	1 mL/10 kg de PV via intramuscular profunda.
5 - Enrofloxacina	0,5 mL/20 kg de PV, via intramuscular.

PV = peso vivo.

As amostras de leite foram coletadas inicialmente, antes da aplicação dos medicamentos, para avaliação da composição e confirmação da ausência do resíduo de antibiótico, com subseqüentes coletas a cada 60 minutos para identificação da presença do resíduo do fármaco no leite. Após a detecção do resíduo do medicamento, as amostras foram coletadas com intervalos de 12 horas, nos horários da ordenha dos

animais, até no dia da ausência dos resíduos dos antibióticos.

A escolha dos antimicrobianos para o experimento foi realizada com base aos princípios ativos disponíveis para tratamento durante o período de lactação ou período seco dos rebanhos leiteiros.

Análises Físico-Químicas do Leite

Para realização das análises físico-químicas, o leite foi coletado durante a ordenha da manhã com utilização de ordenhadeira canalizada da marca WESTFALIA em circuito fechado, modelo espinha de peixe composta por conjunto de teteiras e balde ao pé. Após a coleta, o leite foi encaminhado ao Laboratório de Produtos de Origem Animal do IF Goiano - Campus Rio Verde para realização das análises.

A coleta das amostras de leite foi realizada de forma asséptica em frascos plásticos de aproximadamente 40 mL contendo conservante Bronopol[®], e Azidiol[®] para análise da composição química, CCS e CBT.

Imediatamente após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo e encaminhadas ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, para realização das análises eletrônicas.

A análise da composição química do leite foi realizada em relação aos teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco desengordurado (ESD) e extrato seco total (EST), que foram determinados através do princípio analítico que se baseia na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite, utilizando o equipamento Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). As amostras foram previamente aquecidas em banho-maria à temperatura de 40°C/15 minutos para dissolução da gordura. Os resultados foram expressos em porcentagem (IDF, 2013).

A análise da CCS foi realizada de acordo com o princípio analítico que se baseia na citometria de fluxo, através do equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) no Centro de Pesquisa Alimentos da Universidade Federal de Goiás de Goiânia. Antes da análise, as amostras de leite foram previamente aquecidas em banho-maria à temperatura de 40°C/15 minutos para dissolução da gordura. Os resultados foram expressos em CS/mL (ISO, 2006).

A CBT foi analisada por meio do equipamento Bactoscan FC (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), no Centro de Pesquisa Alimentos da Universidade Federal de Goiás

de Goiânia, que se baseia na citometria de fluxo que consiste na medição de características celulares, quando estas se encontram suspensas em meio fluido. Os resultados foram expressos em UFC/mL (ISO, 2004).

O teor de ureia foi determinado através da absorção diferencial de ondas infravermelhas, transformadas por Fourier-FTIR, utilizando equipamento Lactoscope (Delta Instruments) e os resultados foram expressos em mg/dL.

Análise do Resíduo de Antibiótico

A presença dos resíduos de antibióticos nas amostras de leite foi realizada pelo método do teste rápido SNAP ST PLUS Test Kit *Simplicity from IDEXX**[®]. O Teste SNAP ST PLUS* detecta substâncias inibitórias no leite por reação imunoenzimática, com alteração na intensidade da cor no círculo de ativação da amostra e do controle, de azul escuro em ambos os orifícios (Teste negativo) a azul claro ou ausência de coloração no círculo teste (teste positivo). A detecção destes resíduos de antimicrobianos no leite é rápida e tem como objetivo, atender aos requisitos do FDA - USA, LMR-*Codex Alimentarius*, Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RUGGED, 2009).

Foram utilizadas amostras de leite *in natura*, de vacas lactantes, as amostras foram coletadas logo após a ordenha, refrigeradas entre 0°C e 10°C. As análises foram realizadas no mesmo dia da coleta.

Foram feitas diluições com leite não contaminado das amostras sem nenhum conservante no laboratório de pesquisa de produtos de origem animal do Instituto Federal Goiano (LPOA) de Rio Verde; para avaliar a persistência do resíduo do antibiótico no leite dos animais que foram tratados com antibióticos da base ceftiofur. Essas amostras após feita diluição, foram encaminhadas a uma unidade fabril de um laticínio para serem analisadas em outro teste (Beta Star Combo[®]), sendo esse um kit específico para detecção da base de ceftiofur.

Análise Estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso e os resultados apresentados em forma de gráficos gerados no software Excel[®] versão 2013 e de forma descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variações da composição química do leite de vacas mestiças submetidas a aplicação de antibióticos estão apresentadas na Figura 1.

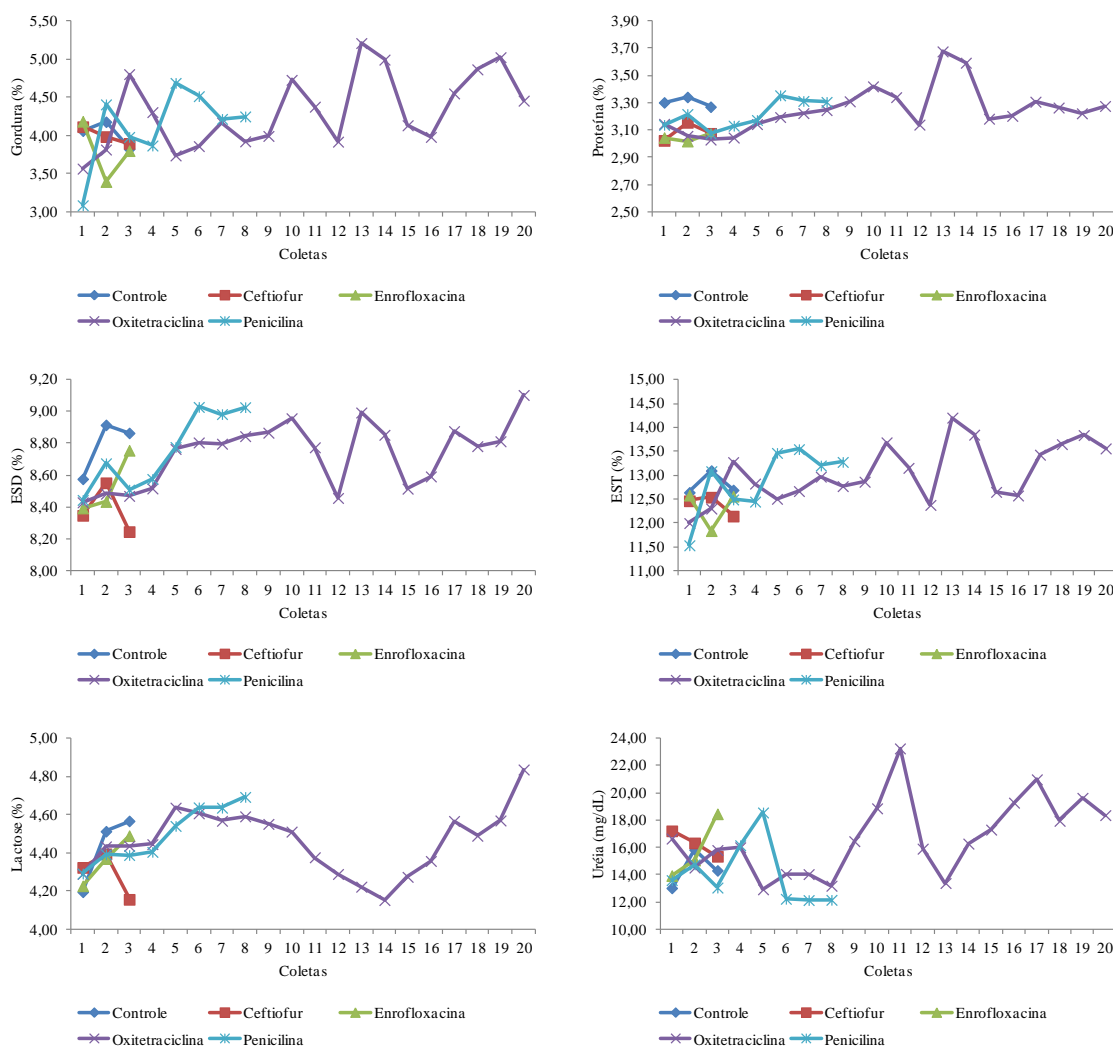


FIGURA 1 - Variação da gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD) e ureia do leite de vacas mestiças submetidas a aplicação intramuscular de cefotiofur, enrofloxacina, oxitetraciclina, penicilina e sem aplicação de antibióticos (Controle) em diferentes períodos de coleta.

