

**ANA VIRGÍNIA MARINHO**

**PESQUISA DE MULTIRRESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM  
LEITE PRODUZIDO NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

RECIFE

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
TROPICAL**

**ANA VIRGÍNIA MARINHO**

**PESQUISA DE MULTIRRESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM  
LEITE PRODUZIDO NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção de título de Doutor em Ciência Animal Tropical.

Orientador:

**Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota**

Co-orientadora:

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elizabeth Sampaio de Medeiros**

RECIFE  
2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
TROPICAL**

**PESQUISA DE MULTIRRESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM  
LEITE PRODUZIDO NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

Tese de Doutorado elaborada por

**ANA VIRGÍNIA MARINHO**

Aprovada em 22/02/2016

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota (Orientador)  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria José de Sena  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Edenilze Teles Romeiro  
Departamento de Tecnologia Rural - DTR

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andrea Paiva Botelho Lapenda de Moura  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alda Ribeiro Livera  
Departamento de Nutrição da UFPE

*“A Deus eu entreguei o barco do meu ser e entrei no mar a fora.*

*Pra longe eu naveguei, não vejo mais o cais.*

*Só Deus e eu agora’.*

## **DEDICO**

Ao professor Dr. Abelardo Antônio de Assunção Montenegro por ter contribuído para o meu crescimento acadêmico de forma inigualável.

## **OFEREÇO**

Aos meus filhos Pedro Paulo Miranda e Rita de Cássia Marinho em me fornecer forças para cada etapa da minha vida. Verdadeiramente amo!

## **AGRADECIMENTOS**

“A DEUS, A SANTA RITA DE CÁSSIA E AO MEU ANJO DA GUARDA”

A Maria Aldenôra Marinho. Mãe, a vida com você ao lado é incrivelmente mais segura. Ao meu pai, Adolfo Marinho, “in memoriam”, agradeço por tudo.

Aos meus irmãos Alexandre Marinho e Adolfo Marinho e sobrinhos queridos que, pelo simples fato de existirem, me inspiram a assumir e vencer novos desafios.

Aos professores Dr. Rinaldo Aparecido Mota e a Magnífica Reitora Dra. Maria José de Sena os meus mais sinceros agradecimentos. Minha gratidão pela oportunidade, orientação, confiança, atenção e ensinamentos recebidos em todos os momentos durante a realização deste trabalho.

Às amigas professoras Dr<sup>a</sup>. Irineide Carvalho e Dr<sup>a</sup>. Elizabeth Sampaio, pelos conselhos e contribuições que foram muito importantes para a realização deste projeto.

Às minhas queridas orientandas, Bruna Vidal e Ana Karolina Peres, pelo apoio e auxílio na elaboração deste trabalho.

Às minhas amigas Rejane Fragoso, Cláudia Franco por todo carinho e companheirismo em vários momentos na caminhada da vida.

Aos amigos do Laboratório LANAGRO – RS, especialmente Louise Jank, pelo auxílio, momentos agradáveis vivenciados em Porto Alegre e conhecimentos compartilhados.

A todos os amigos da Pró-Reitoria de Atividades de Extensão (PRAE), em especial ao professor Dr. Delson Laranjeira pelo reconhecimento aos meus primeiros trabalhos de extensão, nos quais tenho total realização e que contribuíram para o amadurecimento deste trabalho, e ao Professor Dr. Roberto de Albuquerque Melo pela atenção.

A UFRPE e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical e seus professores pela oportunidade e contribuição à minha formação.

Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente.

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo central realizar um estudo sobre a ocorrência de multirresíduos de antimicrobianos no leite produzido no estado de Pernambuco, fiscalizado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Agência de Defesa Agropecuária de Pernambuco (ADAGRO-PE). Inicialmente caracterizou-se o perfil das usinas de beneficiamento de leite certificadas pelos referidos Órgãos de fiscalização e para a realização deste trabalho foi utilizada uma entrevista semiestruturada para obter os dados no período compreendido entre 2012 a 2015. Das 26 indústrias certificadas no ano base de 2012, 50,0% (13/26) estavam localizadas na região Agreste; 15,4% (4/26) no Sertão e 34,6% (9/26) na Zona da Mata. Verificou-se entre os anos de 2012 e 2015 uma diminuição de 78,9% das indústrias certificadas pelo Serviço de Inspeção Estadual em Pernambuco. Para pesquisa de resíduos de antimicrobianos no leite (tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas, fluorquinolonas, trimetoprima e  $\beta$ -lactâmicos) utilizou-se a metodologia de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada à espectrometria de massa (CL-MS/MS). Foram analisadas todas as marcas de leite pasteurizado produzidas e fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Federal (sete amostras com três repetições), e dezenove amostras de leite (com três repetições) sob Inspeção Estadual durante o período seco do ano de 2013. Além disso, foram analisadas quatro marcas (com três repetições) no período chuvoso de 2015 de leite pasteurizado sob fiscalização Estadual e quarenta e cinco amostras de leite cru sem fiscalização. No primeiro estudo, das dezenove amostras analisadas, 95,% (18/19) apresentou resíduo de penicilina G em nível não quantificável. No segundo estudo foram detectados resíduos de oxitetraciclina em valores inferiores ao Limite Máximo de Resíduos (LMR), considerado positivo, mas não adulterado, no período seco em uma amostra. Não houve detecção de resíduos no período chuvoso para nenhuma amostra de leite pasteurizado ou cru. Os resultados obtidos demonstram que as amostras de leite sob Inspeção Federal, Estadual e leite cru sem fiscalização se enquadram dentro dos parâmetros preconizados pela legislação, entretanto, o gerenciamento do risco quanto à presença dessas substâncias no leite é imprescindível para a elaboração de estratégias de mitigação de riscos, garantindo o consumo de leite inócuo para população. Esse trabalho é pioneiro nesta região do país no que se refere à pesquisa de multirresíduos em todas as marcas de leite pasteurizado produzido em Pernambuco. Os resultados aqui apresentados poderão contribuir para ações de políticas

públicas, aumentar a eficiência das indústrias privadas, visando intensificar o crescimento da cadeia produtiva do leite no Estado de Pernambuco.

**Palavras-chave:** Laticínios, fiscalização, antibióticos.

## ABSTRACT

This work had as main objective to conduct a study on the occurrence of antimicrobial multiresidues in the milk produced in the Pernambuco State, supervised by the Ministry of Agriculture Livestock and Supply (MAPA) and Agricultural Protection Agency of Pernambuco (ADAGRO-PE). Initially characterized the profile of milk processing plants certified by these supervisory bodies and to carry out this work we used a semistructured interview to get the data for the period 2012 to 2015. Of the 26 industries certified in the base year 2012, 50.0% (13/26) were located in the Agreste region; 15.4% (4/26) in the Hinterland and 34.6% (9/26) in the Zona da Mata. It was between the years 2012 and 2015 a decrease of 78.9% of the industries certified by the State Inspection Service in Pernambuco. For antimicrobial residues in milk. For antimicrobial residues evaluation (tetracycline's, sulfonamides, quinolones, fluoroquinolones, trimethoprim and  $\beta$ -lactams) the methodology Liquid Chromatography High Performance (HPLC) coupled to mass spectrometry (LC-MS / MS) was used. Initially all brands of pasteurized milk produced and inspected by the Federal Inspection Service were analyzed (seven samples with three replicates) and also nineteen milk samples (with three replications) under State Inspection during the dry season of 2013. In addition, four brands (with three replications) of pasteurized milk under State supervision were analyzed in the rainy season of 2015 and forty-five samples of raw milk without supervision. In the first study, of the nineteen samples, 95% (18/19) presented penicillin G residue in unquantifiable level. In the second study oxytetracycline residues were detected in values below the Maximum Residue Limit (MRL), considered positive, but not tampered, during the dry season in one sample. There was no detection of residues for the rainy season in any sample of pasteurized or raw milk. The results obtained show that, in general, milk samples under Federal or State Inspection, and raw milk without inspection fall within the parameters established by the legislation, however, the risk management for the presence of these substances in milk is essential for development of risk mitigation strategies, ensuring the consumption of harmless milk by population. This work is pioneering in this region regarding to the multiresidues research in all milk brands produced in Pernambuco. The results presented here may contribute to public policy actions; increase the efficiency of private industries, aiming to enhance the growth of milk production chain in the Pernambuco State. **Keywords:** Dairy, surveillance, antibiotics

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	18
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	18
<b>2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	18
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
<b>3.1</b>	Considerações gerais sobre leite bovino.....	19
<b>3.2</b>	Cenário da produção leiteira.....	21
<b>3.3</b>	Resíduos de Antimicrobianos no leite e seus riscos à Saúde Pública.....	24
<b>3.4</b>	Controle de Qualidade do Leite.....	33
<b>3.5</b>	Métodos de análises de resíduos Antimicrobianos.....	36
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	41
<b>5</b>	<b>ARTIGOS</b> .....	54
	<b>ARTIGO 1</b> OCORRÊNCIA DE MULTIRRESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE PASTEURIZADO PRODUZIDO SOB INSPEÇÃO FEDERAL NO ESTADO DE PERNAMBUCO.....	54
	<b>ARTIGO 2</b> OCORRÊNCIA DE MULTIRRESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE PASTEURIZADO SOB FISCALIZAÇÃO ESTADUAL E CRU NO PERÍODO SECO E CHUVOSO NO AGRESTE PERNAMBUCANO.....	64
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	73
	<b>APÊNDICE</b> - CARACTERIZAÇÃO DAS CERTIFICAÇÕES DAS USINAS DE BENEFICIAMENTO DE LEITE PASTEURIZADO SOB FISCALIZAÇÃO ESTADUAL E FEDERAL NO ESTADO DE PERNAMBUCO.....	74
	<b>ANEXOS</b> .....	82
	<b>ANEXO A</b> - Normas para submissão ao periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.....	82
	<b>ANEXO B</b> - Normas para submissão ao periódico Arquivo do Instituto Biológico .....	89

## LISTA DE ABREVIATURAS

%	por cento
°C	graus Celsius
ADAGRO	Agência de Defesa Agropecuária de Pernambuco
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APAC	Agência Pernambucana de Águas e Clima
BPMV	Boas Práticas de Uso de Medicamentos Veterinários
CCa	Valores de limite de decisão
CC $\beta$	Valores de capacidade de detecção
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EFS	extração em fase sólida
ELL	extração líquido-líquido
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
FAO	Food and Agriculture Organization
FAST	Antimicrobial Screening Test - Teste de Triagem antimicrobiana
FDA	Food and Drug Administration
IAGRO	Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal– MS
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	Instrução Normativa
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
Kg	Quilograma
L	Litros
LANAGRO	Laboratório Nacional Agropecuário
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
LMR	Limite Máximo de Resíduo
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
Mg	miligramas
mL	mililitros
MS	Muito seco
N	Normal

Nº	número
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMVet	Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal
PCRBL	Programa de Controle e Resíduos Biológicos em Leite
PMQL	Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite
PNCR	Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
PNCRB	Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos
PNCRL	Programa Nacional de Controle de Resíduos em Leite
PNQL	Plano Nacional da Qualidade do Leite
ppb	partes por bilhão
RIA	Radioimunoensaio
rpm	Rotações por minuto
S	Seco
SDA	Secretaria de Defesa Agropecuária
SEBRAE	Serviço Brasileiro de apoio às Micro e Pequenas Empresas
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SIE	Serviço de Inspeção Estadual
SIM	Serviço de Inspeção Municipal
SIPOA	Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal
UHT	“Ultra High Temperature” - Temperatura Ultra Alta
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
UV	Ultravioleta
VISA	Vigilâncias Sanitárias
βL	beta-lactâmicos
µg	micrograma
µL	microlitro

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b>	Projeção de produção, consumo e exportação de leite do Brasil, no período de 2008 a 2020.....	23
<b>Quadro 2.</b>	Duração mínima de eliminação no leite de alguns antimicrobianos mais utilizados na atividade leiteira .....	25
<b>Quadro 3.</b>	Limites máximos de resíduos ( <i>Codex Alimentarius</i> , Comunidade Econômica Européia) e tolerâncias (Estados Unidos) para drogas antimicrobianas no leite ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) .....	27
<b>Quadro 4.</b>	Resultados de pesquisas sobre detecção de resíduos de antibióticos em leite, desenvolvidas no Brasil .....	31

## INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a quinta posição no *ranking* dos maiores produtores de leite no mundo, com uma produção aproximada de 33,3 bilhões de litros de leite em 2014. Na região Nordeste, os Estados com maior aquisição de leite cru no primeiro trimestre (janeiro a março de 2014) foram a Bahia com 93,965 milhões de litros de leite, seguidos pelo Ceará (61,089 milhões de litros de leite), e por Pernambuco, com 52,516 milhões de litros de leite, ocupando o terceiro lugar (IBGE, 2014). Contudo, a qualidade do leite constitui um dos principais problemas na cadeia do leite, que interfere negativamente na produção e rendimento dos derivados (MATTOS et al., 2010).

Considerando a sua importância, o leite deve apresentar condições sanitárias adequadas e ausência de contaminação ou substâncias impróprias (MENDES et al., 2008). A sanidade do rebanho tem importância fundamental para que o leite possua os requisitos necessários de qualidade. A inflamação da glândula mamária, denominada mastite, ocorre frequentemente nos bovinos de leite e causa enorme prejuízo à cadeia produtiva, principalmente devido à queda na produção e a inviabilidade do leite para o processamento e consumo. Para evitar a ocorrência da mastite, a recomendação do uso de antibióticos na prevenção e tratamento poderá ocasionar a presença dessas substâncias no leite, se o período de carência não for respeitado (LAGE, 2010).

O tratamento da mastite consiste na utilização de antimicrobianos locais ou sistêmicos, dependendo do comprometimento do estado geral do animal (JÚNIOR e BELOTI, 2012). O uso indiscriminado dessas drogas antimicrobianas acarreta a seleção de cepas resistentes, características que podem ser agravadas pela produção de biofilme (KRYCHOWIAK et al., 2014).

A presença de resíduos de antibióticos no leite é preocupante por vários aspectos, como a saúde pública, a seleção de cepas bacterianas resistentes e hipersensibilidade. Cerca de 5 a 10% da população é sensível à penicilina e pode apresentar reações alérgicas e choque anafilático ao ingerir concentrações superiores a 1ppb dessa substância (JANK et al., 2012). Estes riscos à saúde são manifestados por reações de hipersensibilidade frequentemente associadas às penicilinas ( $\beta$ -lactâmicos) e estreptomicinas e indução de resistência bacteriana, associada às tetraciclinas; lesões óticas, hepáticas e renais associadas à gentamicina, além de genotoxicidade e anemia aplásica associadas ao cloranfenicol (LOZANO, 2008). Quanto aos aspectos

econômicos, as consequências estão relacionadas à produção dos derivados lácteos. Os processos de produção que envolvem as fermentações como iogurtes e queijos são prejudicados pelo atraso no processo fermentativo, perda de rendimento, inibição total da fermentação com perda do leite ou dos produtos finais (DIETRICH, 2008).

A contaminação do leite por agentes químicos tem ocorrência mundial, sendo os resíduos de antimicrobianos frequentemente encontrados (NERO et al., 2007). O leite com a presença de resíduos de substâncias químicas é considerado adulterado e impróprio para o consumo, pois representa um risco à saúde pública (MENDES et al., 2008).

Devido à importância econômica e de saúde pública, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e ao Fundo das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), por meio do *Codex Alimentarius* estabelece Limites Máximos de Resíduos (LMR) de antibióticos e outros contaminantes nos alimentos. Este LMR é estabelecido como sendo a concentração máxima do resíduo que é legalmente permitida. Para o leite, o LMR é igual a 1/10 do limite da carne, pois se considera que o leite é um alimento fundamental para crianças e idosos que são mais sensíveis aos efeitos negativos destes resíduos (SANTOS, 2003).

