

Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil

Antimicrobial residues in raw milk from four Brazilian milk-producing regions

Luís Augusto NERO^{1,2*}, Marcos Rodrigues de MATTOS³, Vanerli BELOTTI³,
Márcia Aguiar Ferreira BARROS³, Bernadette Dora Gombossy de Melo FRANCO²

Resumo

A presença de resíduos de antibióticos em leite pode ter efeitos adversos para a saúde pública e para a indústria de laticínios. O objetivo desse estudo foi verificar a presença de resíduos de antibióticos pelo kit *Charm-test*[™] (principalmente β -lactâmicos e sulfonamidas) em 210 amostras de leite cru, coletadas em quatro regiões produtoras de leite no Brasil: 47 em Viçosa - MG, 50 em Pelotas - RS, 63 em Londrina - PR e 50 em Botucatu - SP. Resíduos de antibióticos foram detectados em 24 amostras (11,4%), sendo 13 (20,6%) da região de Londrina - PR, 4 (8,0%) da região de Botucatu - SP, 4 (8,5%) da região de Viçosa - MG, e 3 (6,0%) da região de Pelotas - RS. Apesar dos resultados obtidos serem considerados qualitativos, ficou evidente que resíduos de antibióticos podem ser considerados perigos químicos presentes no leite produzido no Brasil.

Palavras-chave: antibióticos; leite; *Charm-test*[™].

Abstract

Antimicrobial residues present in milk can have many adverse effects for public health and for the dairy industry. The aim of this study is to evaluate the presence of antibiotics using the *Charm-test*[™] kit (β -lactams and sulfonamides, mainly) in 210 raw milk samples collected in four different milk-producing areas in Brazil: 47 in Viçosa - MG, 50 in Pelotas - RS, 63 in Londrina - PR and 50 in Botucatu - SP. Antibiotic residues were detected in 24 samples (11.4%). Among them, 13 (20.6%) were from Londrina - PR, 4 (8.0%) from Botucatu - SP, 4 (8.5%) from Viçosa - MG, and 3 (6.0%) from Pelotas - RS. Despite being qualitative results only, it is evident that antibiotics may be an important chemical hazard in milk produced in Brazil.

Keywords: antibiotics; milk; *Charm-test*[™].

1 Introdução

Qualidade e segurança alimentar têm recebido cada vez mais atenção da população mundial, especialmente em relação a perigos microbiológicos e químicos presentes em alimentos. Apesar de microrganismos patogênicos serem os agentes mais relacionados a enfermidades veiculadas por alimentos^{1,16}, a presença de resíduos de substâncias químicas também é muito comum em todo o mundo. Em leite, antibióticos são resíduos químicos detectados com bastante frequência, tanto no Brasil como em outros países^{9,12,14,15,18}.

A principal fonte de resíduos de antibióticos em leite é originada do manejo inadequado de drogas no controle de mastites¹². Essas substâncias são eliminadas pelo leite durante seus períodos de carência, sendo necessário o descarte dessa produção. Dessa forma, a conscientização dos produtores é fundamental para prevenção de resíduos desses medicamentos em leite^{11,20}. Antibióticos do grupo dos β -lactâmicos são os mais utilizados para tratamento de doenças em rebanhos leiteiros, sendo assim os mais frequentemente detectados no leite^{10,19}.

A presença de resíduos de antibióticos em leite pode causar vários efeitos indesejáveis, como seleção de cepas bacterianas

resistentes, no ambiente e no consumidor, hipersensibilidade e possível choque anafilático em indivíduos alérgicos a essas substâncias, desequilíbrio da flora intestinal, além de efeito teratogênico^{1,8,15,18,19,20}. Aproximadamente 5 a 10% da população é hipersensível à penicilina, e apresentam reações alérgicas ao ingerirem concentrações de 1 ppb dessa substância¹². Além disso, pequenas quantidades de antibióticos determinam resistência crônica de microrganismos presentes no trato intestinal humano^{1,8,12,18}.