Houve variação ao longo do tempo nos teores de gordura, proteína, EST e ESD, lactose e ureia de todas as amostras coletadas com resíduos de todos os antibióticos utilizados, porém essas variações atenderam a Instrução Normativa 62/2011 (BRASIL, 2011), com valores acima de 3,0%, 2,9%, 11,4%, e 8,4%, respectivamente. A IN

62/2011 não estabelece valores limite para lactose no leite *in natura*.

As variações da composição química podem estar relacionadas aos efeitos ocasionados pelos resíduos dos antibióticos na flora ruminal, nesse contexto, Zoetendal et al. (2004) obtiveram resultados, em que a flora ruminal colaborou para síntese principalmente de gordura do leite, foi observado nos ruminantes grande quantidade de energia dietética que não pode ser digerida naturalmente pelo aparelho digestivo, sendo metabolizada pelo rúmen atribuída à flora ruminal. No entanto, esse processo também depende da estrutura da microbiota que habita o rúmen. Os fatores ambientais e estocásticos do rúmen, como a composição da dieta, práticas de alimentação e aplicação de medicamentos, demonstraram que afetam fortemente a composição e funções da microbiota no ruminantes (ZOETENDAL et al., 2004).

Os antibióticos podem compor a dieta de algumas espécies animais, e são compostos alimentícios não digeríveis que, quando consumidos em quantidade suficiente, estimulam seletivamente o crescimento e/ou a atividade de um ou de um número limitado de microrganismos ruminais. No entanto, o sistema de fermentação eficiente no rúmen das vacas leiteiras é o principal responsável pela conversão e acumulação de energia, enquanto, a microbiota colonial é majoritariamente contribuída para colheita de energia e metabolismo animal (DAVE et al., 2012). Isso implica a importância de controlar a fermentação microbiana do rúmen, embora a função do rúmen não esteja diretamente relacionada à deposição de gordura corporal, porém, pode interferir nos sólidos do leite (KAMEYAMA, 2014). Podendo ter ocasionado as variações dos componentes no presente estudo.

Valores da composição química do leite acima dos observados neste estudo foram reportados por Martins et al. (2012) mediante avaliação do rendimento, composição e análise sensorial do queijo Minas Frescal fabricado com leite de vacas 1/2 sangue Holandês/Gir, alimentadas com diferentes volumosos. Para animais tratados com capim-tanzânia foram obtidas médias de 6,1% de gordura; 4,63% de proteína; 14,59% de EST e 8,51% de ESD. Os autores não avaliaram lactose. Já Oliveira et al. (2010) observaram no leite cru de vacas mestiças Nelore-Holandês em diferentes períodos de lactação, média de 5,84% de gordura, 3,12% de proteína, 8,92% de ESD e 5,15% de lactose, porém, não foi avaliado EST, sendo esses resultados colaborativos com o presente estudo, e os mesmos atendem a exigência da IN 62.

Da mesma forma que o observado nesta pesquisa, Araújo et al. (2012) durante pesquisa com ocitocina exógena e a presença do bezerro sobre a produção e qualidade

do leite de vacas mestiças, relataram que a porcentagem dos constituintes do leite (gordura, proteína, lactose, EST e ESD) não foi afetada, mesmo havendo aumento da produção de leite pela aplicação de ocitocina ou à presença do bezerro durante a ordenha, com valores médios acima do limite mínimo preconizado por Brasil, (2011).

Os valores médios da ureia desta pesquisa, foram compatíveis com o estudo da avaliação da composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo farelo de girassol, farelo de mamona e farelo de soja, Aguiar et al. (2015) observaram valores de ureia variando de 13,15 mg/dL a 17,81 mg/dL. Rosa et al. (2012) em avaliação da qualidade do leite em amostras individuais e de tanque de vacas leiteiras, revelaram que o padrão para ureia no leite deve ser de 11 mg/dL a 16 mg/dL, porém, Beserra et al. (2012) informaram que os valores considerados normais devem ser entre 12 mg/dL a 20 mg/dL de ureia, enquanto, valores abaixo indicam uso extremamente eficiente da proteína dos alimentos ou possibilidade de deficiência proteica.

Na Figura 2, pode ser visto o comportamento dos resultados da CCS de vacas mestiças submetidas a aplicação de antibióticos.

Após o tratamento com antibiótico, todos os animais atenderam a IN 62/2011 que estabelece no máximo 500 mil CS/mL, foi possível observar que somente os animais tratados com a enrofloxacina estavam fora da normativa, porém, todos os animais tenderam a baixar a CCS após o tratamento com antibiótico, exceto os animais tratados com ceftiofur, isso pode estar relacionado com seu baixo período de ação; sendo que a CCS dos animais tratados com enrofloxacina foram os que mais apresentaram baixa na CCS, podendo ser justificado pelo longo período de carência e a não indicação de tratamento de animais em lactação pelo fármaco.

Martins et al. (2012) relataram que a medida que há aumento da CCS no rebanho, maior é a probabilidade de serem encontrados resíduos de antimicrobianos no leite, pela capacidade do antibiótico agir sobre patógenos causadores de infecções.

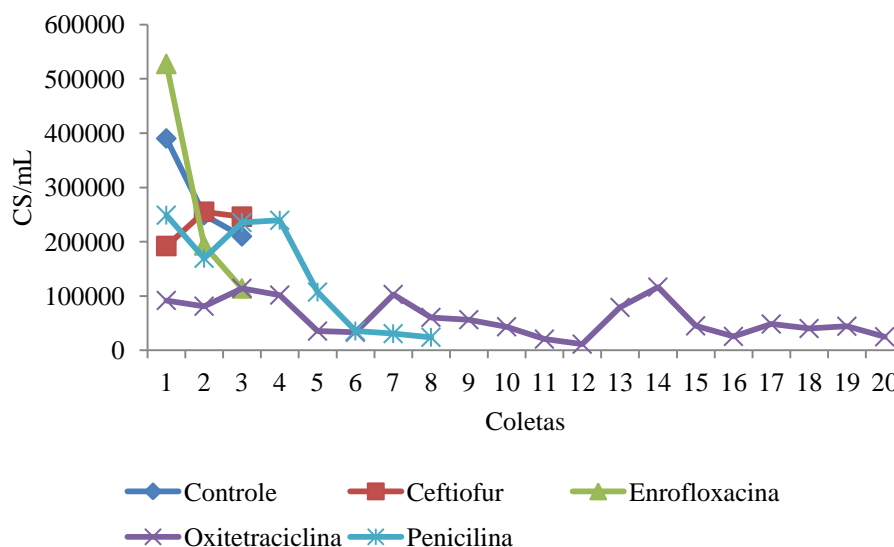


FIGURA 2 - Variação da contagem de células somáticas (CCS) do leite de vacas mestiças submetidas a aplicação intramuscular de cefotiofur, enrofloxacina, oxitetraciclina, penicilina e sem aplicação de antibióticos (Controle) em diferentes períodos de coleta.

Embora o objetivo da pesquisa não foi avaliar o efeito da aplicação de antibióticos sob a CCS do leite, Zafalon et al. (2009) verificaram que o tratamento da mastite subclínica (dose de 150 mg de gentamicina) causada por *S. aureus* durante a lactação não acarretou melhoria na qualidade, quando se analisou os teores proteicos do leite, ao menos em rebanho com baixa produção e com uma ordenha diária, como foi o rebanho estudado.

Na determinação de resíduos do antibiótico cloxacilina em leite de vacas com elevada CCS, Folly et al. (2008) revelaram que é possível haver passagem de antibióticos de um quarto tratado para outro não tratado, persistindo até 24 horas após o fim do tratamento, podendo ocorrer aumento de células somáticas (CS) após o tratamento com o antibiótico, sem crescimento bacteriano.