No Brasil, os órgãos responsáveis pela inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal têm a competência atribuída à União, Estados ou Municípios. Desta forma, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é responsável por fiscalizar os estabelecimentos que estabelecem comércio interestadual e/ou internacional por meio do Serviço de Inspeção Federal (SIF), e as Secretarias de Agricultura dos Estados fiscalizam estabelecimentos com relações comerciais intermunicipais por ação do Serviço de Inspeção Estadual (SIE). Em alguns municípios, o Serviço de Inspeção Municipal (SIM), que comercializa somente dentro do município, fica a cargo da fiscalização das prefeituras de cada Município (NOVAES, 2010).

Apesar da importância do controle de qualidade na produção, o leite produzido e consumido no Brasil tem se caracterizado pela informalidade e por uma qualidade questionável, muitas vezes fora dos padrões internacionais. A necessidade de programar medidas para melhorar a qualidade do leite no país motivou a elaboração do Plano Nacional da Qualidade do Leite (PNQL) no ano 2000, por iniciativa do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Entre as missões do PNQL destaca-se a melhoria da qualidade do leite e derivados, garantindo

segurança à população e o aumento da competitividade de produtos lácteos em novos mercados (BRASIL, 2002).

Segundo Zeni et al. (2013), a qualidade insatisfatória do leite produzido no Brasil é um problema crônico, de difícil solução onde fatores de ordem social, econômica, cultural e climático estão envolvidos e que não têm merecido destaque nas políticas públicas, apesar do relevante papel representado pelo leite na alimentação da população.

Compreende-se, no entanto, que o monitoramento permanente e completo de resíduos em alimentos é crucial para a avaliação dos riscos provenientes da contaminação alimentar, sendo imprescindível para que ações da vigilância sanitária na prevenção e controle dos riscos à saúde por meio do consumo de alimentos contaminados sejam colocadas em prática (JARDIM, 2009).

Dessa forma, considerando a grande importância da produção de leite nos seus aspectos sanitários, econômicos e funcionais, é importante avaliar a qualidade do leite produzido em Pernambuco por meio da determinação de multirresíduos de antimicrobianos, além da caracterização do perfil de fiscalização sanitária.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Realizar um estudo do perfil do leite pasteurizado produzido em Pernambuco, fiscalizado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), e Agência de Defesa Agropecuária de Pernambuco (ADAGRO).

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Pesquisar multirresíduos de antimicrobianos no leite pasteurizado produzido no Estado de Pernambuco sob fiscalização do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Agência de Defesa Agropecuária de Pernambuco (ADAGRO-PE).
- Investigar a influência da sazonalidade na ocorrência de multirresíduos de antibióticos no leite cru sem fiscalização e pasteurizado produzido no Agreste do Estado de Pernambuco sob fiscalização da ADAGRO.
- Mapear a localização das usinas de beneficiamento de leite pasteurizado, certificadas por região e registradas pelos órgãos de competência Federal e Estadual.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Considerações gerais sobre leite bovino

A história da humanidade está associada ao consumo de leite, pois além de apresentar elevado valor nutricional é considerado um alimento de produção relevante na maioria dos países (PAIVA et al., 2012; ADJLANE-KAOUCHE et al., 2014).

Em 1918, o bioquímico norte-americano e pioneiro da vitaminologia, Elmer Verne McCollum havia declarado o leite de vaca como o mais importante dos “alimentos protetores” que não deveria faltar na nutrição cotidiana nem da criança nem do adulto e, segundo o mesmo autor, o consumo de leite revelou-se quase fator “eugênico” na formação de uma nação moderna (VALENZE, 2011).

A partir de novembro de 1931, durante quatro anos seguidos, um pequeno desenho mostrando uma garrafa de leite com uma figura esportista e o lema “Beba mais leite” tornou-se presença frequente nas páginas dos maiores jornais do país, enquanto que toda uma série de *slogans* impressos em negrito tratava de convencer o leitor do alto valor nutritivo do leite como alimento básico. Somente a partir dos anos 1920, as novas hipóteses sobre o valor sanitário do leite de vaca conquistaram os círculos médicos e nutricionistas de praticamente todos os países ocidentais, abrindo caminho a uma verdadeira “ideologia do leite” que, por sua vez, daria nova orientação não só às políticas de nutrição, mas também ao fomento da agropecuária. Em vários países do norte da Europa, o aumento do consumo de leite tornou-se quase prioridade das políticas sanitárias (JORNAL DO BRASIL, 1933).

Entretanto, em meados dos anos 1930, vários países do norte Europeu alcançaram uma quota de consumo diário *per capita* variável de meio a um litro de leite, o que indicava a entronização definitiva do leite de vaca como novo alimento básico. No Brasil, a situação distanciava-se muito desse ideal. Não seria exagero afirmar que a propaganda do leite no começo dos anos 1930, antes de tudo, ocultava o fato de que a maioria das grandes cidades do país não dispunha de oferta comercial de leite fresco apropriada para cumprir a exigência dos nutricionistas para aumentar o consumo diário (VALENZE, 2011).

O leite é um alimento nutritivo, principal fonte de cálcio dos grupos da pirâmide, sendo essencial para o crescimento e manutenção da saúde. De acordo com Gomes et al.

(2008), a importância do leite na alimentação diária é indiscutível, devido à sua riqueza em nutrientes e, ainda, por proporcionar um conjunto equilibrado e abrangente de benefícios para a saúde humana, promovendo o crescimento e contribuindo para a formação e renovação do tecido ósseo, regulando o sistema nervoso e aumentando a resistência a doenças infecciosas (PHILIPPI, 1999).

Segundo Philippi (2003), o leite de vaca contém vários nutrientes, podendo destacar as proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais. Esses nutrientes variam de acordo com a espécie animal, a sua alimentação, a estação do ano e a época de lactação. As proteínas do leite possuem alto valor biológico constituindo em uma ótima fonte de aminoácidos essenciais e, ainda, contêm um conjunto de proteínas com diversas atividades biológicas, incluindo fatores de crescimento e agentes microbianos, além de hormônios, enzimas, anticorpos e imunomoduladores. O carboidrato presente no leite é a lactose, dissacarídeo que sofre transformação em glicose e galactose pela digestão, e contribui em torno de 30% do valor calórico total do leite. A gordura do leite é um dos componentes mais ricos desse alimento, representando 46% a 53% do valor energético total e apresenta fácil digestão. A gordura ocorre em pequenos glóbulos contendo principalmente triacilgliceróis envolvidos por uma membrana lipoprotéica (SANTOS, 2007).

Segundo Mcbean (2004), os alimentos lácteos são as principais fontes de cálcio, devido à alta absorção do elemento em comparação a outros alimentos. O leite também contém consideráveis teores de cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio e baixos teores de ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês (SILVA, 2009). O consumo de leite é importante nos diversos períodos da vida. Na infância, participa no desenvolvimento e formação do organismo fornecendo proteína, sais minerais e gordura; na adolescência, o leite fornece condições para o rápido crescimento com ótima constituição muscular, óssea e endócrina; e, para pessoas idosas, é fonte principal de cálcio, fundamental na manutenção da integridade dos ossos (MACHADO, 2003).

O consumo diário de leite recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil, através do seu Guia Alimentar é de três porções de leite/e ou derivados, sendo esta quantidade suficiente para atender 75% da necessidade diária de cálcio. A ingestão de cálcio a partir dos 20 anos de idade varia de 1.000 a 1.200 mg/dia, sendo, portanto,

difícil atingir tal recomendação sem o consumo diário de leite e seus derivados (BRASIL, 2006).

De acordo com pesquisa realizada pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) sobre o consumo per capita mundial de leite fluído, de 2000 a 2008, mostra que a Austrália é o maior consumidor com 103,9 litros de leite/pessoa/ano em 2000 e 108,5 litros/pessoa/ano em 2008, havendo pouca oscilação dos valores entre os nove anos pesquisados. A Romênia também se destaca, pois em 2006 seu consumo foi de 171,2 litros/pessoa/ano. O país com menor consumo de leite é a China com 3 litros de leite/pessoa/ano em 2000, aumentando, com passar dos nove anos pesquisados para 12 litros/pessoa/ano em 2008. Na América do Sul, os países pesquisados foram Brasil e Argentina. Em 2008, o Brasil apresentou consumo de 83,2 litros de leite/pessoa/ano e a Argentina apresentou 53,7 litros/pessoa/ano (USDA, 2013).

O MAPA ressalta que o consumo per capita anual brasileiro é de 172,6 litros por habitante, enquanto o recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) é de 200 litros ano/habitante (BRASIL, 2014).

### **3.2 Cenário da produção leiteira**

De acordo com a FAO (2013), a produção de leite no mundo atingiu 727 milhões de toneladas, incluindo leite de vaca, búfala, camela, cabra e ovelha. O leite de vaca sozinho respondeu por 606,7 milhões de toneladas, o que representa incremento de 1,5% em relação a 2010.

O continente Asiático é o maior produtor de leite com 305,684 milhões de toneladas, em segundo lugar está o continente Europeu com 219,933 milhões de toneladas e a América do Norte em terceiro lugar, seguido da América do sul. Nos países da União Européia, a produção é de 160,800 milhões de toneladas, seguido da Índia com 144,860 milhões de toneladas; em terceiro lugar estão s Estados Unidos (93,939), em quarto lugar a China (45,252), seguida do Paquistão (38,750); o Brasil ocupa o quinto lugar com 34,397 milhões de toneladas (FAO, 2014).

Dentre os estados brasileiros, Minas Gerais é o estado que mais adquire leite, com cerca de 27,6% do total nacional, seguido do Rio Grande do Sul com 13,7%, Paraná com 11,7%, Goiás com 11,1% e São Paulo com 10,3%. Na região Nordeste, os Estados com maior aquisição de leite cru no primeiro trimestre foi a Bahia com 93,965

milhões litros de leite, seguido do Ceará (61,089 milhões litros de leite) e Pernambuco com 52,516 milhões litros de leite (IBGE, 2014).

De acordo com Monteiro et al. (2007), a quantidade e qualidade do leite produzido nos estados brasileiros é diferente e isto pode ser atribuído às condições de cada região, como perfil do produtor, maior acesso à assistência técnica, presença de órgão extensionista e programas regionais de controle sanitário de rebanhos e, principalmente, laticínios com políticas de pagamento por qualidade.

Em Pernambuco a cadeia produtiva do leite apresenta grande relevância socioeconômica, sendo uma das atividades mais presentes no semiárido. No entanto, o baixo nível tecnológico aplicado na exploração leiteira e a falta de gestão mais profissionalizada nas propriedades conferem ao segmento produtivo indicadores técnicos aquém das suas reais potencialidades. A produção média por vaca/ano nesta região é de 817 litros (IBGE, 2010).

Os maiores municípios produtores de leite em Pernambuco estão no Agreste Pernambucano, sendo eles: Pedra com 58,650 milhões litros de leite, Buíque com 51,260 milhões litros de leite e, em terceiro lugar, Itaíba com 46,075 milhões litros de leite. Na Região do Sertão, o município com maior produção é Afrânio com 1,343 milhões litros de leite (IBGE, 2013).

A produção de leite no Brasil é formada por dois grandes grupos: o de produtores empresariais especializados, com boa produtividade, representando um pequeno número e o de pequenos produtores, na maioria, pouco ou nada especializados que visam à venda sazonal de pequenos volumes de leite, de baixo custo e qualidade, e que constitui grande parte do mercado (MILINSKI, 2008). Zoccal et al. (2008) ressaltaram que atualmente é difícil encontrar um município brasileiro, entre os 5.562 existentes, que não possua ao menos uma vaca leiteira por menor que seja sua produção. O valor que a atividade conquistou é notório, não só no desempenho econômico como na criação de empregos permanentes. Ainda, segundo o mesmo autor, os indicadores de produtividade e principalmente de qualidade ainda carecem de melhorias em vários aspectos.

Segundo os dados de estimativa de produção, consumo e exportação de leite pelo Brasil, nota-se grande potencial do país, com projeção de aumento de exportação de 1,10 bilhões de litros (2009-2010) para 1,94 bilhões de litros em 2019-2020 (CARVALHO, 2007).

Quadro 1. Projeção de produção, consumo e exportação de leite do Brasil no período de 2008 a 2020.

<b>Leite em bilhões de litros (Projeção)</b>			
Ano	Produção	Consumo	Exportação
2008/2009	30,4	26,58	1,05
2009/2010	31,80	27,93	1,18
2010/2011	32,46	28,52	1,18
2011/2012	32,46	28,52	1,27
2012/2013	33,12	29,11	1,35
2013/2014	33,78	29,71	1,44
2014/2015	34,45	30,30	1,52
2015/2016	35,11	30,90	1,60
2016/2017	35,77	31,49	1,69
2017/2018	36,43	32,08	1,77
2018/2019	37,09	32,68	1,85
2019/2020	37,75	33,27	1,94

Fonte: Elaboração da AGE/MAPA com dados do LSPA/IBGE, USDA e Embrapa Gado de leite (2010).

Um estudo realizado por Reis Filho (2013) com vistas à perspectiva para o ano de 2020 na cadeia produtiva do leite, concluiu que haverá um incremento do parque industrial do Nordeste e um crescimento no volume de leite captado e processado pelas indústrias em todas as regiões brasileiras. Essa realidade resultará no aumento da proporção do volume de leite produzido e processado no Brasil.

O Nordeste, mesmo com a expectativa de ser a região com a menor proporção de leite processado/produzido também apresentará uma evolução. Na visão dos especialistas, poderá aumentar a produção em 60,3% de leite produzido até 2020. Dentre os Estados dessa região, espera-se que Pernambuco apresente a maior evolução, seguido do Ceará e da Bahia, com isso, esperam-se melhorias da qualidade dos produtos lácteos, maior profissionalização do setor, redução de fraudes e maior pressão em relação às questões de segurança alimentar.

Na região Nordeste do Brasil, a precipitação pode ser considerada a principal variável meteorológica presente, com um regime de chuvas não uniforme, possuindo uma variação interanual e sazonal que implica na quantidade de precipitação da região (MENEGUETTI; 2009). Ainda segundo estes autores, o Nordeste apresenta três tipos de clima marcantes: clima equatorial úmido, clima litorâneo úmido e clima tropical

semiárido. Essas variações observadas podem causar grandes prejuízos interferindo na pecuária e influenciando a economia local.

A influência ambiental sob os parâmetros que determinam a qualidade do leite são muito estudadas pela comunidade científica (GONZALEZ, 2004; MAGALHÃES 2006; NORO, 2006; ROMA JÚNIOR 2009), porém segundo NETO (2011), no Nordeste do Brasil estudos semelhantes ainda são poucos disponíveis.

### **3.3 Resíduos de Antimicrobianos no leite e seus riscos à Saúde Pública**

A produção de leite está aumentando progressivamente e com isso vem surgindo uma maior preocupação com a segurança alimentar, o que amplia cada vez mais as exigências por produtos de qualidade (MARTINS, 2013).

De acordo com o *Codex Alimentarius*, no momento em que for disponibilizado aos consumidores, o leite não deve conter nenhum contaminante em níveis que coloquem em risco a saúde do consumidor. O estado de saúde das vacas leiteiras deve ser controlado para que não constituam riscos à saúde pública; o tratamento e a prevenção de doenças no rebanho devem ser feitos apenas com medicamentos veterinários autorizados de maneira que não afete negativamente a inocuidade e idoneidade do leite (FAO/OMS, 2009).

No entanto, os antimicrobianos são muito utilizados em rebanhos leiteiros, principalmente no tratamento e prevenção da mastite. Desde a sua introdução em 1940, esses medicamentos tornaram-se ferramentas de grande valor no controle de doenças infecciosas tanto em seres humanos como em animais (WHITE & Mc DERMOTT, 2001). Contudo, a utilização inadequada e indiscriminada de antimicrobianos em animais produtores de leite pode acarretar na resistência bacteriana e contaminação do leite com resíduos desses medicamentos. Em um estudo epidemiológico, constatou-se que microrganismos resistentes presentes em alimentos de origem animal podem ser transmitidos aos humanos por meio do seu consumo e causar infecções (LEE, 2003).