Além destes problemas, a presença destas substâncias em leite pode causar inibição na multiplicação de sua microbiota, interferindo nos resultados de análises laboratoriais de controle de qualidade, bem como na fabricação de derivados como queijos e iogurtes^{18,20}, sendo responsáveis pela redução da produção de ácidos e sabores na produção de manteiga e maturação de queijos¹². Ainda, concentrações de 1 ppb podem atrasar a atividade de culturas *starter* na produção de queijos, iogurtes e manteiga. Antibióticos também são usualmente utilizados de forma ilegal como agentes na preservação e redução da carga microbiana do leite¹³.

No Brasil a Instrução Normativa nº 51³ exige a pesquisa periódica de resíduos de antibióticos em leite, que não devem ser superiores aos Limites Máximos de Resíduos (LMRs)^{2,7}, previstos para cada grupo químico específico (Tabela 1). Este controle também é adotado em outros países^{12,19}. Vários kits analíticos de detecção de resíduos de antibióticos foram aprovados e são autorizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA - Brasil⁴ para o controle da presença dessas substâncias em leite, utilizando diferentes princípios de ação e detecção.

Recebido para publicação em 1/9/2006

Aceito para publicação em 23/4/2007 (001836)

¹ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Campus Universitário, Av. P. H. Rolfs, s/n, Centro, CEP 36570-000, Viçosa - MG, Brasil, E-mail: nero@ufv.br

² Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo - SP, Brasil

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina - PR, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

Considerando a importância em saúde pública e para a indústria que os resíduos de antibióticos em leite podem representar, esse trabalho teve como objetivo detectar resíduos dessas substâncias em leite produzido no Brasil, utilizando-se o *Charm-Test*[™] (Charm Sciences, Inc., USA), um kit analítico autorizado para esse fim pelo MAPA-Brasil (AUP/DOI/Dipoa nº 3828/2002).

2 Material e métodos

2.1 Coleta de amostras

Duzentas e dez amostras de leite cru foram coletadas em propriedades leiteiras de quatro Estados do Brasil, assim distribuídas: 47 propriedades na região de Viçosa - MG, sendo 36 com ordenha manual, 9 com ordenha mecânica em sistema semi-fechado e 2 com ordenha mecânica em sistema fechado; 50 propriedades na região de Pelotas - RS, sendo 31 com ordenha manual e 19 com ordenha mecânica em sistema semi-fechado e 19 com ordenha manual; 63 propriedades na região de Londrina - PR, sendo 9 com ordenha mecânica em sistema semi-fechado e 43 com ordenha manual; e 50 propriedades na região de Botucatu - SP, sendo 14 com ordenha em sistema semi-fechado e 36 com ordenha manual. Todas as amostras foram coletadas dos tanques resfriadores, acondicionadas em frascos estéreis e imediatamente congeladas, sendo posteriormente submetidas a análises laboratoriais.

2.2 Detecção de resíduos de antibióticos (*Charm-test*[™])

Todas as amostras foram testadas utilizando-se o kit *Charm-test*[™] (Charm Sciences, Inc., USA), que tem como princípio um ensaio de inibição microbiana. Este kit detecta resíduos de β -lactâmicos, sulfonamidas e outros antibióticos (gentamicina, tilosina) utilizados frequentemente em gado leiteiro. A sensibilidade desse teste para as diferentes substâncias detectáveis está apresentada na Tabela 1, bem como os limites máximos de resíduos atualmente tolerados pela Legislação Brasileira².

Tabela 1. Concentrações de resíduos de antibióticos detectáveis pelo *Charm-test*[™] comparados com os Limites Máximos de Resíduos (LMRs) tolerados pela Legislação Brasileira.