Os valores de CCS desta pesquisa foram maiores que o observado por Henrichs et al. (2014) com valor médio de 543.390 CS/mL ao avaliarem a influência de indicadores de qualidade sobre a composição química do leite e influência das estações do ano sobre esses parâmetros.

Zeferino et al., (2017) observaram que nos primeiros 14 dias, a diminuição do número de células dos grupos tratados foi diretamente relacionada à redução da taxa de infecções, mostrada pela redução do percentual de microrganismos isolados, em estudo da qualidade do leite produzido no semiárido de Minas Gerais. Foi relatado que o leite

cru se apresentou em desacordo com a legislação vigente. Além disso, diferente do que foi observado neste estudo a CCS, apresentou valores acima dos permitidos pela legislação.

A variação da CBT do leite de vacas submetidas a aplicação de antibióticos é apresentada na Figura 3. Em avaliação da antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação, Reis et al. (2003) não observaram efeito do tratamento de animais com mastite subclínica sobre a produção de leite. Foi observado que a média de produção de leite dos animais dos grupos tratado e controle antes e após o tratamento não diferiu.

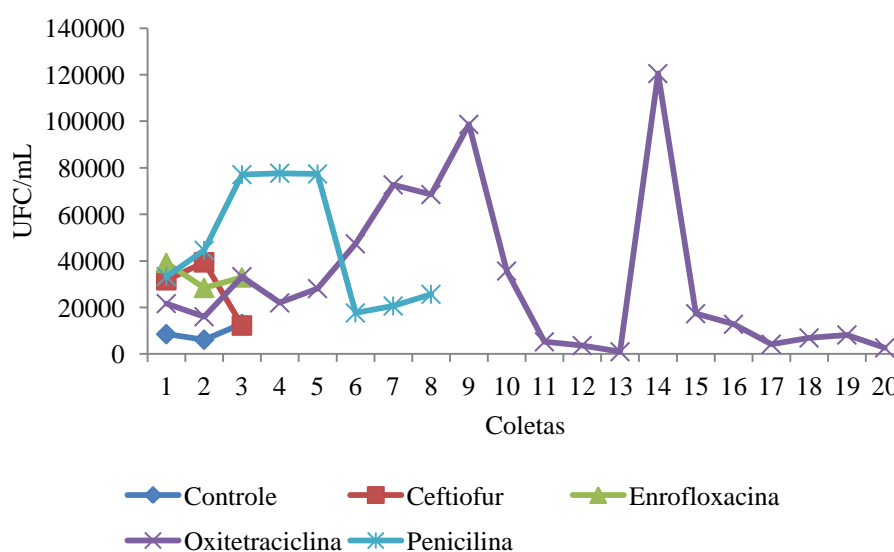


FIGURA 3 - Variação da contagem bacteriana total (CBT) do leite de vacas mestigas submetidas a aplicação intramuscular de ceftiofur, enrofloxacina, oxitetraciclina, penicilina e sem aplicação de antibióticos (Controle) em diferentes períodos de coleta.

A IN 62/2011, determina valores máximos de 300 mil UFC/mL para CBT, portanto, os valores deste estudo atenderam os limites estabelecidos pela legislação vigente. Embora valores abaixo de 200 mil UFC/mL sejam considerados adequados para recebimento do leite. É importante salientar que diferente da incidência de mastites em rebanhos leiteiros, a CBT está relacionada a padrões de higiene e sanitização dos equipamentos e utensílios de ordenha, bem como dos animais e manejo geral, principalmente do ordenhador.

Segundo Vallin et al. (2009) práticas simples, como o desprezo dos três primeiros jatos de leite, lavagem dos utensílios de ordenha (latões, baldes, teteiras) com detergente alcalino clorado 2%, pré-dipping com solução clorada 750 ppm em caneca

sem refluxo e eliminação da água residual dos utensílios de ordenha foram suficientes para a adequação do leite à legislação vigente na época do estudo. Além disso, segundo Ribeiro et al. (2014) um expressivo número de propriedades, que implantaram as boas práticas de ordenha, passou a produzir leite cru refrigerado com padrão de qualidade internacional. Para a melhoria da qualidade do leite cru refrigerado brasileiro serão necessárias medidas de incentivo aos produtores, como programas de pagamento por qualidade do leite, para que os esforços de técnicos, universidades e cooperativas na implantação de boas práticas de higiene na ordenha tenham melhor adesão dos produtores.

Os testes para a detecção de resíduos de antibióticos da classe betalactâmicos são mais comumente utilizados no controle do leite para detecção de resíduos químicos. Embora sejam uma ferramenta útil para a prevenção do uso de leite contaminado com resíduos, simultaneamente estes apresentam inúmeras desvantagens, como exemplo, a capacidade de detectar resíduos abaixo da concentração máxima tolerada (FEJZIC et al., 2014).

No estudo realizado, foi determinado um dos testes de seleção de resíduos para o leite *in natura* que são aplicados em laboratórios de unidades fabris, por outro lado, os próprios produtores de leite não utilizam esses testes, ou até mesmo desconhecem os mesmos. No entanto, os requisitos legais exigidos para comercialização de produtos internos no país e fora do país, procura aplicar o controle da demanda de resíduos no leite na fazenda, através do uso apropriado de antibióticos, respeitando o período de carência de cada medicamento utilizado, bem como o uso de teste no leite para a presença de resíduos de antibióticos na indústria.

Na Tabela 1, foi observado a persistência do resíduo de antibiótico no leite de animais tratados com antibiótico e avaliado com os dias recomendado na bula dos fabricantes dos medicamentos.

TABELA 1 - Período residual de antibióticos no leite de vacas mestiças avaliadas pelo kit IDEXX SNAP ST Plus Test[®] após aplicação de penicilina, ceftiofur, oxitetraciclina, enrofloxacina e grupo controle.

Parâmetros	Antibiótico				
	Controle	Penicilina	Ceftiofur	Oxitetraciclina	Enrofloxacina
Período de carência (dias)	-	4 a 5	0	*	*
Resíduo após aplicação (horas)	0	1	1	1	0
Período residual (dias)	0	14,5	2,6	13,8	-
Resultado	-	+	+	+	**

*Não é indicado para bovinos em lactação, porém, para bovinos de corte o período de carência é de 30 dias. **Não é identificado pelo kit.

O kit SNAP ST PLUS* utilizado para avaliação da presença de antibióticos da classe dos betalactâmicos e tetraciclina em leite *in natura* foi eficiente na detecção de antibióticos à base de penicilina, ceftiofur e oxitetraciclina. Conforme o esperado, o leite dos animais do tratamento controle (sem aplicação de antibióticos) e animais submetidos a aplicação de enrofloxacina não apresentou resíduo de antibióticos da classe dos betalactâmicos e tetraciclina, pela especificidade do kit utilizado nas análises.

Não houve detecção de resíduos de antibióticos, nas vacas do tratamento controle, as mesmas não foram submetidas a nenhum tipo de aplicação de antibiótico no período da pesquisa. Os kits para análise da presença de resíduos de antimicrobianos em leite apresentam especificidade e limiar de detecção para grupos específicos de antimicrobianos. Vale ressaltar conforme Portz et al. (2014) que existem falhas na produção do leite *in natura* e no beneficiamento do leite pasteurizado que comprometem a qualidade microbiológica e nutricional, além da possibilidade de representar riscos microbiológicos.

Após a aplicação do medicamento nos animais, foram detectados residuais de antibióticos nas amostras de leite coletada dos animais já na primeira hora, em todas as bases de antibióticos detectáveis pelo kit utilizado; para penicilina, ceftiofur e oxitetraciclina; demonstrando o extremo cuidado e identificação dos animais em tratamento.

A persistência do resíduo de antibiótico nos animais tratados, diferiu com a indicação da bula dos medicamentos utilizados, e demonstra que a atenção ao período de carência deve estar além das recomendações dos fabricantes.

O leite de vacas submetidas à aplicação de penicilina, apresentou média de 14,5 dias de período residual, mostrando-se diferente do recomendado pela bula do fármaco,

que estabelece período de descarte do leite de 4 a 5 dias. Nesse contexto, Carraro (1999) ressaltou a importância do descarte do leite dos quartos mamários de animais em tratamento com antimicrobianos, o autor observou que após aplicação de penicilina associada com carência de três dias, detectou presença de resíduos no leite de quartos não tratados no mínimo até o terceiro dia.