Nos Estados Unidos existe uma limitação quanto aos medicamentos que podem ser comercializados para tratamento de mastites. As classes de antimicrobianos aprovadas pelo Food and Drug Administration (FDA) incluem os  $\beta$ -lactâmicos, macrolídeos (eritromicina), coumarinas (novobiocina) e lincosamidas (pirilimicina). Dessas classes, os  $\beta$ -lactâmicos são os mais utilizados no tratamento de infecções

intramamárias (POL, 2007). No Brasil, além dos  $\beta$ -lactâmicos, outras classes de antibióticos e alguns quimioterápicos são registrados no MAPA e são utilizados no tratamento de bovinos leiteiros (BRASIL, 2009).

De acordo com Nero (2012), a presença de contaminantes químicos como os inibidores no leite, provocam alterações nos resultados das análises de controle, além de erros na sua interpretação, o que pode acarretar prejuízos à indústria e à saúde pública. Entre os agentes químicos inibidores, estão os antibióticos ou quimioterápicos que, junto com os sanitizantes e detergentes formam o grupo de agentes químicos que mais preocupam a indústria de alimentos.

Segundo Cunha (2006), o uso de antibióticos em animais produtores de leite é imprescindível em casos de infecções como a mastite, doença que afeta as glândulas mamárias e reduz a produção de leite dos quartos afetados, porém o emprego de antibióticos vem sendo utilizado de forma indiscriminada. Entretanto, de acordo com Pericás (2010) e Lee (2007), o uso extensivo pode provocar o desenvolvimento de bactérias resistentes, o que se tornou, nos últimos anos, uma preocupação internacional.

Como norma importante, após o tratamento dos animais, o leite não deve ser destinado ao consumo, denominado período de carência, este período garante que os níveis de antibióticos presentes nos produtos permaneçam dentro dos limites máximos tolerados pela legislação. Os períodos de carência do leite de animais em lactação variam entre 1 a 4 dias, sendo que os períodos e os antimicrobianos administrados podem variar de acordo com as normas de cada país (PIETERSE, 2010). Segundo Nero et al. (2007), a presença de resíduos de antibiótico no leite produzido no Brasil pode ser preocupante e indica a presença de um perigo químico associado ao produto. Essas substâncias são eliminadas no leite durante o período de carência, sendo necessário descartá-lo durante esse período conforme Quadro 2.

Quadro 2. Duração mínima de eliminação no leite de alguns antimicrobianos mais utilizados na atividade leiteira.

Antimicrobiano (via intramamária)	Período mínimo de eliminação (dias)
Penicilina (Procaína)	2
Clortetraciclina	6
Oxitetraciclina	4
Estreptomicina 4	4

Fonte: Spinosa (2002)

De acordo com Adetunji (2011), a ocorrência de resíduos de antimicrobianos pode ser evitada quando o período de carência recomendado na bula do medicamento é seguido adequadamente, assegurando que os resíduos da droga não sejam detectados nos alimentos. Contudo, a detecção de resíduos ainda é evidente tanto em leite comercializado como em derivados lácteos.

A presença desses resíduos é um fator de classificação, uma vez que torna a matéria-prima inadequada para o uso na indústria e para o consumo humano, já que não existe tratamento tecnológico que consiga inativar estas substâncias (SANTOS, 2003).

Dentre os principais antimicrobianos administrados ao rebanho leiteiro no Brasil destacam-se os  $\beta$ -lactâmicos (representados principalmente pelas penicilinas e cefalosporinas), os aminoglicosídeos (gentamicina, neomicina e estreptomicina), o cloranfenicol, as tetraciclina (doxiciclina, oxitetraciclina) e os macrolídeos (azitromicina, eritromicina) (NERO, 2012).

Segundo Tronco (2003), a veiculação do antibiótico para o leite depende de uma série de fatores como a dose administrada, natureza do veículo utilizado (se aquoso ou oleoso), o tipo do antibiótico e de fatores intrínsecos ao animal tratado. Calcula-se que cerca de 30 a 80% do antibiótico aplicado diretamente na glândula mamária passem da corrente sanguínea para o leite; geralmente, as preparações aquosas persistem por três dias e as oleosas são eliminadas após cinco dias ou mais. Deve-se então respeitar rigorosamente o período de suspensão prescrito para cada tipo de medicamento administrado no período próximo à ordenha, caso contrário, todo o leite deve ser descartado (FAO/OMS, 2009).

De acordo com Denobile (2002), embora os níveis aceitáveis de resíduos de antimicrobianos no leite sejam inferiores ao limite mínimo necessário para produzir reações alérgicas agudas, não se sabe se a exposição frequente às baixas concentrações de tais medicamentos pode causar efeitos nocivos ao consumidor. A maioria das informações relativas à hipersensibilidade está associada ao uso de penicilina, além de relatos de que aminoglicosídeos, cloranfenicol e novobiocina sejam, também, fortemente alergênicos em indivíduos sensíveis.

De acordo com Martin (2011) a presença de resíduos de antibióticos no leite é indesejável por ocasionar uma série de problemas. Dentre eles, destacam-se os

relacionados à perda de eficiência no processo de produção de derivados, como queijos e iogurtes e aos riscos que oferece à saúde pública, nos casos mais graves, pode ocorrer o choque anafilático e colapso dos sistemas respiratório e circulatório (CARRARO et al., 2000). Determinam-se Limites Máximos de Resíduos visando preocupação com a saúde pública (Quadro 3).

Quadro 3. Limites máximos de resíduos (*Codex Alimentarius*, Comunidade Econômica Européia) e tolerância (Estados Unidos) para drogas antimicrobianas no leite ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Substâncias	Codex	CEE	Estados Unidos
<b>Beta Lactâmicos</b>			
Penicilina	4	4	5
Ampicilina	-	4	10
Amoxicilina	-	4	10
Cloxacilina	-	30	10
Dicloxaciclina	-	30	-
Oxacilina	-	30	50
Cefacetil	-	125	-
Ceftiofur	100	100	50
Cefazolina	-	50	-
Tetraciclina	-	-	-

Fonte: Pedersen & Suhren (2000)

Os prejuízos para os laticínios em decorrência dos antibióticos presentes na matéria-prima são inúmeros. Ao provocar a inibição parcial das bactérias lácticas utilizadas nos processos de fermentação, com conseqüente diminuição do pH, comprometem a qualidade sensorial dos derivados do leite, além de aumentar os riscos de crescimento de coliformes e bactérias patogênicas. Cabe salientar que na maioria das vezes, o processo de pasteurização ou processamento não reduz a atividade dos antibióticos e até mesmo traços de antibióticos (0,1 unidade/ml) podem inibir completamente cepas de bactérias de fermentos lácteos (TRONCO, 2003). Tendo em vista tais problemas, principalmente no leite que constitui matéria-prima para a fabricação de derivados, a ausência de contaminantes residuais tem sido um dos pontos mais visados pela indústria de laticínios (ANDREW, 2009).

Quanto à saúde pública, diferentes tipos de riscos estão implicados na problemática da presença de antimicrobianos em leite como os microbiológicos, imunopatológicos e toxicofarmacológicos (MARTIN, 2011).

De acordo com Costa (2002), os microbiológicos consistem na seleção de cepas resistentes, comprometendo o equilíbrio da flora intestinal e tratamentos médicos futuros no homem. O surgimento de resistência a antimicrobianos em bactérias traz grandes obstáculos a procedimentos médicos tanto em humanos quanto em animais, resultando no aumento das taxas de mortalidade e morbidade na população e dos custos de tratamento de várias enfermidades (EMBRAPA, 2004). Tanto as drogas de uso terapêutico consagrado quanto aquelas de inserção recente no mercado de fármacos vêm se tornando ineficientes no combate a determinadas bactérias (NASCIMENTO, 2001).

As bactérias, conhecidas pela sua plasticidade foram capazes de desenvolver uma série de mecanismos que permitiram torná-las resistentes aos antibióticos. Desta forma, a emergência e disseminação da resistência a antibióticos tornaram-se inevitáveis, sendo considerado atualmente um grave problema de saúde pública (LEVY, 2004). Ainda de acordo com Levy (2005), a resistência pode ser considerada um fenômeno ecológico que ocorre como resposta da bactéria frente ao amplo uso de antibióticos e sua presença no meio ambiente. As bactérias multiplicam-se rapidamente, sofrem mutação e são promíscuas, podendo trocar material genético entre linhagens de mesma espécie ou de espécies diferentes. São consideradas micro-organismos de alta capacidade de adaptação a diversos fatores, como a exposição a agentes químicos potentes. Antes do século XXI a resistência bacteriana ocorria predominantemente em ambientes hospitalares. Atualmente, a resistência bacteriana está associada a diversos ambientes e pode atingir indivíduos saudáveis.

Na cronologia dos processos infecciosos, em 1950, oito anos após a introdução da penicilina, 68% dos *Staphylococcus aureus* já apresentava resistência a esse antibiótico; iniciava neste momento um dos maiores problemas no tratamento das infecções: a resistência microbiana (ROSSI; ANDREAZI, 2005). A era do antibioticoterapia estava iniciada, envolvendo técnicos e cientistas, com métodos equipamentos e matérias relacionados à química, biologia, farmacologia, exigindo a comercialização e o surgimento de novas drogas com espectros cada vez mais ampliados que fossem sensíveis aos mecanismos de resistência desses microrganismos (MOURA, 2011).

Embora algumas ações no cuidado com a saúde humana sejam realizadas objetivando o uso racional de antibióticos, o mesmo não acontece no setor da pecuária, o que torna o combate à resistência bacteriana inviável, a considerar que em nível mundial 50% dos antibióticos são utilizados na agricultura (AZEVEDO, 2005).

Dentre as inúmeras cepas de bactérias resistentes destacam-se: *Mycobacterium tuberculosis*, *Plasmodium falciparum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Enterococos* e mais recentemente a *Staphylococcus aureus* com alta resistência à vancomicina (SADER, 2002). Achados na literatura descrevem que uma bactéria é resistente quando cresce in vitro, nas concentrações que os antimicrobianos atingem no sangue quando administrados nas recomendações de uso clínico, e que os antimicrobianos não induzem a resistência e sim, é um selecionador de cepas resistentes existentes no meio de uma população (TAVARES, 2001; TRABULSI, 2005).

Segundo Fernandes (2006), uma alternativa que pode ser adotada na tentativa de contornar o problema da resistência bacteriana é o uso de terapias associadas, no entanto, uso intensivo e muitas vezes inapropriado dos antibióticos, más condições de higiene, fluxo contínuo de viajantes, o aumento de pacientes imunocomprometidos e a demora no diagnóstico das infecções bacterianas têm favorecido o aumento da resistência, entretanto, difícil predizer qual microrganismo será influenciado por um determinado antibiótico, pois nem sempre ocorre a resistência com o patógeno que está sendo focado no tratamento.

Apesar destes mecanismos variarem de patógeno para patógeno, a resistência é causada por alguns fatores básicos como inativação do antibiótico diretamente na molécula bioativa por alterações químicas, geralmente promovidas por enzimas bacterianas, modificação do alvo que leva à perda de sensibilidade ao antibiótico, mudanças na bomba de efluxo e permeabilidade externa da membrana que promovem a redução da concentração do antibiótico sem sua modificação química (LAMBERT, 2005).

Algumas estratégias podem ser adotadas para evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana: prevenção de infecções bacterianas com o uso de vacinas, uso racional de antibióticos, controle e prevenção da disseminação de microrganismos resistentes, descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos, pois a descoberta de um antibiótico pode levar cerca de 7-10 anos e o desenvolvimento de resistência pode levar 7-8 anos. Além disso, a caracterização dos genes responsáveis pela resistência,

assim como sua localização e diversidade são de grande importância para o entendimento dos fatores envolvidos na resistência (SUSKOVIC, 2008).

Os riscos imunopatológicos incluem o desencadeamento de reações de hipersensibilidade e choque anafilático em indivíduos suscetíveis, embora sua ocorrência seja relativamente rara (DEWDNEY, 1991). Lederer (1991) relata casos de reações de hipersensibilidade em indivíduos logo após ingestão de leite contaminado com penicilina. Para o desencadeamento da reação, basta que o antibiótico esteja presente no leite, mesmo que em pequenas quantidades (NASCIMENTO, 2001). Entre 5 a 10% da população mundial são hipersensíveis à penicilina e frações muito pequenas de 1 ppb são suficientes para desencadear um processo alérgico (VIRGÍNIA, 2009).

Dentre os riscos tóxico farmacológicos, o principal consiste no consumo de leite contaminado com antimicrobianos por gestantes, devido ao risco de exposição do feto a substâncias com potencial efeito teratogênico, podendo causar toxicidade e alterações no desenvolvimento ósseo fetal (COSTA, 1996). Pode ocorrer também o desenvolvimento de anemia aplásica, relacionada principalmente à ingestão de clorafenicol (BANDO, 2009) e ação carcinogênica associada aos nitrofuranos (COSTA, 2004).

Além dos prejuízos na cadeia produtiva do leite e dos riscos à saúde pública, a presença de antimicrobianos no leite também consiste em sério perigo ambiental, principalmente pelo fato desses resíduos serem muitas vezes descartados em ambientes aquáticos logo depois de seu consumo (HSIEA, 2009). Para evitar esse tipo de contaminação ambiental, os produtores deverão reduzir ao máximo a eliminação de resíduos químicos das operações de limpeza e desinfecção durante todo o processo de operação da ordenha (FAO/OMS, 2009). Brito (2006) enfatiza a importância do monitoramento frequente de medicamentos e seus derivados metabólicos e o controle de resíduos de agentes antimicrobianos no leite na indústria de produtos lácteos e na saúde do consumidor.

Diversos autores de diferentes regiões do Brasil pesquisaram sobre resíduos de antibiótico no leite e os resultados encontrados são apresentados no Quadro 4.

Quadro 4. Resultados de pesquisas sobre detecção de resíduos de antibióticos em leite realizadas no Brasil.

Referência	Local	Tipo da Amostra	Metodologia	n/a	Tipo de antibiótico detectado	% de amostras positivas
Vieira et al. (2012)	Estado do Paraná	Leite pasteurizado	Ensaio Imunoenzimático	79	Cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, estreptomicina e $\beta$ -lactâmicos	19
Sousa et al. (2010)	Municípios do Ceará	Leite pasteurizado	Inibição do Crescimento Microbiano	30	Antibiótico não discriminado	76,67
Macedo e Freitas (2009)	Belém e região	Leite cru e leite comercializado no varejo	Teste enzimático e inibição microbiana	103	Provavelmente $\beta$ -lactâmicos e/ou sulfonamidas	10,68
ANVISA (2009)	Regiões norte, nordeste, sudeste, sul e centro-oeste	Leite integral (UHT) e Leite integral em pó	Imunoensaios, confirmação de resultados*** por CLAE/UV/VIS e CLAE/EM	607 606 603	$\beta$ -lactâmicos, tetraciclina, cloranfenicol e florfenicol	0,65 (leite em pó) e 2,14 (leite UHT) para $\beta$ -lactâmicos; 1,72 (leite UHT) e 15,83 (leite em pó) para tetraciclina na triagem; 0,65 (leite UHT) para cloranfenicol; 1,44 (leite em pó) para florfenicol
Nero et al. (2007)	Viçosa, Minas Gerais	Leite Cru	Ensaio de inibição microbiana	47	$\beta$ -lactâmicos, sulfonamidas e outros antibióticos	8,5
	Pelotas, Rio Grande do Sul	Leite Cru	Ensaio de inibição microbiana	50	$\beta$ -lactâmicos, sulfonamidas e outros antibióticos	6,0
	Londrina, Paraná	Leite Cru	Ensaio de inibição microbiana	63	$\beta$ -lactâmicos, sulfonamidas e outros antibióticos	20,6
	Botucatu, São Paulo	Leite Cru	Ensaio de inibição microbiana	50	$\beta$ -lactâmicos, sulfonamidas e outros antibióticos	8,0
Oliveira, Bando e Machinski	Estado do Paraná	Leite pasteurizado	Ensaio Imunoenzimático	151	Cloranfenicol	2,6

Junior (2007)						
ANVISA (2006)	Regiões centro-oeste, sudeste e sul	Leite integral (UHT) e Leite integral em pó	Imunoensaios confirmação de resultados por CLAE/UV/FI para tetraciclinas	312	$\beta$ -lactâmicos, tetraciclinas e cloranfenicol	7** para tetraciclinas; <1 para $\beta$ -lactâmicos e 7 para cloranfenicol
ANVISA (2005)	Regiões sul e sudeste	Leite integral (UHT) e Leite integral em pó	Inibição do crescimento microbiano e Imunoensaios	750	$\beta$ -lactâmicos e tetraciclinas	<3
Biacchi, Jorge e Ueno (2004)	Vale do Paraíba, São Paulo	Leite cru	Inibição do Crescimento Microbiano	100	Antibiótico não discriminado	100
		Leite pasteurizado				80
Barros, Jesus e Silva (2001)	Salvador, Bahia	Leite pasteurizado	Inibição do Crescimento Microbiano	26	Antibiótico não discriminado	38,5
Folly e Machado (2001)	Norte do Estado-Rio de Janeiro	Leite Pasteurizado	Inibição do Crescimento microbiano e proteínas ligadoras de penicilinas	130	$\beta$ -lactâmicos e tetraciclinas	4,33
		Integral Fazenda		170		
Nascimento, Maestro e Campos (2001)	Piracicaba, São Paulo	Leite pasteurizado	Inibição do Crescimento Microbiano	96	Penicilina	50
Borges et al. (2000)	Estado de Goiás	Leite pasteurizado	Inibição do Crescimento Microbiano	533	Antibiótico não discriminado	9,95

Fonte: Rodrigues (2013).

