



RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS: LEITE FRESCO DOS TANQUES DE EXPANSÃO EM ALAGOAS

ARTIGO ORIGINAL

SOARES, Karla Danielle Almeida¹, ALVES, Elizabeth Simões do Amaral², SILVA, João Manoel da³, VIANA, Cibeli⁴, CAVICCHIOLI, Valéria Quintana⁵, ANDRADE, Andrezza Cavalcanti de⁶, ALVES, Aglair Cardoso⁷, TORRES, Alisson Rogério dos Santos⁸, MOURA, Vilton Edson Figueiroa de⁹, SOARES, Anísio Francisco¹⁰, SILVEIRA, Ana Virgínia Marinho¹¹, MEDEIROS, Elizabeth Sampaio de¹²

SOARES, Karla Danielle Almeida. *et al.* **Resíduos de Antibióticos: Leite Fresco dos Tanques de Expansão em Alagoas**. Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ano 08, Ed. 11, Vol. 02, pp. 166-173. Novembro de 2023. ISSN: 2448-0959. Link de Acesso: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/agronomia/residuos-de-antibioticos>, DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/agronomia/residuos-de-antibioticos

RESUMO

O leite é um alimento amplamente consumido pela população, sendo crucial que seja produzido em condições higiênicas adequadas e livre de contaminantes químicos de várias origens. O objetivo deste estudo foi testar a presença de resíduos de antibióticos em leite fresco proveniente de tanques de expansão municipais no Estado de Alagoas. Foram coletadas 42 amostras de leite em frascos estéreis de aproximadamente 50 mL. Essas amostras foram congeladas e enviadas para serem submetidas aos métodos oficiais de análise do Ministério da Agricultura. No laboratório, foram realizadas análises qualitativas de multi-resíduos em diferentes matrizes e determinação de resíduos de antibióticos beta-lactâmicos em leite bovino por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). Em 95,2% (40/42) das amostras analisadas, não foi detectada a presença de resíduos de antibióticos; no entanto, em duas amostras (4,8%), a presença de resíduos foi detectada, mas em níveis que não puderam ser quantificados. As amostras estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. Este estudo concluiu que não havia resíduos de antibióticos em níveis quantificáveis nas amostras analisadas. Portanto, sugere-se que esses antimicrobianos sejam monitorados no leite para garantir a ausência desses resíduos e assegurar um produto de qualidade, essencial para a saúde pública.



Palavras-chave: Saúde pública, Segurança alimentar, Agentes anti-infecciosos, Alimentos de origem animal.

1. INTRODUÇÃO

A presença de resíduos de antimicrobianos no leite representa um potencial risco para a saúde pública, e uma das principais preocupações é garantir a segurança da matéria-prima, uma vez que a presença de substâncias químicas altera a qualidade e causa danos econômicos à cadeia industrial de laticínios, comprometendo relações comerciais e colocando em perigo a saúde dos consumidores nos aspectos microbiológicos, imunopatológicos e toxicofarmacológicos (Rosa *et al.*, 2023).

Esta avaliação de resíduos de antibióticos baseia-se no uso indiscriminado de medicamentos veterinários para tratar mastite em bovinos leiteiros, onde, na maioria dos casos, o período de carência não é respeitado, resultando em resíduos desses medicamentos nos produtos animais, contribuindo para e promovendo a seleção de bactérias super-resistentes (Brown, 2020).

A legislação brasileira exige a medição regular dos tanques de cada veículo que transporta leite para a indústria de processamento, com pelo menos duas classes de antibióticos sendo testadas, em conformidade com os Limites Máximos de Resíduos (LMRs) para cada grupo específico (Brasil, 2018).

Vale ressaltar que os medicamentos usados para tratar animais que são prejudiciais à saúde devem ser mensurados e estabelecidos LMRs, que fornecem um limite de tolerância para sua presença nos alimentos sem causar danos a humanos ou animais (Quintanilla, 2021).

Portanto, é importante observar que os beta-lactâmicos são antimicrobianos amplamente utilizados em animais com mastite bovina. No entanto, algumas bactérias que causam patologias nos animais são capazes de induzir mecanismos de resistência após a exposição a esses antimicrobianos, o que afeta a eficácia dos tratamentos, como a produção de *beta-lactamase*, que é o mecanismo de resistência mais comum encontrado em *Staphylococcus spp.* (El Behiry *et al.*, 2012).