Em 96 amostras de leite comercializado em Piracicaba, SP, Nascimento et al. (2001) verificaram que 48, apresentaram substâncias antimicrobianas (50,0%) e destas, 33 (34,8%) apresentaram resíduos de antibióticos beta-lactâmicos. Foi observado ainda que a distribuição das amostras de acordo com as concentrações de penicilina variou de 0,013 UI/mL a 0,94 UI/mL. Das 27 amostras que apresentaram resíduos de penicilina, 22 destas (81,5%) continham índices superiores aos recomendados (máximo 0,05 UI/mL).

O ceftiofur, conhecido como antibiótico de “descarte zero”, apresentou resultado positivo no kit SNAP duo* em uma média de 2,6 dias, o que difere do fármaco ser comercializado como antibiótico que não apresenta período de carência para bovinos lactantes.

Em um estudo realizado por Baez et al. (2009) em avaliação do leite residual a partir de suspensão injetável à base de ceftiofur sódico (50 mg/mL) em seis vacas produtoras de leite oriundas de três fazendas da Serra (Equador) analisadas com teste microbiológico Copan Milk Test (StandAlone Company, Italia), os resultados indicaram que o composto ativo não apresentou efeito residual no leite.

Resultados semelhantes ao desta pesquisa para presença de ceftiofur em leite foram observados por Cristina et al. (2010) no período de até 12 horas após aplicação do antibiótico ceftiofur foi observada positividade para resíduos de antibióticos em ambos os kits, indicando que as informações contidas no medicamento devem ser revisadas, pois afirma que não há período de carência. Após 24 horas da administração da droga os resultados foram negativos para ambos os testes. Considerando os limites de detecção dos testes utilizados, a concentração da droga no leite ordenhado após 12 horas da administração do ceftiofur, era maior que 100 ppb e menor que 500 ppb. Após 24 horas, a concentração era menor que 5,9 ppb. Os resultados demonstraram que se não houve fiscalização eficiente, dessa forma, o leite pode chegar ao consumidor contaminado por resíduos de antibacterianos.

Já Ramirez et al. (2012) trataram 28 vacas com ceftiofur, destas 89,3% foram positivas 24 horas após o tratamento para resíduos do antibiótico. Os autores inferiram

que o teste microbiológico tem baixa sensibilidade para detectar vestígios de antibiótico, no entanto, o fármaco não tem tempo para eliminar os resíduos e apresenta positividade nos resultados porque não supera os LMR estabelecidos pelo Comitê.

Oxitetraciclina não é recomendada para bovinos lactantes, é indicada apenas para bovinos de corte, com período de carência para abate de 30 dias. No leite, a oxitetraciclina teve presença positiva de 13,8 dias na avaliação do SNAP ST PLUS Test[®], e confirma a aplicação do fármaco é inviável para vacas em lactação devido a grandes perdas por descarte do leite. No entanto, 138 vacas tratadas com uma variedade de produtos antibióticos em granjas leiteiras do sudoeste de Ontario (Canadá), em que 17 vacas foram tratadas com oxitetraciclina, foi reportado que a persistência do antimicrobiano não excedeu a 72 horas (MCEWEN et al., 1992). Porém, Ramirez et al. (2012) reportaram persistência de oxitetraciclina por até 156 horas, aproximando dos resultados do presente estudo.

Enrofloxacinina não está nas classes dos betalactâmicos e tetraciclina detectados pelo kit SNAP ST PLUS Test[®], por isso, a presença não foi detectada após a aplicação, esse antibiótico não é recomendado para bovinos em fase de lactação, para bovinos de corte o período de carência é de 30 dias, segundo o fabricante. A ocorrência de resultados positivos para esse teste deve servir de alerta aos produtores, já que animais submetidos à terapia de secagem podem estar eliminando resíduos além do período de carência, além do risco desse leite ser incorporado ao tanque de pequena mistura junto ao de animais isentos de resíduos (NETO et al., 2015).

A enrofloxacinina não é recomendada para uso em bovinos leiteiros pois, segundo Ribeiro et al. (2009) em pesquisa da suscetibilidade bacteriana com linhagens de microrganismos isolados do leite de animais com e sem mastite em quatro rebanhos de produção orgânica de leite, foi observada resistência a esta droga.

As amostras do leite dos animais tratados com antibiótico da base Ceftiofur foram analisadas com diluições utilizando leite não contaminado, como mostra a Quadro 6.

Todas as amostras coletadas de animais tratados com antibiótico ceftiofur, foram analisadas em outro teste de análise de antibiótico, sendo esse específico para detecção da base de ceftiofur. O teste utilizado para comparação dos resultados foi o Beta Star Combo“S” da Neogen[®], sendo esse o único no mercado com essa especificidade e certificado pelo MAPA. Os resultados obtidos foram idênticos ao observado pelo SNAP durante os dias de análises.

QUADRO 6 - Avaliação das amostras de leite pelo kit IDEXX SNAP ST PLUS Test[®] de animais tratados com antibiótico à base de Ceftiofur após diluição com leite sem resíduos de antibióticos.

DIA	Animais com resultado positivo (%)	Média da diluição por mL de leite contaminado/mL de leite não contaminado	Resultado
1	100	1 mL/260 mL	-
2	100	1 mL/38 mL	-
3	66	1 mL/6 mL	-
4	0	*	*

*Não houve análise, o resultado dos animais apresentou-se negativo.

O teste Beta Star Combo envolve um receptor específico de beta lactamico ligado a partículas de ouro. É um teste de prova de medição que detecta penicilinas e cefalosporinas (GUSTAVSSON & STERNESJO, 2004).

Os testes usados são destinados à amostras do leite coletado a granel, e contem a produção do leite de vários produtores, e uma vez que o animal de alguma dessas propriedades apresenta positividade para resíduo de antibiótico, pode contaminar todo o volume de leite presente no caminhão. No caso do leite, de um ou mais animais conterem resíduos de antibióticos, a concentração seria significativamente reduzida pelo restante do leite livre de resíduos, porém, essa diluição deve ser ponderada, pois é possível observar que diluições são mais complexas do que se encontra na prática.

No primeiro dia de residual, após 12 horas de aplicação do medicamento, 100% das amostras apresentaram positivas para residual de antibiótico betalacatamico, sendo que para se obter um resultado negativo, foi necessário diluir 1 mL da amostra do leite coletado do animal em 260 mL de leite não contaminado; ou seja, considerando um animal de produção de 15 kg de leite é necessário 260 vezes mais em volume de leite (3.900 L) para que não seja detectada a presença do residual de antibiótico.

No segundo dia, 100% das amostras coletadas dos animais tratados apresentou-se positiva para residual de antibiótico, sendo que para que não detectasse resíduo do antibiótico ceftiofur na amostra de leite dos animais, foram necessárias diluições de 38 vezes mais que o volume de leite produzido pelos animais.

Para o terceiro dia, as amostras apresentaram diluições de seis vezes mais para detecção do resultado negativo nos testes, sendo que 33,3% das amostras coletadas dos animais, apresentaram resultado negativo. No quarto dia, todas as amostras

coletadas dos animais apresentaram-se negativas sem a necessidade de diluição das mesmas. Esses resultados foram encontrados no teste SNAP ST PLUS e no teste BETA STAR COMBO que tem a especificidade para a base do antibiótico Ceftiofur.

Concentração de tetraciclina em amostras de leite diminuiu cerca de 18%, usando o método LC-ESIMS/MS observado decréscimo de 50% de cinco concentrações de antibióticos betalactamicos no leite, amostras armazenadas nas mesmas condições durante 6 dias de oxitetraciclina diminuiu em 7,4% e sulfadimidina em 20,1% nas mesmas condições (RIEDIKER et al., 2004).

Para proteção adequada do consumidor e garantia de qualidade dos produtos lácteos, a presença de resíduos químicos, como de antibiótico não devem ser encontradas. Os resíduos no leite devem ser sistematicamente controlados e o nível não pode exceder os valores aceitáveis de LMR estabelecido pelas normativas do Brasil.

A presença do residual de antibiótico ainda é um problema na indústria como mostra a Figura 4.