Substância antimicrobiana	Concentração mínima para positividade no <i>Charm-test</i> [™] ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	LMR ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
β -lactâmicos		
Penicilina G	3	4
Amoxicilina	6	4
Ampicilina	5	4
Ceftiofur	50	100
Cefapirina	10	NE*
Sulfametazina	200-300	100
Sulfadimetoxina	25-50	100
Gentamicina	100-200	NE
Oxitetraciclina	100-150	100
Tilosina	40-50	NE

Fontes: Charm Sciences, Inc., EUA; ANVISA, 2003; *NE = não especificado.

No momento das análises, as amostras de leite foram descongeladas e centrifugadas, e 200 μl de cada amostra foram inoculados em cada tubo do kit que contém uma cultura de *Bacillus stearothermophilus* em ágar com uma substância indicadora de pH (púrpura de bromocresol), com posterior incubação a 67 °C em banho-maria por 2 horas e 45 minutos. Controles positivos (4 ppb de Penicilina G, fornecido pelo fabricante) e negativos (leite proveniente de animais sabidamente não tratados) foram utilizados em cada ensaio. Após incubação, os resultados dos testes foram determinados de acordo com um cartão de cores fornecido pelo fabricante, com a seguinte interpretação:

- Negativo: coloração amarela ou amarela-esverdeada (ausência de inibição, multiplicação da cultura e alteração do pH do meio); e
- Positivo: coloração azul (presença de inibição, ausência de multiplicação da cultura e não alteração do pH do meio).

3 Resultados e discussão

Os resultados de resíduos de antibióticos nas amostras de leite cru analisadas são apresentados na Tabela 2. Essas substâncias foram detectadas em 24 amostras (11,4%), sendo mais frequentes nas amostras da região de Londrina - PR, com 13 amostras (20,6%) contaminadas. Nas demais regiões, resíduos de antibióticos foram detectados em quatro amostras (8,0%) da região de Botucatu - SP, quatro (8,5%) da região de Viçosa - MG, e três (6,0%) da região de Pelotas - RS.

Os resultados obtidos nesse estudo sugerem problemas em relação à utilização de antibióticos em animais em lactação, indicando não obediência ao período de carência dos medicamentos, em especial na região de Londrina - PR (Tabela 2). Uma vez presentes no leite, os riscos à saúde pública e prejuízos para a indústria que esses antibióticos podem gerar são proporcionais a suas concentrações. Além disso, essas substâncias não são eliminadas no beneficiamento¹⁷, podendo representar perigo até nos derivados fabricados com essa matéria-prima. Estudos realizados em outras regiões do Brasil também revelaram a presença de antibióticos em leite, com frequências variando entre 0 e 70%^{1,6,8,9,14,18}.

Uma análise qualitativa inicial, como com o teste utilizado nesse estudo, tem importância por indicar quais amostras apresentam resíduos de substâncias inibidoras, como antibióticos. A partir dos resultados dessa análise inicial, apenas as amostras positivas seriam encaminhadas para testes mais específicos de identificação e quantificação de resíduos, além de confirmação dos resultados positivos, representando uma economia significativa.

Assim, a utilização de testes simplificados e rápidos na detecção de resíduos de antibióticos é de extrema importância para determinar rapidamente o destino de um lote de leite¹¹. Também é importante que a sensibilidade desses testes seja superior aos LMRs das substâncias a serem detectadas, a exemplo do que ocorre com os β -lactâmicos mais utilizados na pecuária leiteira quando avaliados pelo *Charm-test*[™] (Tabela 1).

Tabela 2. Resíduos de antibióticos em 210 amostras de leite cru analisadas nas 4 regiões estudadas, utilizando o *Charm-test*TM.