Taxas elevadas de contaminação por resíduos podem ocorrer quando há falta de controle sobre a venda e uso de antimicrobianos veterinários, conscientização entre os agricultores e melhorias nas condições de higiene e eficácia da inspeção de alimentos (Silva *et al.*, 2023). Considerando a importância para a saúde pública e a indústria da presença de resíduos de antimicrobianos no leite, o objetivo deste estudo foi investigar resíduos de antibióticos em leite fresco proveniente de tanques de expansão municipais no Estado de Alagoas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 42 amostras de leite fresco de tanques de expansão comunitária pertencentes a uma Cooperativa de Produtores de Leite no estado de Alagoas. Foram entrevistados 100 produtores que forneciam leite para esses tanques comunitários. O estudo foi realizado em 23 municípios pertencentes às três mesorregiões do estado, que apresentam diferentes características físicas, econômicas, sociais e culturais (Agreste Alagoano, Leste Alagoano e Sertão Alagoano). As amostras foram coletadas em frascos estéreis de aproximadamente 50 mL, congeladas e enviadas para o Laboratório Nacional Agropecuário do Rio Grande do Sul para serem submetidas aos métodos oficiais do Ministério da Agricultura. No laboratório, foi realizada uma análise qualitativa de multi-resíduos em várias matrizes, e foram determinados os resíduos de antibióticos beta-lactâmicos no leite bovino usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS).

Para a análise de multiresíduos, foram utilizados 500 µL de leite e seguido o protocolo recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram utilizados controles positivos fortificados no LMR e CC β (níveis de adição nos quais os procedimentos deste método têm uma taxa de falso negativo inferior a 5%) e três amostras fortificadas após o processo de extração. As amostras de leite foram então extraídas e controles preparados, seguidos pela detecção de resíduos no cromatógrafo. Os resultados são expressos como positivos e negativos para a presença de resíduos. Os resultados positivos foram confirmados usando o método LC-MS/MS para quantificar os níveis detectados. Os analitos estudados pertencem às classes: *Tetraciclina* (*Tetraciclina*, *Oxitetraciclina*, *Clortetraciclina*, *Doxiciclina*);



Sulfonamidas (Sulfadiazina, Sulfatiazol, Sulfametazina, Sulfametoxazol, Sulfacinoxalina, Sulfadimetoxina, Sulfadoxina, Sulfaclopiridazina, Sulfamerazina, Sulfizoxazol); *Quinolonas* (ácido nalidíxico, ácido oxolínico, flumequina); *Fluoroquinolonas* (ciprofloxacino, enrofloxacino, difloxacino, sarafloxacino, danofloxacino, norfloxacino).

Para a determinação de resíduos de antibióticos *beta-lactâmicos* no leite bovino, foram utilizados 2 mL de leite de acordo com o protocolo recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). As amostras de leite foram extraídas com um solvente orgânico para obter um extrato purificado. A amostra foi extraída com acetonitrila, passou por uma etapa de limpeza, evaporada, retornada à fase móvel, e o sobrenadante foi analisado diretamente no sistema LC-MS/MS. Os resultados são expressos como níveis de resíduos quantificáveis. Os analitos testados pertencem às classes *beta-lactâmicas* (*penicilina G*; *penicilina V*; *ampicilina*; *amoxicilina*; *oxacilina*; *cloxacilina*; *dicloxacilina*; *ceftiofur*; *trimetoprima*).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostras analisadas qualitativamente para a presença ou ausência de resíduos de antibióticos, uma porcentagem de 95,2% (40/42) das amostras de leite não detectou a presença de resíduos de antibióticos, enquanto 4,8% (2/42) detectaram a presença de níveis não quantificáveis pela análise confirmatória. Esses níveis estão acima do limite de detecção e abaixo do limite de quantificação, estando assim dentro dos padrões estabelecidos pela legislação para a presença de resíduos de antibióticos no leite.

Os níveis que não podem ser quantificados pela análise confirmatória representam o desempenho analítico (incerteza de medição) em um determinado nível de confiança, detectando a sensibilidade aos Limites Máximos de Resíduos (LMRs), bem como valores de limite de decisão (CCa) e capacidade de detecção (CCβ), sendo que CCa é o menor nível de concentração no qual o método pode discriminar a presença de um composto com 95% de certeza estatística (Brasil, 2006).