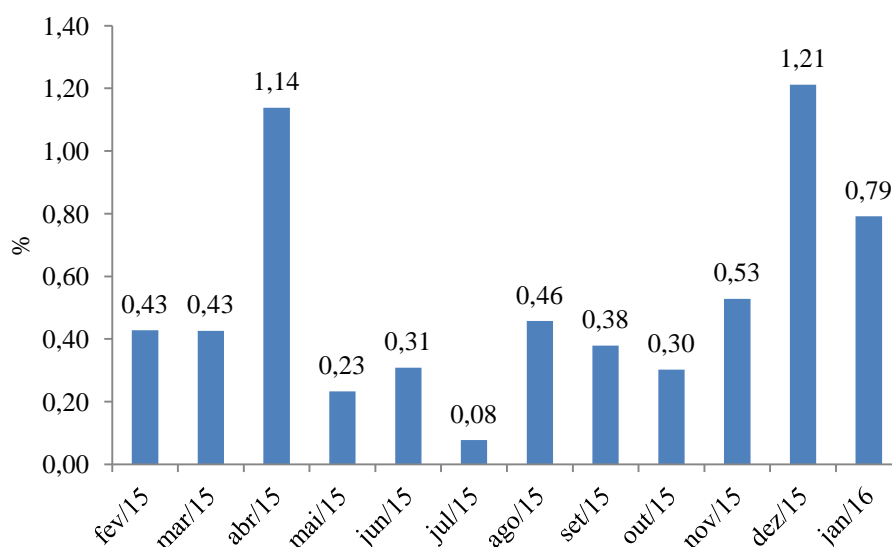


FIGURA 4 - Presença de resíduos de antibióticos (%) em amostras de leite refrigerado de indústria de laticínios do sudoeste goiano no período de fevereiro de 2015 a janeiro de 2016.

Embora, vários estudos estão sendo realizados com o intuito de detectar rapidamente a presença de antimicrobianos no leite, estes são isolados e eventuais, o que impede o reconhecimento confiável da situação do Brasil.

Nos laboratórios de controle, é comum praticar tratamentos por aquecimento da amostra para destruir patógenos, homogeneização ou inativação dos antimicrobianos

naturais no caso de análise de inibidores. Até a data, não houve estudos investigando como esses tratamentos afetam a presença de resíduos de antibióticos no leite. Por outro lado, o leite chega ao consumidor após sofrer diferentes tratamentos térmicos na indústria, como a pasteurização (MUHAMMAD, 2015).

Um Estudo realizado no Estado do Paraná apresentou contaminação por resíduos de antimicrobianos em 15,2% das amostras analisadas. Embora tenha sido usado método qualitativo, o leite analisado constitui um risco para a saúde do consumidor, visto que esses resíduos permanecerão na matriz alimentar e nos derivados. A quantificação desses resíduos se torna importante para o monitoramento do nível de contaminação na alimentação, definindo, assim, o risco de exposição aos consumidores (VIERA et al., 2012).

Outros estudos conduzidos com diferentes métodos de detecção também têm demonstrado a ocorrência de resíduos de medicamentos em amostras de leite provenientes de diversas regiões do Brasil. Utilizando um protocolo de inibição microbiana foi detectada a presença de resíduos de antimicrobianos em 9,95% das amostras de leite pasteurizado integral e padronizado, no estado de Goiás (BORGES et al., 2000).

De acordo com as normativas, o leite fora do padrão exigido, tem seu destino preconizado pelas IN, leite com resíduo de antibiótico, deve ser descartado.

O leite com presença de resíduos de substâncias químicas é considerado adulterado e impróprio para o consumo, representando risco à saúde pública (MENDES et al., 2008). Além disso, o descarte de leite contaminado pode gerar além de transtornos, prejuízos para o produtor e para a indústria.

O leite com residual de antibiótico de um produtor, pode contaminar o leite de vários produtores, durante a coleta nas propriedades, esse volume de leite contaminado e conseqüentemente descartado, pode ficar inviável para o produtor arcar com todo prejuízo, com isso cabe a indústria assumir o prejuízo, pagando o volume de leite descartado de outros produtores que foram contaminados durante a coleta, como mostra a Figura 6.

Nas indústrias, os controles de qualidade são essenciais no leite para estabelecer o preço que o produtor receba, bem como para garantir a qualidade do produto. Nos laboratórios de controle, é comum praticar tratamentos por aquecimento da amostra para homogeneização ou para inativação de antimicrobianos naturais no caso da análise de inibidores (MUHAMMAD, 2015).

O leite descartado dentro da indústria por resíduo de antibiótico, pode ser um volume superior ao volume do produtor identificado como o contaminante, sendo que dependendo do volume contaminado no caminhão, torna-se oneroso para o produtor identificado ressarcir o volume dos outros produtores que continham leite no caminhão de coleta. Com isso, a indústria é obrigada a arcar com prejuízo do leite descartado, fazendo o pagamento do leite descartado aos demais produtores.

Com a penalização do descarte de todo o leite contaminado, alguns produtores se sentem injustiçados trocando de empresas para o fornecimento de leite, deixando o prejuízo total para a indústria. Isso mostra que a conscientização do produtor ainda requer atenção mais primordial nos projetos e trabalhos no campo.

Com isso, é notável a necessidade de melhorar a qualidade do leite produzido no Brasil, o progresso dessa qualidade deve ser constante, através da conscientização e treinamento dos produtores e técnicos de campo, no cumprimento de medidas higiênico-sanitária, bem como da legislação e normativas, e é claro do cumprimento dos programas de autocontrole das indústrias de laticínios, podendo oferecer ao consumidor produtos compatíveis à exigência comercial.

É notável a necessidade de medidas rigorosas das indústrias diante os produtores e por parte dos órgãos competentes pela fiscalização nas indústrias e à nível de campo aos produtores. Dessa forma, espera-se que os dados obtidos na pesquisa colaborem para a fiscalização pelas autoridades competentes a nível de indústrias farmacêuticas veterinárias, indústrias lácteas e propriedades rurais.

CONCLUSÃO

A composição química do leite dos animais tratados, manteve-se dentro dos parâmetros recomendados pela normativas brasileiras, além disso, foi observado redução da CCS e variação da CBT, tendendo a redução.

Detectou-se presença de resíduos químicos no leite de vacas tratadas com diferentes grupos de antibióticos, após o período de carência indicado nas bulas dos medicamentos utilizados.

Resíduo químico foi detectado após 24 horas da aplicação no antibiótico considerado descarte zero.

Foi observado prejuízo para a indústria e para o produtor, causado pelo descarte do leite com presença de resíduos de antibióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, M. M.; BABAEI, H.; ANSARIN, M.; NOURDADGAR, A.; NEMATI, M. Simultaneous determination of tetracyclines residues in bovine milk samples by solid phase extraction and HPLC-FL method. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 1, n. 1, p. 34-39, 2011.

ADEWUYI, G. O., OLATOYE, O. I., ABAFE A. O., OTOKPA, M. O.; NKUKUT, M. K. (2011). High performance liquid chromatographic method for evaluation of two antibiotic residues in liver and muscles of broilers in Ibadan city, Southern Nigeria. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, 11(11): p. 1-4.

AGUIAR, A. C. R.; JÚNIOR, V. R. R.; CALDEIRA, L. A.; ALMEIDA FILHO, S. H. C.; RUAS, J. R. M.; SOUZA, V. M.; ASSIS, P. D. A.; Composição do leite de vacas alimentadas com diferentes fontes de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, n. 3, 591-605. 2015.

ALMEIDA, L. P.; VIEIRA, R. L.; ROSSI, D. A.; CARNEIRO, A. L.; ROCHA, M. L. Antibiotic residues in milk of rural properties of Uberlândia MG region. **Journal Biosci.** v. 19, n. , p. 83-87, september – december 2003.

ANDRADE, L. M.; EL FARO, L.; CARDOSO, V. L. Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.343-349, 2007.

ANDREW D. MCEACHRAN; BRETT R. B; DELTON, J. H; KIMBERLY, J. W; GREGORY, D. M; STEPHEN, B. C; PHILIP, N. S. Antibiotics, Bacteria, and Antibiotic Resistance Genes: Aerial Transport from Cattle Feed Yards via Particulate Matter. National Institute of Environmental Health Sciences. 2015.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVET). Relatório 2006-2007, Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo. p. 17. 2009.