A Portaria nº 56 de 07 de dezembro de 1999 que trata da proposta de regulamentação para o setor lácteo inclui nos testes do leite cru a detecção de resíduos de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos. Os  $\beta$ -lactâmicos são motivo de preocupação devido ao uso indiscriminado no tratamento da mastite. Fazem parte do grupo dos  $\beta$ -lactâmicos as penicilinas (naturais, semissintéticas e de amplo espectro) e as cefalosporinas (primeira, segunda, terceira e quarta geração). Os  $\beta$ -lactâmicos, em especial a penicilina são os antibióticos mais comumente administrados em virtude dos efeitos bactericidas e bacteriostáticos sobre um amplo espectro de bactérias Gram-positivas e negativas.

### 3.4 Controle de Qualidade do Leite

No Brasil, a norma de qualidade dos alimentos de origem animal tomou forma de lei em 29 de março de 1952, com a aprovação pelo então presidente Getúlio Vargas no decreto nº 30.691, sancionando o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), elaborado em 1950 e em vigor até os dias atuais. O regulamento sofreu algumas alterações no decorrer dos anos, sendo as mais importantes introduzidas em função da adesão do Brasil ao Tratado de Assunção que criou o Mercado Comum do Sul – MERCOSUL (BRASIL, 1997).

Em 1998, o MAPA considerando a necessidade de aperfeiçoamento e modernização da Legislação Sanitária Federal sobre a produção de leite, baixou a Portaria 166, criando um grupo de trabalho para analisar e propor programa e medidas visando ao aumento da competitividade e a modernização do setor produtivo de leite e derivados (BRASIL, 1998). A comissão, formada por técnicos do governo e representantes de diversos setores ligados à cadeia do leite, elaborou o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PMQL) que culminou, em 1999, na publicação da Portaria 56 (BRASIL, 1999).

Quanto à fiscalização sanitária e industrial, sua competência cabe aos diferentes órgãos públicos, de acordo com a classificação da produção industrial. Quando o comércio é interestadual e/ou internacional, a fiscalização da indústria é feita pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), ligada ao MAPA. Se a indústria realiza comércio dentro do mesmo Estado, cabe aos órgãos estaduais a fiscalização; da mesma forma, quando o comércio de uma indústria se restringe apenas ao município onde se encontra instalada, a fiscalização compete à esfera municipal (BRASIL, 1999).

Com o intuito de avaliar e prevenir esses riscos, o Ministério da Saúde implantou no Brasil, em 2000, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos que visa, por análise laboratorial, monitorar no país os resíduos de agrotóxicos em alimentos (BRASIL, 2000).

No ano de 2002 surgiu o Programa de Análise de Resíduos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet), a partir de discussões sobre o tema promovidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em anos anteriores. Mais tarde, a própria ANVISA define o Programa pela Resolução RDC nº

253, de 16 de setembro de 2003, com o objetivo de operacionalizar sua competência legal de controlar e fiscalizar a presença de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. O primeiro relatório do PAMVet, produzido durante os anos de 2002 e 2003 permitiu um primeiro esboço do perfil dos medicamentos veterinários no leite consumido pela população brasileira. Esses dados foram de grande importância, pois permitiram o aprofundamento dos debates internos, no intuito de melhorar o controle sanitário de alimentos, mais especificamente do leite, dando subsídios para a ampliação da capacidade do governo de promover medidas preventivas de alcance em toda a cadeia produtiva do leite (BRASIL, 2009).

Definiram-se também os seguintes princípios ativos a serem pesquisados: tetraciclina,  $\beta$ -lactâmicos, sulfas, abamectina, doramectina e ivermectina. No Brasil, é de competência do Ministério da Saúde estabelecer níveis de tolerância de resíduos de medicamentos presentes em produtos de origem animal, já que os mesmos podem causar efeitos adversos à saúde humana (BRASIL, 2003).

O leite foi escolhido como o primeiro alimento a ser monitorado no âmbito do programa, principalmente devido ao seu alto consumo pela população brasileira, principalmente crianças. No PAMVet, as amostras são coletadas em pontos de venda pelas Vigilâncias Sanitárias Estaduais (VISA) e enviadas na embalagem original para os laboratórios credenciados para análise. A amostragem segue também o plano de amostragem do comitê *Codex Alimentarius* (BRASIL, 2006).

O Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Leite (PNCRC) para produtos de origem animal teve suas diretrizes instituídas pela Instrução Normativa do MAPA -IN nº 42 em 1999, e o seu escopo criado para análise de resíduos e contaminantes químicos e biológicos em carne, leite, mel e pescado de forma a atender a demanda nacional e internacional (BRASIL, 1999). Em março de 2006, a União Européia decidiu suspender a importação de mel produzido no Brasil sob a alegação de que o País não teria equivalência com o bloco no que se referia às diretivas para controle de resíduos e qualidade do produto (BRASIL, 2006).

Porém, em 2005, o MAPA alterou seu escopo relativo a medicamentos veterinários para atender as exigências da Comunidade Européia, que sugeriu que o Brasil aperfeiçoasse o programa de resíduos em mel, criasse um plano de resíduo em ovos, adicionasse os resíduos exigidos pela legislação Européia e realizasse a

confirmação dos dados qualitativos obtidos com métodos de triagem, entre outras solicitações (FVO, 2015). O escopo analítico do programa foi readequado ao longo dos anos de acordo com o aumento da capacidade analítica dos laboratórios do MAPA (MAURÍCIO, 2012).

Especificamente para o leite, o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Leite fornece subsídios para a melhoria de sua produção e produtividade em todo o território nacional. As ações a serem implementadas pelo PNCRL seguem uma recomendação própria nos casos em que não existe legislação específica; inicialmente procede-se a identificação da propriedade de origem do leite, seguida de uma visita ao local para investigação, orientação e colheita das amostras que seguirão para análise e, por conseguinte, a análise propriamente dita; no caso de resultado positivo, no qual for confirmada a violação do limite máximo de resíduo, notifica-se imediatamente o proprietário, a Inspeção Federal e a Defesa Sanitária Animal, impedindo a propriedade de comercializar o produto até que as análises tornem-se negativas. Para o caso de confirmação da utilização de substâncias proibidas, notifica-se primeiramente o proprietário, cabendo-lhe recurso para análise da contraprova; se o resultado da contraprova for confirmado, o proprietário fica sujeito às sanções decorrentes de sindicância da Polícia Federal e sua propriedade fica proibida de comercializar seus produtos pelo prazo de dois meses (BRASIL, 1999).

As amostras monitoradas pelo PNCRC são coletadas de acordo com o plano de amostragem recomendado pelo comitê do *Codex Alimentarius* e o MAPA publica anualmente no Diário Oficial da União o número de amostras previstas para serem analisadas no programa (BRASIL, 2012). As amostras são coletadas por fiscais federais agropecuários em estabelecimentos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), identificadas, embaladas, congeladas e levadas para os laboratórios oficiais e os credenciados pelo MAPA e acreditados pelo INMETRO (ABNT ISO/IEC 17025:2005) para análise (NONAKA, 2012).

A Instrução Normativa 51/2002 do MAPA, incluiu nos testes obrigatórios do leite cru, a detecção de resíduos de antibióticos do grupo dos  $\beta$ -lactâmicos (penicilinas naturais, semissintéticas e de amplo espectro) e as cefalosporinas de primeira, segunda, terceira e quarta geração, estando ainda prevista a inclusão de testes para a detecção de gentamicina e tetraciclina. A efetivação de medidas que coíbam a presença de resíduos

de antimicrobianos no leite é desejável e imprescindível para a garantia da segurança do leite para o consumidor e para evitar prejuízos à industrialização. Essas medidas devem seguir os padrões e métodos adotados internacionalmente e estarem de acordo com os limites impostos pelo *Codex Alimentarius* (BRITO, 2001).

Neste contexto, Reis Filho et al. (2013) afirmam que as pesquisas realizadas ao longo dos últimos 50 anos nas diversas instituições visam garantir o domínio das tecnologias envolvidas na produção e no processamento do leite, porém pela dimensão territorial e grande diversidade edafoclimáticas do país, é importante que as pesquisas sejam definidas conforme a realidade de cada região, especialmente no segmento produtivo. Dadas às condições peculiares da Região Nordeste e a demanda tecnológica da bovinocultura leiteira é necessário estabelecer prioridades nas linhas de pesquisa. Portanto, é preciso que haja uma maior interação entre as instituições de ensino, fiscalização e produção.

### **3.5 Métodos de análises de resíduos antimicrobianos**

De acordo com Blasco (2007) existem vários métodos de análises utilizados na detecção e/ou quantificação de resíduos e contaminantes em alimentos que podem ser divididos em métodos de triagem e de confirmação. Os métodos de triagem podem detectar a presença da substância ou classe de substâncias no nível de interesse e incluem principalmente os bioensaios, enquanto que os métodos de confirmação proporcionam informações completas ou complementares para identificação e, se necessário, quantificação do analito. De acordo com o mesmo autor os métodos de triagem utilizados para determinar resíduos de medicamentos veterinários normalmente são testes baseados na inibição de crescimento microbiano, testes imunológicos e testes enzimáticos com receptores específicos, além de técnicas cromatográficas.

De acordo com Toldra (2006), estes métodos biológicos de triagem têm sido largamente utilizados na investigação da presença de resíduos de medicamentos veterinários em várias matrizes, principalmente devido à simplicidade na execução, rapidez e, geralmente pelo baixo custo. Estes métodos qualitativos ou semiquantitativos são baseados, principalmente, em técnicas imunológicas e microbiológicas. Entre as técnicas imunológicas, as mais usadas são o ELISA (*enzyme-linked immuno sorbent assay*), o radioimunoensaio (RIA) e biosensores. No ELISA, a atividade enzimática resultante da reação enzima-anticorpo-antígeno causa uma variação de cor que pode ser medida por técnicas colorimétricas. O RIA permite a medida da radioatividade de um

complexo imunológico usando um contador. Na técnica com biosensores, o analito entra em contato com um anticorpo e o sinal bioquímico é convertido num sinal elétrico TOLDRA, 2006.

As técnicas microbiológicas baseiam-se na inibição do crescimento do microrganismo no meio onde pode estar presente o antibiótico ou antimicrobiano. (MeSH, 2013). Estas análises são feitas normalmente com *kits* comerciais, tais como o SNAP® *Tetracycline* e Ridascreen® *chloramphenicol* para ensaios imunológicos por ELISA46 e o FAST® (*Antimicrobial Screening Test*) e Premi®Test para testes microbiológicos (HOFF, 2012).

Os métodos de triagem devem ser capazes de detectar um analito ou uma classe de substâncias no nível de interesse ( $\geq$  LMR), porém alguns são pouco seletivos (NEBOT, 2012). Segundo Orтели (2009), estas técnicas podem fornecer resultados falso-positivos, sendo necessária a confirmação de amostras positivas por métodos cromatográficos. As principais vantagens destes testes são seu baixo custo, a facilidade de execução e a possibilidade de diversas amostras poderem ser analisadas simultaneamente. Como desvantagem, os bioensaios fornecem apenas análises semiquantitativas e podem dar origem a resultados falsos positivos.

Os métodos de confirmação para análises de resíduos, de acordo com a Decisão da Comissão Européia 657, de 12 de agosto de 2002, necessitam comprovar informações sobre a estrutura química do analito. Normalmente, são métodos que empregam as técnicas de cromatografia e espectrometria de massa, prevê ainda requisitos para os métodos analíticos utilizados em análise de amostras oficiais e especifica critérios comuns para a validação dos métodos e interpretação dos resultados analíticos de laboratórios oficiais (CE, 2002).

Segundo Ferreira et al. (2012), uma das vantagens dos métodos cromatográficos sobre os *kits* comerciais é a capacidade de identificar os compostos individualmente. As técnicas cromatográficas são métodos analíticos mais específicos e seletivos. Como desvantagens podem ser citadas o elevado custo de aquisição, operação e manutenção da instrumentação e o maior tempo de análise em relação aos *kits* comerciais.

### **Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

O botânico russo Mikhael Semenovich Tswett descobriu a cromatografia como técnica analítica em 1906, quando descreveu sua experiência na separação dos componentes de extrato de folhas. Neste estudo, conseguiu separar pigmentos de cloroplastos em folhas verdes de plantas, onde usou uma coluna de vidro recheada com carbonato de cálcio como fase estacionária e éter de petróleo como fase móvel, ocorrendo a separação de componentes em faixas coloridas. Este achado deu origem ao nome cromatografia (*chrom* = cor e *grafie* = escrita) embora o processo não dependa da cor. Apesar de estudos semelhantes terem sido desenvolvidos, Tswett foi o primeiro a compreender e interpretar este processo como é aceito atualmente, empregando o termo cromatografia para descrever as zonas coloridas que se moviam dentro da coluna (LANÇAS, 1993; DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

Para detecção de Limites Máximo de Resíduos (LMR) estabelecidos pelos órgãos internacionais e de regulação para medicamento veterinário em produtos de origem animal, o uso ilegal de algumas substâncias e a complexidade das matrizes requerem o desenvolvimento de metodologias analíticas sensíveis, seletivas e robustas. Vários métodos têm sido utilizados no monitoramento de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. Estes métodos podem ser divididos em dois grandes grupos: métodos biológicos de triagem e métodos cromatográficos (PACHECO, 2014).

De acordo com Prestes (2013), a grande variedade de medicamentos veterinários utilizada na produção animal pode levar à presença de vários resíduos nas matrizes de alimentos para consumo humano. Desta maneira, o desenvolvimento de métodos multirresíduos para análise de resíduos em alimentos tem se tornado cada vez mais importante. O preparo da amostra pode ser a etapa mais laboriosa de um método multirresíduos e diferentes estratégias têm sido utilizadas para extrair os resíduos e realizar o *clean-up* da amostra. Segundo Jank (2012), as técnicas mais empregadas para matrizes de origem animal são a extração líquido-líquido (ELL) e extração em fase sólida (EFS).

As etapas envolvidas no procedimento analítico para determinação de resíduos de antimicrobianos no leite compreendem a extração, limpeza, identificação/quantificação e confirmação. A extração consiste em um dos principais

problemas na determinação de resíduos de antibióticos em leite, pois essa matriz contém altos teores de proteínas e lipídios, que podem interferir na análise dos resíduos; têm-se realizado então uma desproteinização utilizando-se ácidos como a acetonitrila, seguida de uma centrifugação, congelamento e descongelamento para retirada da gordura. A procura por procedimentos de extração que utilizem pouco ou nenhum reagente tóxico levou Furuswa (2003) a desenvolver um método de separação de tetraciclinas do leite bovino, diluindo as amostras em água a concentração de cinco vezes e passando por coluna de extração de fase sólida diretamente, resultando em amostras livres de compostos interferentes e sem necessidade da etapa de purificação.