Resultados	Viçosa - MG	Pelotas - RS	Londrina - PR		Botucatu - SP	Total
			n (%)			
Positivo	4 (8,5)	3 (6,0)	13 (20,6)	4 (8,0)	24 (11,4)	
Negativo	43 (91,5)	47 (94,0)	50 (79,4)	46 (92,0)	186 (88,6)	
Total	47 (100,0)	50 (100,0)	63 (100,0)	50 (100,0)	210 (100,0)	

No Brasil está em andamento o Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo - PAMVet, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA^{2,5}, que tem como objetivo detectar os níveis de substâncias químicas em alimentos de origem animal, sujeitos à contaminação por esses resíduos durante a produção. As análises laboratoriais previstas por esse programa se iniciaram com o leite bovino e tem duração prevista de 5 anos a partir de seu início, 2003.

4 Conclusões

Os resultados obtidos permitem concluir que a presença de resíduos de antibióticos em leite produzido no Brasil pode ser considerada preocupante, e indicam a presença de um perigo químico associado a esse produto. Estudos complementares que determinem exatamente quais são essas substâncias e suas concentrações são de grande importância para se estabelecerem políticas de segurança alimentar e controle desses resíduos em leite e derivados.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão da Bolsa de Doutorado para o autor L. A. Nero (Processo 01/13076-8).

Referências bibliográficas

- ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S.C.S. Investigações sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza-CE-Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 41, p. 29-32, jan./fev. 1996.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo - PAMVet**. Brasília, 2003. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/pamvet.pdf>>. Acesso em 01 agosto 2006.
- BRASIL, Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 13, 20 set. 2002. Seção 1.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Autorização de uso de produto para kits analíticos**. Brasília, 2004. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/aup_kits.htm>. Acesso em 01 agosto 2006.
- BRASIL, Resolução RDC nº 253, de 16 de setembro de 2003. Cria Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal - PAMVet. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 90-91, 18 set. 2003. Seção 1.
- CARLOS, L. A. et al. Avaliação físico-química, microbiológica e de resíduos de penicilina, em leite tipo C comercializado no município de Campos de Goytacazes, RJ. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 123, p. 57-61, ago. 2004.
- CODEX ALIMENTARIUS. **Veterinary Drug Residues in Food**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/vetdrugs/jsp/>>. Acesso em 01 agosto 2006.
- COSTA, E. O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 15-17, jul./ago. 1996.
- FARIAS, A. X. et al. Avaliação da qualidade do leite, quanto à presença de resíduos de antibióticos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 33, p. 428-430, jul. 2004.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 176 p.
- HILLERTON, J. E. et al. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using Delvotest microbial inhibitor tests. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 82, n. 4, p. 704-711, apr. 1999.
- JONES, G. M. **On-farm tests for drug residues in milk**. Petersburg: Virginia State University, 1999. 6 p.
- KANG'ETHE, E. K. et al. Investigation of the risk of consuming marketed milk with antimicrobial residues in Kenya. **Food Control**, Guildford, v. 16, n. 4, p. 349-355, apr. 2005.
- KOIDE, E. M.; GIROTO, J. M. Verificação da presença de resíduos antimicrobianos em leite *in natura* na região dos Campos Gerais - Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 33, p. 436-438, jul. 2004.
- McEWEN, S. A.; BLACK, W. D.; MEEK, A. H. Antibiotic residue prevention methods, farm management, and occurrence of antibiotic residues in milk. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 74, n. 7, p. 2128-2137, jul. 1991.
- MEAD, P. S. et al. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 5, n. 5, p. 607-625, sep./oct. 1999.
- MUSSER, J. M. B. et al. Potential for milk containing penicillin G or amoxicillin to cause residues in calves. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 84, n. 1, p. 126-133, jan. 2001.
- NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 119-124, mai./ago. 2001.
- SHITANDI, A.; KIHUMBU, G. Laboratory evaluation of the improved tube test detection limits for β -lactam residues in Kenyan milk. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 3, n. 1, p. 82-87, jan. 2004.
- VAN SCHAİK, G.; LOTEM, M.; SCHUKKEN, Y. H. Trends in somatic cells counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 85, n. 4, p. 782-789, abr. 2002.