ARAÚJO, W. A. G.; CARVALHO, C. G. V.; MARCONDES, M. I.; SACRAMENTO, A. J. R.; PAULINO, P. V. R.; Ocitocina exógena e a presença do bezerro sobre a produção e qualidade do leite de vacas mestiças. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 49(6), 465-470. 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Conheça a ABNT**. Disponível em: <<http://www.abnt.org.br/abnt/conheca-a-abnt>>. Acesso em: 04 jun. 2017.

BÁEZ, F.; HERRERA, F. R.; IZAGUIRRE, L. R.; Evaluación de la Residualidad em Leche de una Suspensión Antibiótica Inyectable sobre la base de Cefotiofur Sódico (Qrex®)* em vacas lecheras de la Sierra de Machaci – Ecuador**; **Agrovet market animal health**. 2009.

BANSAL, B. K.; BAJWA, N. S.; RANDHAWA, S. S.; RANJAN, R.; DHALIWAL, P. S. Elimination of erythromycin in milk after intramammary administration in cows with specific mastitis: relation to dose, milking frequency and udder health. *Tropical Animal Health and Production*, v. 43, p. 323-329, 2011.

BARLOW, J. Mastitis Therapy and antimicrobial susceptibility: a multispecies review with a focus on antibiotic treatment of mastitis in dairy cattle. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, n. 4, p. 383-407, 2011.

BASTOS, L. P. F.; Avaliação da capacidade de detecção de resíduos de antimicrobianos no leite por um método de inibição microbiana. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal, na área de concentração: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Escola Veterinária, UFMG.

BAVA, L.; ZUCALI, M.; SANDRUCCI, A.; BRASCA, M.; VANONI, L.; ZANINI, L.; TAMBURINI, A. Effect of cleaning procedure and hygienic condition of milking equipment on bacterial count of bulk tank milk. **Journal of Dairy Research**, v. 78, n. 2, 2011.

BESERRA, E. E. A.; VIEIRA, R. J.; SOUZA, J. A. T.; NUNES, J. F.; Efeito do

nitrogênio ureico no leite sobre a eficiência reprodutiva de vacas da raça Girolando. **Revista Científica de Produção Animal**, 11(1). 2009.

BOGIALLI, S., CORCIA, A. Recent applications of liquid chromatography-mass spectrometry to residue analysis of antimicrobials in food of animal origin. *Analical Bioanalytical Chemistry*, v.395, p.947-966, 2009.

BORGES, K. A.; REICHERT, S.; ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; Avaliação da qualidade do leite de propriedades da região do Vale do Taquari no estado do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**. 37(1): 39-44. 2009.

BORGES, G. T.; SANTANA, A. P.; MESQUITA, A. J.; MESQUITA, S. Q. P.; SILVA, L. A. F.; NUNES, V. Q. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, Goiás, v. 1, n. 1, p. 59-63, 2000.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 dez. 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 31 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.apcbrh.com.br/files/IN62.pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa N.º 42, de 20 de dezembro de 1999. Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 dez.1999b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa N.º 34 de 14 de julho de 2011. Resolve acrescentar um anexo da Instrução Normativa N.º 01, de 16 de janeiro de 2007, o inciso XVI no art. 7º e os arts,33, 34 e 35, com as seguintes redações: comprovante de acreditação na Norma ABNT NBR ISO/IEC

17025 – Requisitos Gerais para a Competência de Laboratório de Ensaio e Calibração, emitido pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – Inmetro, válido e atualizado, para todas as determinações analíticas ou ensaios para os quais o credenciamento foi solicitado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 jul. 2011a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa N.º 62, de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília (DF), 30 dez. 2011b.

BRITO, J. R. F. et al. Adoção de boas práticas agropecuárias em propriedades leiteiras da Região Sudeste do Brasil como um passo para a produção de leite seguro. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 32, n. 2, p. 125-131, 2004.

BROWN, CHESTER AND ROBB. Effects of age on the pharmacokinetics of single dose ceftiofur sodium administered intramuscularly or intravenously to cattle. *J Vet Pharma Thera*. 19: 32-38, (1996).

BUKUKU, J.N. (2013). Awareness of health risks as a result of consumption of raw milk in Arusha City and Meru District, Tanzania. Unpublished dissertation for award of MSc. degree at Sokoine University of Agriculture, Morogoro, Tanzania. pp 1 - 89.

CALDEIRA, L. G. M. Pesquisa de resíduos de antimicrobianos em ovos e validação de método multirresíduos qualitativo e confirmatório por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial. Tese apresentada à UFMG. 2012.

CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F.; CARDOSO, F. Diagnóstico da qualidade do leite na região Sudeste entre 2005 e 2008. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 3., 2008, Recife. *Anais...* Recife-PE, 2008.

Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. OJ L 15, 20.1.2010, p. 1.

CARNEIRO, L.; MP investiga mais uma empresa do RS por presença de álcool no leite. 2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/rs/rio-grande-do-sul/campo-e-lavoura/noticia/2014/08/mp-investiga-mais-uma-empresa-do-rs-por-presenca-de-alcool-no-leite.html>>. Acesso em: 19 jun. 2017

CARRARO, C. N. M.; Resíduos de antibióticos no leite provenientes de quartos tratados e não-tratados de vacas leiteiras utilizando métodos de inibição microbiana e enzimático. Curitiba, 1999. 89 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Setor de Tecnologia Química, Universidade Federal do Paraná. 1999.

CRISTINA, M; MELO, R. T.; MENDONÇA, E. P.; COELHO, L. R.; ROSSI, D. A.; Uso de ceftiofur em vacas leiteiras e sua excreção no leite. **Pubvet**, Londrina, V. 4, N. 33, Ed. 138, Art. 937, 2010.

DAVE, M; HIGGINS, P.D; MIDDHA, S; RIOUX, K.P. The human gut microbiome: Current knowledge, challenges, and future directions. *Transl Res.* 2012;160:246–257.

DOYLE, M. E. Veterinary Drug Residues in Processed Meats – Potential Health Risk (A Review of the Scientific Literature). 2006. EMEA. European Medicines Agency Veterinary Medicines and Inspection. Committee for Veterinary Medicinal Products. Lincomycin. Summary Report (2).

DRAAIYER, J.; DUGDILL, B.; BENNETT, A.; MOUNSEY, J. **Milk testing and payment systems**: Resource Book: a practical guide to assist milk producer groups. Rome: FAO, 2009. 77 p.

DÜRR, J. W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: Uma oportunidade única. In: Dürr, J. W.; Carvalho, M. P.; Santos, M. V. (ed.). O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2004. p.38-55.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1315-1320, 2004.

FDA Animal drugs, feed, and related products: ceftiofur sterile powder. **Federal Register**, v. 53, p. 5365 – 5370, 1988.

FDA. Food and Drug Administration. Implantation or injectable dosage form: new animal health drugs not subject to certification: ceftiofur sterile powder. **Federal Register**, v. 56, p. 12119, 1991.

FECTEAU, HOUSE, KOTARSKI, TANKERSLEY, ONTIVEROS, ALCANTAR, AND SMITH. Efficacy of ceftiofur for treatment of experimental salmonellosis in neonatal calves. *American Journal of Veterinary Research*, 64: 918- 925,(2003).

FEJZIC, N., BEGAGIC, M., SERIC-HARACIC, S., SMAJLOVIC, M. Beta lactam antibiotics residues in cow's milk: comparison of efficacy of three screening tests used in Bosnia and Herzegovina. *Bosn Journal Medical Sciences*. Aug; 14(3): 155–159, 2014.

FOLLY, M. M.; UÉBE, P. M.; TEIXEIRA, G. N.; LESSA, S. S. A.; DE ALMEIDA CARLOS, L.; LEAL, M. L.; Determinação de resíduos do antibiótico cloxacilina em leite de vacas com elevada contagem de células somáticas. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**. v. 1, n. 1, p. 13-24, 2008.

GIGUÈRE, S. Tetracyclines and glycylicyclines. In: _____. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 4. ed. Ames: Ed.Blackwell publishing, 2006b. p. 231-240.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. D. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 216-222, 2005.