A fase de limpeza do analito é de extrema importância. As técnicas mais utilizadas na etapa de purificação são extração líquido-líquido e extração por coluna em fase sólida, sendo a segunda a mais utilizada por realizar extração e purificação simultaneamente (KOESUKWIWAT, 2007).

A detecção e quantificação de resíduos de antibióticos em amostras de leite são realizadas principalmente por técnicas cromatográficas e eletroforese capilar. Dentre as mais utilizadas estão a cromatografia em fase líquida de alta eficiência com sistema de detecção por absorção no ultravioleta (UV) ou por arranjo de diodos (CINQUINA, 2003).

A etapa final da metodologia analítica é a confirmação da identidade dos antimicrobianos. A espectrometria de massa acoplada ao cromatógrafo líquido de alta eficiência é um procedimento de confirmação altamente específico na análise destes compostos. Outros autores desenvolveram um método de determinação de tetraciclinas no leite bovino utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um espectrômetro de massa com uma interface de ionização de elétrons que detectou concentrações de resíduos entre 5 e 20 µg/L (RUYCK e RIDDER, 2007).

O acoplamento da cromatografia líquida com a espectrometria de massas apresenta vantagens, como o fato de ter alta seletividade, quando se opera no modo de monitoramento de íon selecionado, o qual permite a identificação e a quantificação de picos sobrepostos; a boa detectabilidade, a possibilidade de avaliação da pureza do pico, a confirmação da presença do analito mediante a informação de massa molar e estrutural, sendo essa a característica mais relevante. Apesar do alto custo, o uso do espectrômetro de massas em CLAE está tornando-se mais comum. A Decisão da

Comissão Europeia (657/2002) estabelece que métodos de confirmação para resíduos ou contaminantes orgânicos necessitam fornecer informações sobre a estrutura química do analito. Várias técnicas ou combinações de técnicas são consideradas adequadas para a identificação dos compostos. Além disso, se uma única técnica não possuir especificidade suficiente, a identificação pode ser alcançada pela combinação adequada de diferentes técnicas (CE, 2002).

A CLAE é considerada indispensável em vários laboratórios. Neste método são utilizadas pequenas colunas, nas quais uma fase móvel líquida elui sobre a fase estacionária que está em seu interior, formada de materiais especialmente preparados; emprega-se alta pressão na separação dos componentes da amostra sendo capaz de completar a análise em alguns minutos (CECCHI, 2003).

Segundo Blasco et al. (2007), algumas as técnicas de detecção estão caindo em desuso, embora a Decisão da Comissão Europeia ainda as mantenha como possíveis técnicas de confirmação para antimicrobianos específicos, a confirmação de resíduos de antibióticos mais utilizada em alimentos é executada por CLAE-MS, principalmente CLAE-EM/EM.

Na legislação Brasileira, os métodos analíticos empregados na pesquisa de resíduos de antibióticos no leite devem apresentar sensibilidade para os Limites Máximos de Resíduos. Valores de limite de decisão (CC $\alpha$ ) e capacidade de detecção (CC $\beta$ ) também são reportados em alguns estudos. Estes valores são requeridos pelas agências reguladoras com o objetivo de medir o desempenho analítico (incerteza da medição) de um método num dado LMR a um determinado nível de confiança. CC $\alpha$  é definido como o menor nível de concentração no qual o método pode discriminar com uma certeza estatística de 95% a presença de um composto que apresenta LMR. CC $\beta$  representa a menor quantidade da substância que pode ser detectada, identificada e/ou quantificada em uma amostra com uma probabilidade de erro aceitável ( $b = 5\%$ ) (BRASIL, 2006).

Ambos os métodos de triagem e confirmação têm suas exigências específicas que devem ser consideradas quando selecionada uma técnica analítica apropriada. O desenvolvimento, a otimização e a validação de métodos analíticos adequados são elementos importantes para garantir a confiabilidade dos ensaios de resíduos de medicamentos veterinários (FERREIRA et al., 2012).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADETUNJI, V.O. Effects of processing on antibiotic residues (Streptomycin, Penicillin-G and Tetracycline) in soft cheese and yoghurt processing lines. *Pakistan Journal of Nutrition*. v.10, n.8, p.792-795, 2011.

ADJLANE-KAOUCHE, S. et al. Nutritional and hygienic quality of raw milk in the mid-northern region of Algeria: correlations and risk factors. *Scientific World Journal*, Egypt, v. 2014, Article ID 131593, p. 1-7, 2014.

ANDREW S.M.; MOYES, K.M.; BORM, A.A.; FOX, L.K.; LESLIE, K.E.; HOGAN, J.S.; OLIVER, Y.H.; SCHUKKEN, W.E.; OWENS, W.E.; NORMAN, C. Factors associated with the risk of antibiotic residues and intramammary pathogen presence in milk from heifers administered prepartum intramammary antibiotic therapy. *Veterinary Microbiology*, v. 134, n. 1-2, p. 150-156, 2009.

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, 2009. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/72efdb0047458ad19441d43fbc4c6735/PAMVET.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 2 maio 2014.

AZEVEDO F.M. Microrganismos multirresistentes. In: OLIVEIRA, A. C. (Org.). *Infecções hospitalares: epidemiologia, prevenção controle*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p. 341- 47.

BANDO, E.; OLIVEIRA, R. C.; FERREIRA, G.M.; MACHINSKI, M. Occurrence of antimicrobial residues in pasteurized milk commercialized in the state of Paraná, Brazil. *Journal of Food Protection, Local*, v. 72, n. 4, p. 911-914, 2009.

BIACCHI, N. C; JORGE, A. O. C; UENO, M. Detecção de resíduos antibióticos em leite bovino na região do Vale do Paraíba, São Paulo. *Revista Biociências*, Taubaté, v. 10, n. 1-2, p. 47-49, 2004.

BLASCO, C.; TORRES, C. M.; PICÓ, Y. Progress in analysis of residual antibacterials in food. *Trends in Analytical Chemistry, Local*, v. 26, n. 9, p. 895- 913, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo – PAMVet [acesso em 2 maio 2009]. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/pamvet.pdf>>

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. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Aprovado pelo decreto nº 30.691, de 29/03/52, alterado pelos decretos nº 1.255, de 25/06/62, nº 1.236, de 02/09/94, nº 1.812, de 08/02/96 e nº 2.244, de 04/06/97. Diário Oficial da União, Brasília, 05 jun. 1997. Seção I, p. 11555-11558.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. Instrução normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF&tipo=INM&numeroAto=00000051&seqAto=000&valorAno=2002&orgao=MAA&codTipo=&desItem=&desItemFim=>>> Acesso em: 1 jul. 2014.

BRASIL. Portaria nº 193, de 12 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico para o licenciamento e a renovação de licença de antimicrobianos de uso veterinário. Diário Oficial da União, Brasília, 13 maio 1998. Seção 1, p. 114.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa nacional de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos expostos ao consumo. Novembro, 2003. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/pamvet.pdf>>. Acesso em: 5 jul. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 11, de 22 de maio de 2012. Plano Nacional de

Controle de Resíduos em produtos de origem animal. 2012. Diário Oficial da União de 25 de maio de 2012. Brasília (Brasil).

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A.V. P. Qualidade do leite brasileiro e os desafios para atendimento das exigências internacionais. In: VILELA, D. et al. Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar. Juiz de Fora, MG: Editora Embrapa, 2001. p. 63-68.

BRITO, M. A. V. P. Resíduos de antibióticos no leite: um problema que tem solução. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2006. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/gado-de-leite>>. Acesso em: 17 set. 2014.

CARRARO, C. N. M.; VEIGA, D. R. Avaliação do desempenho de três métodos utilizados para detecção de resíduos de antibióticos no leite. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 17, 2000, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: ILCT/CT – EPAMIG, 2000. p. 77-79.

CARVALHO, G. R. Leite: por que olhar para o Brasil?. 2007. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/?noticiaID=41633&actA=7&areaID=50&secaoID=128>>. Acesso em: 18 out. 2015.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2. ed. rev. Campinas: Editora da Unicamp, 2003. 207 p.

CINQUINA, A.L.; LONGO, F.; ANASTASI G.; GIANNETTI L.; COZZANI R. Validation of a high – performance liquid cromatograpy method for the determination of oxitetracycline, tetracycline, clortetracycline an doxycycline in bovine milk and muscle. Journal of Chromatography A, v. 987, p. 227-233, 2003.

COSTA, E.O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.10, n. 44, p. 15-17, 1996.

COSTA, E.O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: Spinosa HS (Org.). Farmacologia aplicada à medicina veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p. 501-515.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 501-515.

CUNHA FILHO, L. F. C. et al. Incidência de mastite subclínica no início do período de transição em vacas leiteiras da fazenda experimental da UNOPAR, no município de Tamarana, Paraná. *Científica Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina*, v. 8, n. 1, p. 25-30, 2006.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. *Atualidades em Química. Química Nova na Escola*, n. 7, p. 21-25, 1998.

DENOBILO, M. Análise de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, cortetraciclina e doxiciclina, em leite por cromatografia líquida de alta eficiência. 2002. 121 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

DEWDNEY, J. M.; MAES, L.; RAYNAUD, J.P.; BLANC, F.; SCHEID, J.P.; JACKSON, T.; LENS, S.; VERSCHUEREN, C. Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential. *Food and Chemical Toxicology*, v. 29, n. 7, p. 477-483, 1991.

DIETRICH, J.M. Controle do resíduo de antibióticos no leite. *Leite & Derivados*, São Paulo, n. 106, p. 156-162, jul. 2008.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Resistência antimicrobiana x produção animal: uma discussão internacional; 2004. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2000/artigo.2004-12-07.2546062632>>.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Outlook. BIENNIAL REPORT ON GLOBAL FOOD MARKETS, 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Outlook. BIENNIAL REPORT ON GLOBAL FOOD MARKETS, 2014.

FERNANDES, P. Antibacterial discovery and development – the failure of success? *Nature Biotechnology*, v. 24, p. 1497-1503, 2006.

FERREIRA, R.G.; SPISSO, B.F.; HORA, I.M.C.; MONTEIRO, M.A.; PEREIRA, M.U.; COSTA, R.P.; CARLOS, B.S. Panorama da ocorrência de resíduos de medicamentos veterinários em leite no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, v. 19, n. 2, p. 30-49, 2012.

FVO – Food and Veterinary Office. Response to draft report of European Community mission DG (SANCO) 7712/2005 to evaluate national programme on residues and contaminants in animals and animal products. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/food/fvo/ir\\_search\\_en.cfm](http://ec.europa.eu/food/fvo/ir_search_en.cfm)>, Acessado em: 13 dez. 2015.

FURUSAWA, N. Isolation of tetracyclines in milk using a solid-phase extracting column and water eluent. *Talanta*, v. 59, p. 155-159, 2003.

GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, X. Conhecer a importância do leite na nutrição humana. *Leite + I + D + T*, Porto, v. 2, n. 7, p. 2-4, jan. 2008.

GONZALEZ, H.L.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; GOMES, J.F.; STUMPF JR., W.; SILVA, M.A. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS: efeito dos meses do ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1531-1543, 2004.

HOFF, R.; RIBARCKI, F.; ZANCANARO, I. et al. Analytical quality assurance in veterinary drug residue analysis methods: Matrix effects determination and monitoring for sulfonamides analysis. *Food Additives and Contaminants, Part A*, v. 29, 577. 2012.

HSIEH, S. H.; HUANG, H. Y.; LEE, S. Determination of eight penicillin antibiotics in pharmaceuticals, milk and porcine tissues by nano-liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2009. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Clindamicina>>. Acesso em: 16 jul. 2014.

IBGE. Indicadores IBGE: estatística da produção pecuária. 2010. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201003\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201003_publ_completa.pdf)>. Acesso em: 18 ago. 2015.

IBGE. Indicadores IBGE: estatística da produção pecuária. 2014. Disponível em; <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201403\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201403_publ_completa.pdf)>. Acesso em: 18 ago. 2015.

IBGE. Indicadores IBGE: estatística da produção pecuária. 2013. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201303\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201303_publ_completa.pdf)>. Acesso em: 18 ago. 2015.

JANK, L. et al.  $\beta$ -Lactam antibiotics residues analysis in bovine milk by LC-ESI-MS/MS: a simple and fast liquid-liquid extraction method. . Food Additives and Contaminants, Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, vol. 29, no. 4, pp. 497–507, 2012.

JARDIM, F. S. C. I.; ANDRADE, A. A.; QUEIROZ, N. C. S. Resíduos de Agrotóxicos em alimentos: Uma preocupação ambiental Global - Um enfoque às maçãs. Química Nova, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.

JORNAL DO BRASIL. Jornal do Brasil , Rio de Janeiro , n. 37 . 12 fev. 1933.

KOESUKWIWAT, U.; JAYANTA, S.; LEEPIPATPIBOON, N. Solid-phase extraction for multi residue determination of sulfonamides, tetracyclines, and pyrimethamine in bovine's milk. Journal of Chromatography A, v. 1149, p. 102-111, 2007.

KRYCHOWIAK, M.; GRINHOLC, M.; BANASIUK, R. et al. Combination of silver nanoparticles and droserabinata extract as a possible alternative for antibiotic treatment of burn wound infections caused by resistant staphylococcus aureus. PLoS ONE, v. 9, n. 12, 2014.

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

LAMBERT, P. A. Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 57, n. 10, p. 1471-1485, 2005.

LANÇAS, Fernando M. Cromatografia em fase gasosa. São Carlos: Acta, 1993. 254p.

LEE, J.H. Methicilin (oxacilin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potencial transmission to humans. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 69, n. 11. p. 6489-6494, 2003.

LEE, J.B.; Chung, H.H.; Chung, Y.H.; Lee, K.G. Development of an analytical protocol for detecting antibiotic residues in various foods. *Food Chemistry* 2007;105(4):1726-31.

LEDERER, J. Enciclopédia moderna de higiene alimentar: intoxicações alimentares. São Paulo: Manole; 1991.

LEVY SB & MARSHALL B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, v. 10, p. 122-129, 2004.

LEVY, S. B. Antibiotic resistance: consequences of inaction. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, v. 33, S124; DEMAIN, A. L. Prescription for an ailing pharmaceutical industry. *Nature Biotechnology*. 2002, v. 20, p.331; WOODFORD, N. Biological counterstrike: antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. *Clinical Microbiology and Infection*. 2005, v. 11, p. 2-21.

LOZANO, M. C.; ARIAS, D. C. Resíduos de fármacos en alimentos de origen animal: panorama actual em Colombia. *Revista Colombiana de Ciências Pecuárias*, Colombia, v. 21, n. 1, p. 121-135, 2008.

MAURICIO, A. Q.; LINS E. S. The National Agricultural Laboratories of Brazil and the control of residues and contaminants in food. *Food Additives and Contaminants, Part A* 2012, v. 29, p. 482.

MCBEAN, L. D. Dairy foods' contribution to nutrient dense diets. National Dairy Council, Rosemont, v. 75, n. 1, p. 1-6, jan./fev. 2004.

MACHADO, F. M. S. Estratégias de concorrência da indústria alimentícia e seus desdobramentos na dimensão nutricional. 2003. 213f. Tese (Doutorado em Nutrição Humana Aplicada) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MAGALHÃES, H.R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V.L.; PAZ, C.C.P.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.35, n.2, p.415-421, 2006.

MARTIN, J. G. P. Resíduos de antimicrobianos em leite. Segurança alimentar e nutricional, Campinas, v. 18, n. 2, p. 80-87, 2011.

MARTINS, T. Resíduos de gentamicina no leite de vacas com mastite clínica e subclínica submetidas a tratamento intramamário. Nova Odessa, São Paulo, 91p. 2013.

MATTOS, M. R. DE; BELOTI, V.; TAMANINI, R. et al. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 1, p. 173-182, jan./mar. 2010.

MEDICAL SUBJECT HEADINGS (MeSH). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=elisa>>. Acesso em: 15 set. 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 delvotestsp. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 95-98, 2008.