O *Codex Alimentarius* considera resíduos de medicamentos como a fração do medicamento e de seus derivados biotransformados presentes em alimentos de origem animal que foram tratados, e estabelece que o leite deve estar livre de contaminantes em níveis prejudiciais à população consumidora. Portanto, a legislação recomenda a detecção de antimicrobianos no leite de tanque, respeitando os LMRs para cada grupo específico (Brasil, 2018).

Durante a pesquisa, 100% (100/100) dos produtores de leite relataram que não tiveram casos de mastite em seu rebanho durante o período da pesquisa e que não utilizaram nenhum tipo de tratamento antibiótico para qualquer doença. No entanto, ao serem questionados sobre o tipo de antibiótico utilizado quando ocorriam casos de mastite e outras doenças no rebanho, 3% (3/100) dos produtores disseram usar antibióticos à base de tetraciclina, 2% (2/100) utilizavam *fluoroquinolonas*, enquanto 9% (9/100) utilizavam *beta-lactâmicos*. A maioria restante relatou que não houve doenças de nenhum tipo no rebanho (25%), e a maioria não conseguiu lembrar o tipo de medicamento utilizado quando necessário (61%).

Vale ressaltar que, de acordo com o estudo de Silva, Silva e Ribeiro (2012), os antimicrobianos mais comumente utilizados nos artigos analisados em sua revisão sistemática são as tetraciclina (17,24%) e os *beta-lactâmicos* (13,79%).

Embora nenhum tratamento antibiótico tenha sido realizado de acordo com o fabricante, as classes *fluoroquinolona (norfloxacin)* e *tetraciclina (oxitetraciclina)* foram detectadas nessas amostras. Apesar de detectados, esses medicamentos não foram quantificados, como descrito na Tabela 01.



Tabela 01: Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite fresco no estado de Alagoas

Antibiotic Classes	ND (%)	Det. (%)	NQ (%)	Quant. (%)
Tetracyclines	87,6	2,4	100	0
Sulfonamides	100	0	100	0
Quinolones	100	0	100	0
Fluoroquinolones	87,6	2,4	100	0
Beta-lactams	100	0	100	0

ND = Not detected/ Det. = Detectable/ NQ = Non-Quantifiable/ Quant.= Quantifiable

Fonte Autores, 2023.

Dessa forma, todas as amostras analisadas estão em conformidade com a Instrução Normativa 76, que recomenda a ausência de resíduos de antibióticos no leite de vaca (Brasil, 2018).

De acordo com os produtores, os laticínios que compram o leite controlam a qualidade do produto testando a presença de resíduos de antibióticos, o que é feito internamente.

Cansan, Gorodicht e Kindlein (2023) encontraram a presença de resíduos de antimicrobianos em 38,05% (242/636) das amostras de leite cru de laticínios no Rio Grande do Sul, das quais (394/636) foram negativas, representando 61,95%, com *beta-lactâmicos* identificados em 39,67%, seguidos por aminoglicosídeos em 25,21%.

Nenhum resíduo de antibióticos pertencentes à classe dos *beta-lactâmicos* foi detectado neste estudo; no entanto, a literatura mostra que os *beta-lactâmicos* são os antibióticos frequentemente utilizados para tratar mastite em bovinos leiteiros (38,22%), seguidos pelas tetraciclina com 15,41% (Sachi, 2019).



Alves *et al.* (2023) testaram a presença de resíduos de antibióticos em leite cru refrigerado de 18 fazendas em Vitória da Conquista - BA, e encontraram resíduos de antibióticos das classes *beta-lactâmicos* e tetraciclinas em duas amostras.

Carvalho *et al.* (2012), utilizando o *Kit Delvotest* - SP, que utiliza metodologia microbiana (cepas bacterianas de *Bacillus stearothermophilus*), examinaram 18 propriedades na zona rural do município de Araisos - MA durante as estações chuvosa e seca para a presença de resíduos e encontraram 100% das amostras como negativas, conforme observado neste estudo.

Vieira *et al.* (2012) detectaram resíduos de antimicrobianos em 19% (15/79) de amostras de leite pasteurizado de estabelecimentos comerciais no estado do Paraná. Eles utilizaram kits ELISA comerciais e encontraram *cloranfenicol*, *tetraciclinas*, *gentamicina*, *estreptomicina* e *beta-lactâmicos* nas amostras positivas.

De acordo com Poupaud *et al.* (2021), as razões para controlar os resíduos de antibióticos no leite devem-se à introdução desses resíduos na cadeia alimentar, o que contribui para a resistência aos antimicrobianos, causa problemas econômicos para a indústria de laticínios, contribui para alergias humanas devido ao consumo de matérias-primas contaminadas, uma vez que a pasteurização não é capaz de inativar os resíduos de antibióticos presentes, comprometendo assim a segurança alimentar da população.