GUSTAVSSON, E. AND STERNESJO A. (2004): Biosensor analysis of β -lactams in milk: comparison with microbiological, immunological, and receptor-based screening methods. *Journal of AOAC International*, 87: 614–620.

HENRICHES, S. C.; MACEDO, R. E. F.; KARAM, L. B.; Influência de indicadores de qualidade sobre a composição química do leite e influência das estações do ano sobre

esses parâmetros. **Revista acadêmica: ciências agrárias e ambiental**. Curitiba, v. 12, n. 3, p. 199-208, 2014.

HOSEN S. M. Z.; KAMAL, A. T. M.; BARUA, S.; ANWAR, S.; MAZUMDER K.; KAWSAR H.; Arifuzzaman. **Detection of Residual Antibiotics in Fresh Cow Milk**. University of Science & Technology Chittagong. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*; Vol. 13, No. 2, July 2010 ISSN 0301-4606.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF) 148-2 - Milk - Enumeration of somatic cells – Part. 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. Brussels, Belgium, 2006. 16p.

ITO, N.M.K.; MYIYAJI, C.I.; LIMA, E.A. et al. Antimicrobianos: Usos preventivos e curativos em avicultura. *In*: Palermo-Neto, J., Spinosa, HS. & Górnaiak, SL.: Farmacologia Aplicada à Avicultura. Editora: Roca, São Paulo, p. 115-147, 2005.

KAMEYAMA K, ITOH K. Intestinal colonization by a *Lachnospiraceae* bacterium contributes to the development of diabetes in obese mice. *Microbes Environ*. 2014;29:427–430

KATAKWEBA, A.A.S., MTAMBO, M.M.A., OLSEN, J.E. AND MUHAIRWA, A.P. (2012). Awareness of human health risks associated with the use of antibiotics among livestock keepers and factors that contribute to selection of antibiotic resistance bacteria within livestock in Tanzania. *Livestock Research for Rural Development* 24(10): Article #170. [<http://www.lrrd.org/lrrd24/10/kata24170.htm>] site visited on 04/07/2017.

KELLY, P. T.; O'SULLIVAN, K.; BERRY, D. P.; MORE, S. J.; MEANEY, W. J.; O'CALLAGHAN, E. J.; O'BRIEN, B. Farm management factors associated with bulk tank total bacterial count in Irish dairy herds during 2006/07. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, p. 36-42, 2009.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Edição 2005/2006. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

- LINDMARK-MANSSON, H.; FONDÉN, R.; PETTERSON, H.E. Composition of Swedish dairy milk. *Int. Dairy J.*, v.13, p.409-425, 2003.
- MACHADO, J. A. C. Quinolonas: Revisão de Literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça. n.12, p.1, periódicos semestral, 2009.
- MALACARNE, R.; MACHADO, M.; COLOMBO, S. G.; SELEME, R.; DROZDA, F. O. Fatores determinantes para a qualidade do leite nas propriedades rurais. VI Congresso Brasileiro de engenharia de produção. Dezembro 2016.
- MANDEL, G. L.; PETRI JR, W. A. Farmacos Antimicrobianos: Sulfonamidas, trimetropina-sulfametoxazol, quinolonas e agentes para infecção das vias urinárias. In: GILMAN, A. G. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 9 ed. McGraw-Hill Companies. 1997. p. 775-789.
- MARCÍLIO, T., **Qualidade do leite**. Universidade Castelo Branco, Florianópolis – SC, 2008.
- MARTINS, M. E. P.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J.; NEVES, R. B. S.; ARRUDA, M. T. Qualidade de leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 9, p. 7, 2008.
- MARTINS, S. C. S. G.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CALDEIRA, L. A.; REIS, S. T.; BARROS, I. C.; OLIVEIRA, J. A.; SILVA, G. W. V.; Rendimento, composição e análise sensorial do queijo minas frescal fabricado com leite de vacas mestiças alimentadas com diferentes volumosos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(4), 993-1003. 2012.
- MCEWEN, S. S; BLACK, W. D; MEEK, A. H. Antibiotic residues (bacterial inhibitory substances) in the milk of cows treated under label and extra label conditions. **Can Vet J**, 33, 527-534. 1992.

MELO, C. W. B., Avaliação da gestão da qualidade na empresa Viva Mais Indústria e Comércio de Laticínios LTDA. Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras – PB, 2013.

MENDES, C. G.; SAKAMOTO, S. M.; SILVA, J. B. A.; LEITE, A. Í. Pesquisa de resíduos de beta-lactâmicos comercializado clandestinamente no município de Mossoró, RN, utilizando o delvotest sp. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 95-98, 2008.

MENSAH, S.E.P., KOUDANDE, O.D., SANDERS, P., LAURENTIE, M., MENSAH, G.A. AND ABIOLA, F.A. (2014). Antimicrobial residues in foods of animal origin in Africa: public health risks. *Scientific and Technical Review*.33(3): 1-26.

MOORE, J.C; SPINK, J.; LIPP, M.; Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 77, n. 4, p.118-126, 2012.

MUHAMMAD, Z. Determination of antimicrobial residues and the effect of heat treatment on residual concentration of some antimicrobial drugs in fresh cow milk in zaria, nigeria. **Department of veterinary public health and preventive medicine**, 2015.

MITCHELL, J. M.; *et al.* Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and tests preformance. *Journal Food Protection*, v. 61, n. 6, p. 742-756, 1998.

NASCIMENTO, G. G. F.; *et al.* Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 14, n.2, p. 119-124, 2001.

NAVRATILOVA P, BORKOVKOVA I, DRACKOVA M, JANSTOVA B, VORLOVA L. Occurrence of tetracycline, chlortetracycline and oxytetracycline residues in raw cow's milk. *Czech J Food Sci* 2009; 27: 379-385.

NETO, A. E.; JÚNIOR, F. G.; ARAÚJO S. J. C.; SILVA, L. C. A.; MATOS, R. A. T.;

Avaliação de resíduo de antibiótico em amostras de leite de vacas após a terapia de vacas secas. **Arquivos do Instituto Biológico**, 82, 01-04. 2015.

NEW SNAP Beta –Lactam Test Kit. 2009. IDEXX Laboratories Inc, Westbrook, Maine. Disponível em: <http://www.idexx.com/search/index.jsp>. Acesso em: 19 de março 2017.

NOORI, N., KARIM, G., RAEESIAN, M., KHANEGHAHI ABYANEH, H., BAHONAR, A.R., AKHONDZADEH BASTI, A., Ghadami, F. Antibiotic residues and aflatoxin M1 contamination in milk powder used in Tehran dairy factories, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*. 2013.

NAVRATILOVÁ P. Screening methods used for the detection of veterinary drug residues in raw cow milk - A review. *Czech Journal Food Science, Slezská*, v. 26, n. 6, p. 393-401, 2008.

OLIVER, S. P.; MURINDA, S. E. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 28, n. 2, p. 165-185, 2012.

PACHECO, W. F.; ARRUDA, P. C. L.; CARMO, A. B. R.; LIMA, F. W. R. A Cadeia Produtiva do Leite: Um Estudo sobre a Organização da Cadeia e Análise de Rentabilidade de uma Fazenda com Opção de Comercialização de Queijo ou Leite. **RRCF**. Fortaleza, v.3, n. 1, 2012.

PAIVA, C.A.V; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.S; LANA, A.M.Q. Evolução anual da qualidade do leite cru refrigerado processado em uma indústria de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.64, n.2, p.471-478, 2012.

PETRI. Penicillins, cephalosporins, and other β - lactam antibiotics. 12th ed. In: Brunton LL, BA Chabner, BC Knollman (Eds). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. McGraw-Hill New York, 1477- 1504, (2011).

PHILPOT, N. W. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que

afetam a qualidade do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE A QUALIDADE DO LEITE, **Anais...** Curitiba: [s.n], v. 55, p. 315, 2000.

PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 7, 2006.

PINZÓN-SÁNCHEZ, C.; RUEGG, P. L. Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3397-3410, 2011.