MENEGHETTI, G.T.; FERREIRA, N.J., Variabilidade sazonal e interanual da precipitação no Nordeste Brasileiro. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto,

14. (SBSR), 2009, Natal. Anais... São José dos Campos: INPE, 2009. p. 1685-1689. Disponível em: <<http://urlib.net/dpi.inpe.br/sbsr@80/2008/11.14.19.34>>. Acesso em: 12 fev. 2015.14., 2009, Natal. Anais... Natal, 2009. p.1685-1689.

MILINSKY, C. C.; GUEDINE, P. S. M.; VENTURA, C. A. A. O sistema agroindustrial do leite no Brasil : Uma análise sistêmica. In: Anais do IV Congresso Brasileiro de Sistemas: Centro Universitário de Franca – Uni-FACEF, 2008.

MONTEIRO, A.A. et al. Características da produção leiteira de região do agreste do Estado de Pernambuco, Semina: Ciências Agrária, Londrina, Brasil, v. 28, n.4, p.665-674, 2007.

MOURA, M.E.B.; NUNES, B.M.V.T.; OLIBEIRA, B.M.; OLIVEIRA, F.B.M.; LIMA, L.M. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma reflexão no tratamento das infecções hospitalares. Revista Interdisciplinar NOVAFAPI, Teresina. v.4, n.4, Out/Dez, 2011.

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, 2001.

NEBOT, C.; IGLESIAS, A.; REGAL, P.; MIRANDA, J.; CEPEDA, A.; FENTE, C. Development of a multi-class method for the identification and quantification of residues of antibiotics, coccidiostats and corticosteroids in milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry. International Dairy Journal, v. 22, p. 78, 2012.

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, abr./jun. 2007.

NONAKA, C.K.V.; OLIVEIRA, A.M.G.; PAIVA, C.R. et al. Occurrence of antimicrobial residues in Brazilian food animals in 2008 and 2009. Food Additives and Contaminants, London, v. 29, n. 4, p. 526- 534, 2012.

NORO, G.; GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J.W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul, Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006. Suplemento.

NOVAES, E.A. Economia do setor lácteo do Estado de Goiás. SEPIN - Superintendência de Estatística, Pesquisa e Informação / SEPLAN / Governo de Goiás. 2000. Disponível em: <<http://www.seplan.go.gov.br/sepim/pub/conj/conj9/04.htm>> Acesso em 12 jun. 2015.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y La Alimentación. Reducción de alimentos de origen animal: código de prácticas de higiene para La leche y los productos lácteos – CAC/RCP 57-2004. 2ª ed. Roma: FAO/OMS; 2009.

ORTELLI, D.; COGNARD, E.; JAN, P.; EDDER, P. J. Chromatogr.B 2009, 877, 2363.

PACHECO SILVA, E.; SOUZA, J. R. de; CALDAS, E. D. Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos. Química Nova, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 111-122, 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422014000100020&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000100020&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 10 dez. 2015.

PAIVA, C. A. V. et al. Evolução anual da qualidade do leite cru refrigerado processado em uma indústria de Minas Gerais. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 64, n. 2, p. 471-478, 2012.

PERICÁS, C. C.; MAQUIEIRA, A.; PUCHARDES, R. Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. Trends in Analytical Chemistry, Amsterdam, v. 29, n. 9, p. 1038-1049, 2010.

PIETERSE, R.; TODOROV, S. D. Bacteriocins: exploring alternatives to antibiotics in mastitis treatment. Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, n. 41, p. 542-562, 2010.

POL, M.; RUEGG, P. L. Treatment practices and quantification of antimicrobial drug usage. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 1, p. 249-261, 2007.

PHILIPPI, S. T. et al. Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. *Revista de Nutrição, Campinas*, v. 12, n. 1, p. 65-80, jan./abr. 1999.

PHILIPPI, S. T. *Nutrição e técnica dietética*. São Paulo: Manole, 2003. 228 p.

PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; FRIGGI, C. A.; MUNARETTO, J. S.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. O estado da arte na determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal empregando técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas. *Química Nova, Santa Maria*, v. 36, n. 5, p. 697-710, 2013.

REIS FILHO, J. C. et al. *Cenários para o leite e derivados na Região Nordeste em 2020*. Recife: Sebrae, 2013. 154 p.

REGULAMENTO (CE) N.º 657/2002 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 12 de agosto de 2002 que estabelece regras específicas relativa ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados aplicáveis aos gêneros alimentícios de origem animal.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; BELOTI, V. Mastite bovina e seu reflexo na qualidade do leite – revisão de literatura. *Revista Eletrônica de Educação e Ciência, Avaré*, v. 2, n. 2, p. 1-12, 2012.

RIBEIRO NETO, A. C.; BARBOSA, S. B. P.; JATOBÁ, R. B.; SILVA, A. M.; SILVA, C. X.; SILVA, M. J. A; SANTORO, K. R. Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte*, v. 64, n. 5, p. 1343-1351, 2012.

RODRIGUES, M.X. Presença de resíduos de antibióticos em leite e derivados. *Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas*, 20(2):297-308, 2013.

ROMA JÚNIOR, L.C.; MONTOYA, J.F.G.; MARTINS, T.T.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Belo Horizonte, v. 61, n. 6, p. 1411-1418, 2009.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: Atheneu; 2005.

RUYCK, H.D.; RIDDER, H.D. Determination of tetracycline antibiotics in cow's milk by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2007;21:1511-20.

SADER, H. Será o fim da era dos antibióticos. São Paulo: Conselho Regional de Medicina, 2002. Disponível em: <<http://www.cremesp.com.br/?siteAcao=Revista&id=50>>. Acesso em: 3 ago. 2015.

SANTOS, M.V. Antibióticos: como não deixar resíduos no leite. *Balde Branco*. São Paulo. v.460, n.03, p.54-57, 2003.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Mamole; Pirassununga, SP: Ed. Dos autores, 276, 2007.

SILVA, P. H. F. Leite, aspectos de composição e propriedades. *Quím. Nova na Escola*, São Paulo, n. 6, nov. 1997. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc06/quimsoc.pdf>. Acesso em: 23 set. 2009.

SPINOSA, H. S. Considerações gerais sobre os antimicrobianos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 379-385.

SUSKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technology and Biotechnology*, v. 46, p. 11-21, 2008.

TAVARES, W. Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos, 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

TOLDRÁ, F. REIG, M. Method for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal foods. Trends in Food Science & Technology, v.17, p. 482-489, 2006.

TRABULSI, L. R., ALTERTHUM, F., Microbiologia, 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

TRONCO VM (org.). Manual para inspeção da qualidade do leite. 2ª ed. Santa Maria: Ed. da UFSM; 2003.

UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. Dairy: World Markets and trade. 2013.

VALENZE, Deborah. Milk: a local and global history. New Haven: Yale University Press. 2011.

VIRGÍNIA, A. Cooperative extension. Virginia: Publication and Resources, 2009. Disponível em: <<http://pubs.ext.vt.edu/404/404-401/404-401.html>>. Acesso em: 28 dez. 2015.

WHITE, D.G.; McDERMOTT, P.F. Emergence and Transfer of Antibacterial Resistance. Journal of Dairy Science. Champaign, v.84, p. 151-155, 2001.

ZENI, M. P. et al. Influência dos microrganismos psicrotóxicos sobre a qualidade do leite refrigerado para produção de UHT. Unoesc & Ciência – ACET, Joaçaba, v. 4, n. 1, p. 61-70, 2013.

ZOCCAL, R.; CARNEIRO, A.V.; JUNQUEIRA, R. ZAMAGNO, M. A nova pecuária leiteira brasileira. In: 3º Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008. p.85-95.

## **5. ARTIGOS**

### **ARTIGO 1**

#### **OCORRÊNCIA DE MULTIRRESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE PASTEURIZADO PRODUZIDO SOB INSPEÇÃO FEDERAL NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

**(Artigo formatado para o periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia)**

1 **Ocorrência de multirresíduos de antimicrobianos no leite pasteurizado**  
2 **produzido sob inspeção federal no estado de Pernambuco**

3

4 **Antimicrobial multiresidues of occurrence in pasteurized milk produced under**  
5 **federal inspection in Pernambuco state**

6 **RESUMO**

7 Resíduos de antimicrobianos são considerados como os principais contaminantes  
8 químicos do leite, resultando em riscos para o consumidor sendo alergia, resistência  
9 bacteriana, choque anafilático em indivíduos susceptíveis os principais danos.  
10 Objetivou-se neste estudo analisar a ocorrência de resíduos de antimicrobianos das  
11 classes tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas, fluorquinolonas, trimetoprima e  $\beta$ -  
12 lactâmicos no leite produzido no Estado de Pernambuco. Foram analisadas todas as  
13 marcas com Serviço de Inspeção Federal – SIF, totalizando dezenove amostras.  
14 Utilizou-se a metodologia de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de  
15 massa (CL-MS/MS). Das amostras analisadas, 95% (18/19) apresentaram resíduos  
16 de Penicilina G em nível não quantificável. Os resultados demonstram que as amostras  
17 analisadas se enquadram dentro dos parâmetros preconizados pela legislação. É  
18 importante conscientizar os produtores de leite sobre manejo do gado sobre o período de  
19 carência entre o tratamento dos animais e o consumo do leite, além do incentivo de  
20 políticas públicas para o pagamento do leite pela qualidade, com o objetivo de prevenir  
21 os riscos à saúde humana proveniente da ingestão de medicamentos veterinários no  
22 leite.

23 **Palavras-chave:** Lácteos, inspeção de alimentos, contaminação do leite, penicilina,  
24 antimicrobianos.

25 **ABSTRACT**

26 Antimicrobial residues are considered as the main milk chemical contaminants,  
27 resulting in risks to the consumer being allergy, bacterial resistance, anaphylactic shock  
28 in susceptible individual major damages. The objective of this study was to analyze the  
29 occurrence of residues of antibiotics of the tetracycline class, sulfonamides, quinolones,  
30 fluoroquinolones, trimethoprim and  $\beta$ -lactam antibiotics in milk produced in the  
31 Pernambuco state. All brands with the Federal Inspection Service – SIF were analyzed,

32 totaling nineteen samples. The methodology liquid chromatography coupled to mass  
33 spectrometry (LC-MS / MS) was adapted. Of the samples analyzed, 95% (18/19) had  
34 penicillin G residues in unquantifiable level. The results show that the samples analyzed  
35 fall within the parameters established by the legislation. It is important to raise  
36 awareness among dairy farmers about cattle management on the shortage period  
37 between the treatment of animals and milk consumption, in addition to the incentive  
38 policies for milk payment based quality, in order to prevent health risks of human intake  
39 of veterinary drugs in milk.

40 **Keywords:** Dairy, food inspection, contamination of milk, penicillin antibiotics.

## 41 INTRODUÇÃO

42 O leite com a presença de substâncias químicas pode representar riscos para a saúde  
43 pública (Mendes et al., 2008). Estes riscos são manifestados por reações de  
44 hipersensibilidade, frequentemente associadas às penicilinas ( $\beta$ -lactâmicos) e  
45 estreptomicinas; indução de resistência bacteriana, associada às tetraciclina; lesões  
46 óticas, hepáticas e renais associadas à gentamicina, além de genotoxicidade e anemia  
47 aplásica associadas ao cloranfenicol (Lozano e Arias, 2008). Segundo Biacchi et al.  
48 (2004), a maioria da população humana está exposta a baixas doses destes  
49 contaminantes o que resulta em efeitos a longo prazo.

50 O Brasil avançou com a legislação específica para o setor criando programas que  
51 visam avaliar a exposição do consumidor aos resíduos de antibióticos em alimentos de  
52 origem animal. No entanto, a competência do país para estabelecer limites máximos de  
53 resíduos em alimentos é o Ministério da Saúde através da Agência Nacional de  
54 Vigilância Sanitária (Brasil, 2003). No caso de medicamentos veterinários, utiliza-se o  
55 Plano de Controle de Resíduo Biológico em Produtos de Origem Animal (PNCRB),  
56 Instrução Normativa/MAPA N<sup>o</sup>. 42 (Brasil, 2001).

57 Estes resíduos de antibióticos no leite são monitorados através de testes de triagem  
58 imunológicos e de inibição microbiológica, além de técnicas analíticas sensíveis e  
59 específicas para a identificação e quantificação; a técnica analítica mais utilizada é a  
60 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE (Schenck e Callery, 1998).

61 De acordo Adetunji (2011), a ocorrência de resíduos de antimicrobianos pode ser  
62 evitada quando o período de carência recomendado na bula do medicamento é seguido

63 adequadamente, assegurando que os resíduos da droga não sejam detectados nos  
64 alimentos. Contudo, a detecção de resíduos ainda é evidente tanto no leite  
65 comercializado, como em derivados lácteos. A qualidade e a segurança do alimento são  
66 uma das maiores preocupações mundiais, tanto que países e blocos comerciais têm  
67 criado legislações especiais para proteger os consumidores, que, a cada dia, desejam  
68 saber o que compram e quem, onde e como se produziu. Também buscam informações  
69 se o meio ambiente foi respeitado, se há ética na atividade geradora do produto e,  
70 sobretudo, se não há prejuízos à saúde. Essa tendência delinea um novo perfil de  
71 consumo, no qual as normas técnicas e outros mecanismos associados, com a  
72 certificação, passam a ser peça central das discussões de acesso a mercados  
73 (Milan et al., 2007).

74 Considerando a relevância do tema para a saúde pública, objetivou-  
75 se analisar a ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite sob inspeção Federal  
76 produzido em Pernambuco, Brasil.

## 77 **MATERIAL E MÉTODOS**

### 78 **Amostragem**

79 Foram analisadas todas as sete marcas de leite pasteurizado produzidos em  
80 Pernambuco com Certificação Federal, totalizando dezenove amostras de leite. As  
81 amostras foram obtidas na rede de varejo em embalagem original do mesmo lote,  
82 congeladas e posteriormente enviadas ao Laboratório Nacional Agropecuário  
83 (LANAGRO/RS) para realizar a análise Qualitativa de Multirresíduos e Quantitativa de  
84 resíduos de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos por LC-MS/MS.

### 85 **Análise Qualitativa de Multirresíduos por LC- MS/MS**

86 As análises foram realizadas conforme procedimento descrito no Método de  
87 triagem para detecção qualitativa de resíduos de sulfonamidas, tetraciclinas, quinolonas,  
88 fluorquinolonas e trimetoprima, empregando o LC-MS/MS que é o método validado  
89 para amostras de leite e creditado pelo INMETRO (LANAGRO-RS/MET RPM 10 02,  
90 2012). Os resultados destas análises podem apresentar resultados positivos ou negativos  
91 para cada um dos analitos dos grupos de antibióticos em questão. Os resultados  
92 negativos significam amostras com ausência do analito ou em quantidade inferior à  
93 capacidade de detecção (CC $\beta$ ). Os resultados positivos significam amostras com  
94 concentração do analito acima do CC $\beta$ ; estas devem ser analisadas em metodologia

95 confirmatória específica para cada classe de substância. Os valores de  $CC\beta$  apresentam  
96 os níveis de fortificação onde os procedimentos desta metodologia apresentam um  
97 número de falsos negativos inferiores a 5% (LANAGRO-RS/MET RPM 10 02, 2012).

98 Para detecção e quantificação de resíduos de antimicrobianos das seis classes de  
99  $\beta$ -lactâmicos (ceftiofur, penicilina G, penicilina V, oxalina, cloxacilina e dicloxacilina),  
100 empregou-se o método LC-MS/MS, método validado por Jank et al. (2012).

101 A metodologia LC-MS/MS foi desenvolvida em um Cromatógrafo Líquido de  
102 Alta Eficiência (CLAE AGILENT, série 1100), acoplado a um espectrômetro de massa  
103 API 5000 triplo quadruplo. A separação cromatográfica dos compostos foi realizada  
104 utilizando-se uma coluna de CLAE C18 Synergy, precedido de uma pré-coluna de C18.  
105 A ionização por electrospray (ESI) foi utilizada para detecção e quantificação dos  
106 antibióticos específicos (JANK, 2012).