4. CONSIDERAÇÕES

Este estudo demonstra que não foram encontrados resíduos de antibióticos em níveis quantificáveis nas amostras analisadas. Sugere-se que esses antimicrobianos sejam monitorados no leite para assegurar a ausência desses resíduos e garantir um produto de qualidade, fundamental para a saúde pública.

REFERÊNCIAS

ALVES, C. C. *et al.* Qualidade físico-química e microbiológica de leite cru refrigerado na Região Sudoeste da Bahia. **Rev. Saúde e Biol.**, v.18, e023004, 2023.



BRASIL, Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Atenção à saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia Alimentar para população Brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: MS; 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da União, Brasília, 2018.

BROWN, K. Antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria detected in milk marketed for human consumption in Kibera, Nairobi. **PLOS ONE**, v. 15, n. 5, p. 1–8, 2020.

CANSAN, I. C. S.; GORODICHT, M. A. M.; KINDLEIN, L. Análise dos resíduos de antimicrobianos no leite cru e avaliação dos riscos à saúde pública. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v.15, n.4, p. 3211-3223.

CARVALHO, A. P. C. *et al.* Pesquisa de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru no município de Araisos – MA. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas** V. 6, N.2, p. 22. 2012.

EL BEHIRY, A. *et al.* In vitro susceptibility of Staphylococcus aureus strains isolated from cows with subclinical mastitis to different antimicrobial agents. **Journal of Veterinary Science**. v.13, n.1, p.153-161. 2012.

POUPAUD, M. *et al.* Compreender a cadeia de suprimento de antibióticos veterinários para abordar a resistência antimicrobiana na RDP do Laos: Funções e interações das partes interessadas envolvidas. **Acta Tropica**, v. 220, p. 105943, 2021.

QUINTANILLA, P. Enrofloxacin treatment on dairy goats: Presence of antibiotic in milk and impact of residue on technological process and characteristics of mature cheese. **Food Control**, v. 123, p. 107762, 2021.

ROSA, A. A. *et al.* Estudo Comparativo da Qualidade Físico-Química e Microbiológica de Leite. **PEER REVIEW**, Vol. 5, Nº 9, 2023.

SACHI, S. Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. **Journal of advanced veterinary and animal research**, v. 6, n. 3, p. 315, 2019.

SILVA, D. B. C. *et al.* Antibacterianos e condutas adotadas por produtores de leite em Goiás, Brasil. **Cienc. Anim. Bras.**, V24, e-73715P, 2023.

SILVA, R. M.; SILVA, R. C.; RIBEIRO, A. B. Resíduos de Antibióticos em Leite. **Rev. Saúde e Biologia**, jan/abr, 2012.



VIEIRA, T. S. W. J. *et al.* Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 791-796. 2012.

Enviado: 01 de setembro de 2023.

Aprovado: 16 de outubro de 2023.

¹ Doutorado em Ciência Animal. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2473-9451>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5770903127454350>.

² Doutorado em Ciência Animal. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5078-4104>. Currículo Lattes: <https://lattes.cnpq.br/2775935070259137>.

³ Doutorado em Biotecnologia Agrícola. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7654-5475>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2574390886279350>.

⁴ Doutorado em Medicina Veterinária. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5917-5783>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8326410355923632>.

⁵ Doutorado em Medicina Veterinária. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5565-507X>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8867767311086224>.

⁶ Mestrado em Ciência Animal. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7067-3855>. Currículo Lattes: <https://lattes.cnpq.br/7795984886994762>.

⁷ Doutorado em Agronomia (Ciências do Solo). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0488-9236>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4666659327763907>.

⁸ Mestrado em Ciência Animal. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9152-9409>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2231547122729508>.

⁹ Graduando em Bacharelado em Ciências Biológicas. ORCID: 0000-0001-7149-4931. Currículo Lattes: <https://lattes.cnpq.br/2928291078391850>.

¹⁰ Doutorado em Bioquímica e Fisiologia, Mestrado em Fisiologia, Biólogo. ORCID: 0000-0003-1493-7964. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9044747136928972>.

¹¹ Doutorado em Ciência Animal Tropical. ORCID: 0000-0001-5405-028X. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8207812492517198>.

¹² Orientadora. Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. ORCID: 0000-0002-1289-2902. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5998863169551704>.