PORTELA, V. O. et al. Qualidade do leite nas propriedades de bovinocultura leiteira da região noroeste do RS, dados preliminares. *Revista Interdisciplinar de Ensino, Pesquisa e Extensão*, Vol. 2, n. 1, 2014.

PORTZ, A. J.; COUTO, E. P.; AGUIAR, F. M.; Resíduos de antibióticos e qualidade microbiológica de leite cru e beneficiado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 73(4), 345-350. 2015.

PRESCOTT, J. F. Beta-lactam Antibiotics: penam penicilins. In: GIGUÈRE, S. et al. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 4. ed. Ames: Ed.Blackwell publishing. 2006. p.159-170.

PROGRAMA de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal – PAMVet. Agência Nacional de Vigilância Sanitária , relatório 2006/2007. 73 p. Monitoramento de resíduos em leite exposto ao consumo (4º e 5º anos de atividade), 2009.

RAMÍREZ, G. D.; VÉLEZ, G.; & RONDÓN, L. S.; Determinación de residuos de antibióticos y tiempo de retiro en leche proveniente del municipio de Cartago Valle del Cauca. **Revista Colombiana de Ciência Animal**. V5-n1. Ibagé.2012.

REIS, S. R.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V.; Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**

Zootecnia, 55(6), 651-658. 2003.

RIBEIRO, M. G.; GERALDO, J. S.; LANGONI, H., LARA; G. H. B.; SIQUEIRA, A. K.; SALERNO, T.; FERNANDES, M. C.; Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 52-58. 2014.

RIBEIRO, M. G.; GERALDO, J. S.; LANGONI, H., LARA; G. H. B.; SIQUEIRA, A. K.; SALERNO, T.; FERNANDES, M. C.; Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 52-58. 2009.

RIEDIKER S., RYTZ A., STADLER R.H. Cold-temperature stability of five β -lactam antibiotics in bovine milk and milk extracts prepared for liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis. *J Chromatogr A* 2004, 1054, 359-363.

ROSA, D.C.; TRENTIN, J.M.; PESSOA, G.A.; SILVA, C.A.M.; RUBIN, M.I.B; Qualidade do leite em amostras individuais e de tanque de vacas leiteiras. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.79, n.4, p.485-493, 2012.

RUGGED results in a snap. 2009. IDEXX Laboratories Inc, Westbrook, Maine . Disponível em: <http://www.idexx.com/dairy/snap/index.jsp>. Acesso em: 29 março 2009.

SAMANDOULOGOU, S.; ILBOUDO, A. J.; BAGRE, T. S.; TAPSOBA, F.; SAVADOGO, A.; SCIPPO, M.; TRAORE, A. S. Screening of antibiotics residues in beef consumed in Ouagadougou, Burkina Faso. *African Journal of Food Science*. Vol. 9(6) pp. 367-371, June 2015 DOI: 10.5897/AJFS2015.1291.

SANTOS, M.V. A qualidade do leite no Brasil. **Inforleite**, p. 30-32, 2013.

SERRAINO, A. ; GIACOMETTI, F.; MARCHETTI, G.; ZAMBRINI A. V.; GIAMPAOLO ZANIRATO, G.; MATTIA FUSTINI & ROBERTO ROSMINI. Survey on Antimicrobial Residues in Raw Milk and Antimicrobial Use in Dairy Farms in the Emilia- Romagna Region, Italy. *Italian*

Journal of Animal Science. DOI: 10.4081/ijas.2013.e68. Volume 12. 2013.

SHITANDI, A. (2004). Risk factors and control strategies of antibiotic residues in milk at farm level in Kenya. Thesis for award of degree of Doctor of Philosophy (PhD) at the Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 36pp. ISSN 1401-6249. ISBN 91-576-6477-3.

SILVA, M. A. P. D.; SANTOS, P. A. D.; ISEPON, J. D. S.; REZENDE, C. S. M. E.; LAGE, M. E.; NICOLAU, E. S. Influência do transporte a granel na qualidade do leite cru refrigerado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, p. 381-387, 2009.

SNAP* Tetracycline Test Kit(tetracycline, chlortetracycline, oxytetracycline). 2009. IDEXX Laboratories Inc, Westbrook, Maine. Disponível em: <http://www.idexx.com/search/index.jsp>. Acesso em: 19 jun. 2017.

SOBHY, D. W. ELDALY, A. E.; THARWAT, ELA. M.; I. YOSHINORI; N. SHOUTA; I. MAYUMI. Antibiotic residues in food: the African scenario. Japanese Journal of Veterinary Research, 61(Supplement): S13-S2. DOI: 10.14943/jjvr.61.suppl.s13. 2013.

SOUZA, G.N.; PAIVA E BRITO, M.A.V.; LANGE, C.C. *et al.* Qualidade do leite de rebanhos bovinos localizados na Região sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Janeiro/2007 a Junho/2008. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 3., 2008, Recife. *Anais...* Recife, 2008, 373 p.

SWANTARA, S., SANJAY, S., NEELAM, T., NITESH, K. AND RITU, P. Antibiotic residues: a global challenge. **Pharma Science Monitor**, 5(3): 184-197. (2014).

THE INDEX MERCK, Merck, Thirteenth edition, Rahway, 2001.

TITOUCHE Y., A. HAKEM (EX AKAM) , K. HOUALI , B. YABRIR, MALKI, A. CHERGUI, N. CHENOUF, S. YAHIAOUI, M. LABIAD, H. GHENIM, S. KECHIH-BOUNAR, F. CHIRILĂ , G. NADĂȘ and N.I. FIȚ. Detection of Antibiotics Residues in Raw milk Produced in Freha Area (Tizi-Ouzou), Algeria. Bulletin UASVM,

Veterinary Medicine, 70(1)/2013.

TOLLEFSON, L. AND MILLER, M. A. 2000. Antibiotic use in food animals: controlling the human health impact. *J. AOAC. Int.*, **83**: 245-256.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Dairy: World Markets and Trade. 2014. Disponível em: . Acesso em: 10 mai. 2017.

VALLIN, V. M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, P. A. P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; LOPES, A. H.; CAVALETTI, C. S. L.; Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, 30(1). 2009.

VIDAL-MARTINS A.M.C., BURGER K.P., GONÇALVES A.C.S., GRISOLIO A.P.R., AGUILAR C.E.G. & ROSSI G.A.M.R. 2013. Avaliação do consumo de leite e produtos lácteos informais e do conhecimento da população sobre os seus agravos à saúde pública, em um município do Estado de São Paulo, Brasil. *Indústr. Anim.*70(3):221-227.

VASCONCELOS S.A & ITO F.H. 2011. Principais zoonoses transmitidas pelo leite. *Revta Educ. Contin. Med. Vet. Zootec.* 9(1):32-37.

VIANNA A.C. 2009 Avaliação de queijo de coalho produzido com bactérias lácticas endógenas. Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador. 80p.

VIEIRA, T. S. W. J.; RIBEIRO, M. R.; NUNES, M. P.; JUNIOR, M. M.; NETTO, D. P. **Detection of antibiotic residues in pasteurized milk samples from Paraná State, Brazil.** DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n2p791.

VINHOLIS, M. D. M. B.; BRANDÃO, H. D. M. Economia de escala no processo de resfriamento do leite. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 245-251, 2009.

VRAGOVIĆ, N., BAŽULIĆ, D., NJARI, B., 2011. Risk assessment of streptomycin and

tetracycline residues in meat and milk on Croatian market. *Food Chem. Toxicol.* 49: 352-355.

ZAFALON, L. F.; FILHO, N. A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D.; Mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 577-585. 2009.

ZEFERINO, E. S.; CARVALHO, C. D. C. S.; ROCHA, L. A. C.; RUAS, J. R. M.; REIS, S. T.; Qualidade do leite produzido no semiárido de Minas Gerais. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 16(1), 54-60. 2017.

ZHAN, J., YU, X., ZHONG, Y., ZHANG, Z., CUI, X., PENG, J., FENG, R., LIU, X., ZHU, Y.. Generic and rapid determination of veterinary nary drug residues and other contaminants in raw milk by ultra performace liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogra.* 2012. B 906:48-57.

ZOETENDAL. E.G; COLLIER, C.T; KOIKE, ;, MACKIE, R.I; GASKINS, H.R. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: A review. *J Nutr.* 2004;134:465-472.