107 O preparo das soluções e extração das amostras seguiu a metodologia validada  
108 pelo INMETRO (LANAGRO-RS/MET RPM 10 02, 2012). Os dados foram  
109 processados na versão do Software Analyst 1.4.2 (Applied Biosystems) e para a análise  
110 dos dados utilizou-se estatística descritiva por meio das frequências relativas e  
111 absolutas.

## 112 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

113 Das dezenove amostras analisadas, 95% (18/19) apresentou resíduo de penicilina  
114 G em nível não quantificável. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que existe  
115 baixa frequência de amostras de leite pasteurizado sob Inspeção Federal, contaminadas  
116 e baixa concentração de resíduos de antimicrobianos. Apesar disto, esses resultados  
117 podem não refletir a realidade das amostras nas propriedades de origem, pois as  
118 amostras de leite analisadas podem estar diluídas com o leite de outras propriedades e  
119 assim reduzir os resíduos na amostra final.

120 Sobre a presença de resíduos de antibióticos no leite, Costa (1996) e  
121 Albuquerque et al. (1996) afirmam que isto pode ocasionar uma série de problemas  
122 como a seleção de cepas bacterianas resistentes no ambiente. É comum o aumento  
123 gradativo das dosagens de antibióticos utilizadas na terapia dos animais, possibilitando  
124 a seleção de bactérias resistentes, principalmente quando seu uso é indiscriminado. De

125 acordo com os autores, a ingestão de resíduos de antibióticos nos alimentos supõe risco  
126 para a saúde humana, seja exercendo pressão seletiva sobre a flora intestinal,  
127 favorecendo o crescimento de microrganismos com resistência natural ou adquirida, ou  
128 dando lugar, direta ou indiretamente para o aparecimento de resistência em bactérias  
129 enteropatogênicas. Além disto, a hipersensibilidade à penicilina é observada em até  
130 10% da população mundial. Desta forma, pesquisas desta natureza que avaliam os  
131 efeitos de baixas doses em longo prazo representam uma demanda atual. A demanda  
132 também existe quanto à magnitude do impacto da ingestão dos resíduos na saúde  
133 pública, pois este ainda não está totalmente elucidado.

134 Ainda sobre a crescente resistência microbiana às drogas em bactérias  
135 patogênicas humanas, estudos realizados por Cohen (1992), Neu (1992) e Wey (1996)  
136 indicam que esta resistência é principalmente causada pelo uso inadequado e  
137 indiscriminado de antibióticos. Como consequência, tanto as drogas consideradas  
138 clássicas na terapia como aquelas de introdução recente no comércio, vêm se tornando  
139 ineficientes. Neste sentido, este quadro tende a se agravar, principalmente nos casos de  
140 patógenos que infectam os animais e humanos.

141 Diversos pesquisadores em diversas regiões do Brasil avaliaram a ocorrência de  
142 resíduos de antibióticos, empregando diferentes métodos de detecção e têm  
143 demonstrado a presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite. Em Goiás  
144 foi detectada a presença de resíduos de antimicrobianos em 9,95% das amostras de  
145 leite pasteurizado integral e padronizado, utilizando um protocolo de  
146 inibição microbiana (Borges et al., 2000). No estado de São Paulo, em uma cooperativa  
147 na região do Vale do Paraíba, 100% das amostras de leite pasteurizado tipo B e 80% do  
148 tipo C estavam contaminados por resíduos de antibióticos (Biacchi et al., 2004).

149 Os resultados encontrados neste estudo superam ligeiramente os encontrados por  
150 Mello Filho (1969) e Silva & Sena (1984) que obtiveram respectivamente, 2,0% e 4,0%  
151 das amostras de leite com resíduos de antibióticos. Porém estão abaixo daqueles obtidos  
152 por Albuquerque et al. (1996) e Nascimento et al. (2001) que encontraram 69,7% e  
153 50%, respectivamente das amostras com substâncias antimicrobianas. Estes últimos  
154 dados demonstram que o problema com resíduos de antimicrobianos no leite já foi um  
155 problema mais sério em algumas regiões do país e que atualmente os antibióticos apesar

156 de ser muito utilizados na produção animal, muitas vezes de forma inadequada, talvez  
157 esteja ocorrendo uma maior consciência na obediência do período de carência em  
158 algumas regiões. Sobre este tema, Nascimento et al. (2001) discutiram que na época da  
159 colheita das amostras no estudo realizado em Piracicaba, São Paulo, não deveria estar  
160 ocorrendo a obediência no período de carência de 72 horas, em muitos casos após a  
161 administração da última dose do medicamento no animal, como recomendada pela  
162 SIPA (Melo Filho, 1969). A presença de resíduos no leite é atribuída ao uso inadequado  
163 de antibióticos e/ou o descumprimento do tempo de carência indicado após a última  
164 aplicação do medicamento no animal, antes de realizar a ordenha e destinar o leite  
165 ao consumo humano (Borges et al., 2000).

166 Também é importante destacar que o emprego de métodos de análises sensíveis  
167 e específicos pode interferir nos resultados das análises. Liu et al. (2011) analisaram por  
168 métodos cromatográficos, 40 amostras de leite coletadas em supermercados na China e  
169 os resultados demonstraram que 20% das amostras continham resíduos de beta  
170 lactâmicos. Em Taiwan, o resultado de 17 amostras de leite analisadas por  
171 cromatografia e comercializadas em supermercados indicou a presença de resíduos de  
172 lincosamidas em apenas uma amostra (Tang et al., 2012). Uma das vantagens dos  
173 métodos cromatográficos sobre os kits comerciais é a capacidade de identificar os  
174 compostos individualmente, sendo estes os métodos analíticos mais específicos e  
175 seletivos e indicados pelo Ministério da Agricultura do Brasil.

176 Um estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro para verificar a ocorrência de  
177 resíduos de tetraciclinas em leites pasteurizados entre outubro/2009 a março/2010,  
178 utilizando cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massa encontraram  
179 14/100 das amostras contaminadas com resíduos de oxitetraciclina e uma amostra com  
180 tetraciclina, porém nenhuma delas apresentou concentrações acima do LMR  
181 (Spisso et al., 2010); a ocorrência de resíduos abaixo do Limite Máximo de Resíduo é  
182 frequente e também põe em risco a saúde do consumidor. De acordo com Rodrigues  
183 (2013), estes riscos devem ser considerados com cautela, pois os efeitos da ingestão  
184 destes contaminantes podem ser graves e alguns efeitos ainda não estão totalmente  
185 esclarecidos, reforçando a necessidade de estudos com experimentos e/ou  
186 acompanhamentos em logo prazo.

187 De acordo com Vieira et al. (2012), o processo de pasteurização não degrada  
188 esses resíduos e o consumo de produtos contendo essas substâncias são extremamente  
189 importantes, pois o consumo de leite contendo resíduos de tetraciclinas por gestantes as  
190 tornam mais vulneráveis às alterações no desenvolvimento ósseo fetal (COSTA,1996).

## 191 **CONCLUSÃO**

192 Os resultados demonstram que as amostras analisadas se enquadram dentro dos  
193 parâmetros preconizados pela legislação. É importante conscientizar os produtores de  
194 leite sobre manejo do gado a respeito do período de carência entre o tratamento dos  
195 animais e a obtenção do leite para consumo, além do incentivo de políticas públicas  
196 para o pagamento do leite pela qualidade, com o objetivo de prevenir os riscos à saúde  
197 humana proveniente da ingestão de medicamentos veterinários no leite.

## 198 **REFERÊNCIAS**

199 ADETUNJI, V.O. Effects of processing on antibiotic residues (Streptomycin, Penicillin-  
200 G and Tetracycline) in soft cheese and yoghurt processing  
201 lines. Pakistan Journal of Nutrition. v.10, n.8, p.792-795, 2011.

202 ALBUQUERQUE, L.M.B.; MELO, V.M.M.; MARTINS, S.C.S. Investigações sobre a  
203 presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza-CE-  
204 Brasil. Revista Higene Alimentar, São Paulo, v.10, n.41, p.29-32, 1996.

205 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 4. Aprova o  
206 Regulamento Técnico Glossário de Termos e Definições para Resíduos de  
207 Medicamentos Veterinários. Diário Oficial da União 2001; 5 jan.

208 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº  
209 27. Adota o Regulamento Técnico Mercosul sobre critérios para definição de  
210 prioridades aos Programas de Controle de Resíduos de Drogas Veterinárias em Produtos  
211 de Origem Animal destinados ao consumo humano. Diário Oficial da União 2003; 30  
212 jun.

213 BIACCHI, N.C.; JORGE, A.O.C.; UENO, M. Detecção de resíduos antibióticos em  
214 leite bovino na região do Vale do Paraíba, São Paulo. Revista Biociências, Taubaté,  
215 v.10, n. 1-2, p. 47-49, 2004.

- 216 BORGES, G.T.; SANTANA, A.P.; MESQUITA, A.J. et al. Ocorrência de resíduos de  
217 antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no  
218 estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, v. 1, n. 1, p. 59-63, 2000.
- 219 COHEN, M.L. Epidemiology of drug resistance: implications for a post anti-microbial  
220 era. *Science*, Washington DC, v.257, n.5073, p.1050-1055, 1992.
- 221 COSTA, E.O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor.  
222 *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.10, n. 44, p. 15-17, 1996.
- 223 LANAGRO – RS. Laboratório Nacional Agropecuário – Rio Grande do Sul/Laboratório  
224 de Análise de Resíduos de Pesticidas e Medicamentos Veterinários/ Ministério da  
225 Agricultura Pecuária e Abastecimento. Método de Ensaio. 15p, 2012.
- 226 LIU, C.; WNAG, H.; JIANG, Y.; DU, Z. Rapid and simultaneous determination of  
227 amoxicillin, penicillin G, and their major metabolites in bovine milk by ultra-high-  
228 performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of*  
229 *Chromatography B*, Amsterdam, v. 879, p. 533-540, 2011.
- 230 LOZANO, M.C.; ARIAS, D.C. Resíduos de fármacos en alimentos de origen animal:  
231 panorama actual em Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, Colombia,  
232 v. 21, n.1, p. 121-135, 2008.
- 233 MELO FILHO, A. Penicilina no leite de consumo na cidade de São Paulo e riscos de  
234 sensibilização. *Revista Paulista de Medicina*, São Paulo, v.75, p.21-34, 1969.
- 235 MENDES, C.G.; SAKAMOTO, S.M.; SILVA, J.B.A.; LEITE, A.Í. Pesquisa de  
236 resíduos de beta-lactâmicos comercializado clandestinamente no município de Mossoró,  
237 RN, utilizando o delvotest sp. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 75, n. 1, p.  
238 95-98, 2008.
- 239 MILAN, M.; ZEN, S.DE; MIRANDA, S.H.G. et al. Sistema de Qualidade nas Cadeias  
240 Agroindustriais. São Paulo, 2007. 208p.

- 241 NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de  
242 antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. Revista de  
243 Nutrição, Campinas, v. 14, n. 2, p. 119-124, Ago. 2001.
- 244 NEU, H.C. The crisis in antibiotic resistance. Science, Washington DC, v.257, p.1064-  
245 1077, 1992.
- 246 RODRIGUES, M. X. Presença de resíduos de antibióticos em leites e derivados.  
247 Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, v.20, n.2, p.297-308, 2013.
- 248 SCHENCK, F.J.; CALLERY, P.S. Chromatographic methods of analysis of antibiotics  
249 in milk. Journal of Chromatography A, Amsterdam, v.812, p. 99-109, 1998.
- 250 SILVA, T.J.P.; SENA, M.C. Prevalência de antibióticos no leite pasteurizado tipo B e  
251 Especial 3,2% de gordura consumidos em Belo Horizonte: 1982-83. Revista Instituto de  
252 Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v.39, n.235, p.7-12, 1984.
- 253 SPISSO, B.F.; MONTEIRO, M.A; PEREIRA, M. U. et al. 2010. Pilot survey of  
254 commercial pasteurized milk consumed in the metropolitan area of Rio de Janeiro,  
255 Brazil, for tetracyclines residues, including the 4-epimers of oxytetracycline, tetracycline  
256 and chlortetracycline. Food Additives & Contaminants (Part B Surveillance), p.220-  
257 227.
- 258 TANG, Y. Y.; LU, H.F.; LIN, H.Y. et al. Multiclass analysis of 23 veterinary drugs in  
259 milk by ultraperformance liquid chromatography-electrospray tandem mass  
260 spectrometry. Journal of Chromatography B, Amsterdam, n. 881/882, p. 12-19, 2012.
- 261 VIEIRA, T.S.W.J.; RIBEIRO, M.R.; NUNES, M.P.N. et al. Detecção de resíduos de  
262 antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. Semina:  
263 Ciências Agrárias. v. 33, n. 2, p. 791-796, 2012.
- 264 WEY, S.B. Bactérias multi-resistentes: podemos minimizar este problema? Anais do  
265 1º Encontro de Doenças Infecciosas Adquiridas na Comunidade e no Ambiente  
266 Hospitalar. Arquivos Brasileiro de Medicina, Rio de Janeiro, v.70

## **ARTIGO 2**

**OCORRÊNCIA DE MULTIRRESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE PASTEURIZADO SOB FISCALIZAÇÃO ESTADUAL E CRU NO PERÍODO SECO E CHUVOSO NO AGRESTE PERNAMBUCANO**

**(Artigo formatado para o periódico Arquivos do Instituto Biológico)**

1 **Ocorrência de multirresíduos de antimicrobianos em leite pasteurizado sob fiscalização estadual**  
2 **e cru no período seco e chuvoso no Agreste Pernambucano**

3 **Occurrence of antimicrobial multiresidues in pasteurized milk and raw under state supervision**  
4 **in the dry and rainy season in the Agreste Pernambuco**

## 5 **RESUMO**

6 Os antimicrobianos são empregados na medicina veterinária para prevenção e tratamento de  
7 infecções em animais. O uso disseminado desses fármacos na prática leiteira pode acarretar na  
8 presença de seus resíduos no leite, representando riscos à saúde do consumidor. Objetivou-  
9 se neste estudo avaliar a ocorrência de resíduos de  
10 antimicrobianos (tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas, fluorquinolonas, trimetoprima e  $\beta$ -  
11 lactâmicos) no leite pasteurizado sob fiscalização estadual no de Pernambuco nos períodos  
12 seco (2013) e chuvoso (2015) e leite cru sem fiscalização no período chuvoso. Foram  
13 analisadas as quatro marcas com três repetições, totalizando 12 amostras com certificação  
14 Estadual e 45 amostras de leite cru sem fiscalização. Para a pesquisa de resíduos utilizou-se a  
15 metodologia de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (CL-MS/MS). No  
16 período seco foram detectados resíduos de oxitetraciclina em valores inferiores ao Limite  
17 Máximo de Resíduos, considerado positivo, mas não adulterado e no período chuvoso não  
18 houve violação em nenhuma amostra analisada. Os resultados obtidos permitem concluir que  
19 as amostras analisadas nos diferentes períodos do ano estão de acordo com a Legislação  
20 vigente, contudo é necessário o contínuo gerenciamento do risco quanto à presença de  
21 resíduos de antimicrobianos no leite, pois é imprescindível para a elaboração de estratégias de  
22 mitigação de risco, garantindo o consumo de leite inócuo.

23 **Palavras-chave:** resíduos de antimicrobianos, leite, cromatografia líquida.

## 24 **ABSTRACT**

25 The antimicrobial agents are used in veterinary medicine for prevention and treatment of  
26 animal infections. The widespread use of these drugs in dairy practice may result in the  
27 presence of their residues in milk, representing risks to consumer health. The aim of this study  
28 was to evaluate the occurrence of antimicrobial residues of tetracycline classes, sulfonamides,  
29 quinolones, fluoroquinolones and  $\beta$ -Lactam in pasteurized milk under State Supervision in  
30 Pernambuco during the dry (November 2013) and rainy (July 2015) seasons and raw milk  
31 without supervision during the rainy season. Four marks in three replicates (12 samples), were  
32 analyzed with certification from the State Inspection Service, and 45 samples of raw milk

33 without supervision. For the residues evaluation the liquid chromatography method was used  
34 coupled to mass spectrometry in tandem mode (LC-MS / MS). In the dry season  
35 oxytetracycline residues were detected in values below the Maximum Residue Limit,  
36 considered positive, but not tampered, and there was no violation in the rainy season for any  
37 sample. The risk management for the presence of these substances in milk is essential for the  
38 development of risk mitigation strategies, ensuring the consumption of innocuous milk.

39 **Keywords:** antimicrobial residues, milk, liquid chromatography

## 40 INTRODUÇÃO

41 A utilização de medicamentos na medicina veterinária para promover o crescimento,  
42 controlar pragas, tratar e prevenir as enfermidades do gado leiteiro podem deixar resíduos  
43 potencialmente perigosos no leite e seus derivados, quando os mesmos são administrados de  
44 forma indevida, sem respeitar as indicações dos receituários e os períodos de carência  
45 (Fonseca; Santos, 2000). Tais compostos tem seu efeito ainda mais potencializado, causando  
46 preocupação para a saúde pública, pelo fato de os processos industriais que envolvem  
47 pasteurização, fervura e esterilização do leite não conseguirem eliminar os resíduos destes  
48 medicamentos (Brito; Lange, 2000).

49 Os compostos mais frequentemente encontrados no leite compreendem uma variedade  
50 de classes químicas com ações terapêuticas diversas, incluindo antibiótica/antimicrobiana ( $\beta$ -  
51 lactâmicos, aminoglicosídeos e tetraciclinas), antiparasitária (avermectinas, piretróides e  
52 organofosforados), inseticida, fungicida e sedativa (Andrée et al., 2010). Segundo Costa  
53 (2006), a presença de resíduos de antibióticos representa a principal contaminação química  
54 em leite e está diretamente relacionada ao tratamento de mastite.

55 Entre os vários fatores que podem favorecer a ocorrência de mastite estão os fatores  
56 climáticos como temperatura e pluviosidade, sujidade de úbere e esfíncter de teto. Em épocas  
57 de chuvas, a incidência de mastite aumenta. É justamente neste período que ocorre a produção  
58 de lama, com conseqüente aumento de matéria orgânica, o que aumenta a possibilidade de  
59 contaminação e infecção da glândula mamária. O aumento do calor e da umidade também  
60 contribui para a ocorrência de mastite ambiental, causada por bactérias presentes no ambiente,  
61 particularmente no ambiente da pré e pós ordenha, pela presença de lama, terra e dejetos  
62 (Domingues et al., 2008).

63 A presença de resíduos no leite, acima dos limites aceitáveis estabelecido, indica que o  
64 produto não foi utilizado segundo as boas práticas de uso de medicamentos veterinários

65 (BPMV), ou o uso de um produto não autorizado (Kennedy et al., 2000). O Brasil não  
66 estabelece LMR para medicamentos veterinários, adotando aqueles recomendados pelo  
67 Mercosul, *Codex Alimentarius*, União Européia ou Estados Unidos (Anvisa, 2009).

68 A presença de resíduos de antimicrobianos no leite, em indústrias de laticínios, pode  
69 causar inibição da flora bacteriana como a interferência das características organolépticas e  
70 tecnológicas dos produtos lácteos, gerando perdas econômicas consideráveis. Já no âmbito da  
71 saúde pública, a presença de tais resíduos podem promover reações de hipersensibilidade,  
72 alergia, resistência à antibioticoterapia, ação carcinogênica ou mutagênica, além de resistência  
73 bacteriana (Beltrane; Machinski Júnior, 2005).

74 Objetivou-se neste estudo avaliar a ocorrência de multirresíduos de antimicrobianos  
75 das classes das tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas, fluorquinonas e  $\beta$ -lactâmicos no leite  
76 pasteurizado sob fiscalização estadual em período seco e chuvoso e no leite cru sem  
77 fiscalização no período chuvoso, ambos produzidos no estado de Pernambuco.

## 78 MATERIAL E MÉTODOS

### 79 Amostragem

80 Inicialmente foram analisadas todas as dezenove marcas (três repetições do mesmo  
81 lote/ 57 amostras) de leite pasteurizado produzidas em três mesorregiões (Central, Meridional  
82 e Setentrional) do Agreste Pernambucano no período seco do ano de 2013. Em um segundo  
83 momento foram analisadas todas as quatro marcas (três repetições do mesmo lote/ 12  
84 amostras) de leite pasteurizado no período chuvoso de 2015, nas mesorregiões do Agreste  
85 Central e Meridional.

86 Para o leite cru foram analisadas 45 amostras. As amostras do leite cru foram  
87 coletadas em nove fazendas na região agreste (Central, Meridional e Setentrional) com  
88 diferentes tipos de ordenha (manual mecânica, circuito fechado e “balde ao pé”). As colheitas  
89 foram realizadas durante a ordenha da tarde, escolhendo aleatoriamente cinco animais.  
90 Coletou-se um volume de 50 mL que foram acondicionadas em frascos e identificados e  
91 refrigerados. Posteriormente todas as amostras foram congeladas e enviadas ao Laboratório  
92 Nacional Agropecuário (LANAGRO/RS), Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas e  
93 Medicamentos Veterinários. Para a pesquisa de resíduos de antimicrobianos, empregou-se  
94 a técnica de cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas (CL-MS/MS).

### 95 Análise Qualitativa de Multirresíduos por LC- MS/MS

96 As análises foram realizadas conforme procedimento descrito no Método de triagem  
97 para detecção qualitativa de resíduos de sulfonamidas, tetraciclina, quinolonas,

98 fluorquinolonas e trimetoprima, empregando o LC-MS/MS que é o método validado para  
99 amostras de leite e creditado pelo INMETRO (LANAGRO-RS/MET RPM 10 02, 2012). Os  
100 resultados destas análises podem apresentar resultados positivos ou negativos para cada um  
101 dos analitos dos grupos de antibióticos em questão. Os resultados negativos significam  
102 amostras com ausência do analito ou em quantidade inferior à capacidade de detecção (CC $\beta$ ).  
103 Os resultados positivos significam amostras com concentração do analito acima do CC $\beta$ ; estas  
104 devem ser analisadas em metodologia confirmatória específica para cada classe de substância.  
105 Os valores de CC $\beta$  apresentam os níveis de fortificação onde os procedimentos desta  
106 metodologia apresentam um número de falsos negativos inferiores a 5% (LANAGRO-  
107 RS/MET RPM 10 02, 2012).

108 Para detecção e quantificação de resíduos de antimicrobianos das seis classes de  $\beta$ -  
109 lactâmicos (ceftiofur, penicilina G, penicilina V, oxalina, cloxacilina e dicloxacilina),  
110 empregou-se o método LC-MS/MS, método validado por Jank et al. (2012).

111 A metodologia LC-MS/MS foi desenvolvida em um Cromatógrafo Líquido de Alta  
112 Eficiência (CLAE AGILENT, série 1100), acoplado a um espectrômetro de massa API 5000  
113 triplo quadruplo. A separação cromatográfica dos compostos foi realizada utilizando-se uma  
114 coluna de CLAE C18 Synergy, precedido de uma pré-coluna de C18. A ionização por  
115 electrospray (ESI) foi utilizada para detecção e quantificação dos antibióticos específicos  
116 (JANK, 2012).

117 O preparo das soluções e extração das amostras seguiu a metodologia validada pelo  
118 INMETRO (LANAGRO-RS/MET RPM 10 02, 2012). Os dados foram processados na  
119 versão do Software Analyst 1.4.2 (Applied Biosystems) e para a análise dos dados utilizou-se  
120 estatística descritiva por meio das frequências relativas e absolutas.

## 121 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

122 Resíduos de oxitetraciclina foram encontrados em uma amostra de leite pasteurizado  
123 sob fiscalização estadual no período seco do ano de 2013, com valores inferiores ao Limite  
124 Máximo de Resíduos. De acordo com Denobile (2002), embora os níveis aceitáveis de  
125 resíduos de antimicrobianos no leite sejam inferiores ao limite mínimo necessário para  
126 produzir reações alérgicas agudas, não sabe se a exposição frequente às baixas concentrações  
127 de tais medicamentos pode causar efeitos nocivos ao consumidor. Ainda, de acordo com  
128 Biacchi (2004), a maioria da população humana está frequentemente exposta às baixas doses

129 desse tipo de resíduo, o que pode ter efeitos graves em longo prazo. Mattos et al. (2010)  
130 também encontraram resultados semelhantes no Agreste de Pernambuco, onde detectaram a  
131 presença de antimicrobianos em apenas uma amostra de leite pasteurizado (1,89%).  
132 Entretanto, não pode ser descartado o efeito da diluição que ocorre após a mistura do leite  
133 isento de resíduos de antibiótico com o leite contaminado, o que pode refletir a realidade  
134 encontrada em Pernambuco (VALENÇA, 2013).

135 As amostras de leite pasteurizado e cru analisadas no período chuvoso não  
136 apresentaram violação quanto aos resíduos de antimicrobianos analisados, indicando que não  
137 possuem os analitos pesquisados em valores acima do LMR. Valença (2013) também não  
138 encontrou resíduos de antimicrobianos em amostras de leite pasteurizado na região Agreste de  
139 Pernambuco no ano de 2012. De acordo com Andrew et al. (2009), se a aplicação de  
140 antibióticos ocorrer apenas no período em que a vaca não está produzindo leite e for  
141 respeitado o período de carência indicado pelo fabricante quando utilizados em vacas em  
142 lactação, será baixo o risco de contaminação de resíduos de antibióticos para o leite, isto  
143 indica que as Boas Práticas produção de leite estão sendo respeitadas. Neste estudo também  
144 não foi observada relação direta dos fatores pluviométricos com a ocorrência de resíduos de  
145 antibióticos.

146 A ocorrência de resíduos de antibióticos no leite está associada ao tratamento das  
147 mastites e entre os vários fatores que podem favorecer a ocorrência desta enfermidade estão  
148 os climáticos como temperatura, alta pluviosidade, sujidade do úbere e esfíncter de teto. Em  
149 época de chuva, a incidência de mastite aumenta. O aumento do calor e da umidade também  
150 contribui para a ocorrência de mastite ambiental, causada por bactérias presentes no ambiente,  
151 particularmente no ambiente da pré e pós ordenha pela presença de lama, terra e dejetos  
152 (DOMINGUES et al., 2008). Neste período poderia se esperar uma maior contaminação do  
153 leite por resíduos de antimicrobianos o que não foi observado neste estudo. Isto  
154 provavelmente ocorreu, pois apesar de as amostras serem coletadas no período considerado  
155 chuvoso nesta região, o Estado está passando por um período prolongado de seca que já dura  
156 mais de três anos. De acordo com a Agência Pernambucana de Águas e Clima (2015),  
157 genericamente, existem duas estações no ano, a chuvosa e a seca, justamente por haver apenas  
158 estes dois tipos de variabilidade de clima, e não se observar mudanças relevantes de  
159 temperatura ou de outras variáveis meteorológicas ao longo do ano.

160 Os meses que antecederam a coleta das amostras de leite classificam-se como “muito  
161 seco” no Agreste Meridional e “seco” a “normal” no Agreste Central, conforme as

162 precipitações divulgadas nas referidas regiões pela APAC. As baixas precipitações  
163 pluviométricas registradas neste período concorreram para reduzir os episódios de alagamento  
164 nos pastos e assim diminuir a exposição do gado leiteiro a infecção do úbere e os casos de  
165 mastite. Exceção deve ser feita para o mês de junho de 2015 no Agreste Central, classificado  
166 como chuvoso. Mesmo assim, tais chuvas não interferiram na ocorrência de resíduos nas  
167 amostras analisadas. Outro fator importante é que a pluviosidade apresentou uma distribuição  
168 atípica durante o período do estudo e foi menor que a esperada no período chuvoso.

169 Os resultados verificados neste trabalho estão em conformidade com os resultados  
170 reportados pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes - PNCRC que  
171 indica a baixa detecção de resíduos de antimicrobianos nas amostras analisadas nos últimos  
172 anos (SILVA, 2009; BRASIL, 2010; BRASIL 2011b).

### 173 **CONCLUSÃO**

174 Os resultados obtidos permitem concluir que as amostras analisadas nos diferentes  
175 períodos do ano estão de acordo com a Legislação vigente, contudo é necessário o contínuo  
176 gerenciamento do risco quanto à presença de resíduos de antimicrobianos no leite, pois é  
177 imprescindível para a elaboração de estratégias de mitigação de risco, garantindo o consumo  
178 de leite inócuo.

### 179 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

180 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Relatório PAMVet, 2009. Disponível  
181 em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br), acesso em Setembro 2015.

182 Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC), Dados Meteorológicos, 2015. Disponível  
183 em: [www.apac.pe.gov.br](http://www.apac.pe.gov.br), acesso em Dezembro 2015.

184 ANDRÉE, S. JIRA, W.; SCHWIND, K. H.; WAGNER H.; SCHWÄGELE, F.; Meat Science  
185 2010, 86, 38.

186 ANDREW S.M.; MOYES, K.M.; BORM, A.A.; FOX, L.K.; LESLIE, K.E.; HOGAN, J.S.;  
187 OLIVER, Y.H.; SCHUKKEN, W.E.; OWENS, W.E.; NORMAN, C. Factors associated with  
188 the risk of antibiotic residues and intramammary pathogen presence in milk from heifers  
189 administered prepartum intramammary antibiotic therapy. Vet Microbiol. 2009;134(1-2):150-  
190 6.

- 191 BELTRANE, M.A.; MACHINSKI JÚNIOR, M. Principais riscos químicos no leite: um  
192 problema de Saúde Pública. *ArqCiênc Saúde Unipar*. 2005;9(2):141-45.
- 193 BIACCHI, N.C; JORGE, A.O.C; UENO, M. Detecção de resíduos antibióticos em leite  
194 bovino na região do Vale do Paraíba, São Paulo. *Revista Biociências*. 2004;10(1-2):47-9.
- 195 BRASIL. Instrução Normativa nº 06, de 16 de março de 2010. Publica Resultados do  
196 Acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes  
197 (Bovina, Suína, Aves, Equina), Leite, Ovos, Mel e Pescado, do exercício de 2009, na forma  
198 dos anexos à presente Instrução Normativa, em conformidade com a Instrução Normativa  
199 n.14, de 25 de maio de 2009. In: BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e  
200 Abastecimento. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 de março de 2010*.
- 201 BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento  
202 Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, o Regulamento Técnico de  
203 Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e  
204 Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado  
205 e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da União, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 6*.
- 206 BRITO, M.A.V.P.; LANGE, C.C. Resíduos de antibióticos em leite. *Juiz de Fora: Embrapa*  
207 *Gado de Leite; 2000*.
- 208 COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.;  
209 BERNARDI, M. M. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 4 ed. Rio de Janeiro:  
210 Guanabara Koogan, 2006. p. 501-515.
- 211 DENOBILO, M. Análise de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina,  
212 cortetetraciclina e doxiciclina, em leite por cromatografia líquida de alta eficiência. 2002. 121 p.  
213 *Dissertação (Mestrado) – Faculdade de ciências farmacêuticas , USP*.
- 214 DOMINGUES, P.F.; FERREIRA, B.L.S.; GALDINO, M.C. et al. Mastite em bezerra por  
215 *Arcanobacterium pyogenes* - Relato de Caso. *Rev. Vet. Zootec.*, v.15, p.257-262, 2008.
- 216 FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. São Paulo:  
217 Lemos Editorial; 2000.
- 218 KENNEDY, D. G.; Cannavan, A.; McCracken, R. J.; *J. Chromatogr.A*. 2000, 882, 37.

- 219 MATTOS, M. R. DE; BELOTI, V.; TAMANINI, R. et al. Qualidade do leite cru produzido  
220 na região do agreste de Pernambuco, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 1,  
221 p. 173-182, jan./mar. 2010.
- 222 SILVA, T.S. Abordagem crítica sobre o Programa Nacional de Controle de Resíduos e  
223 Contaminantes em Leite com ênfase em antibióticos. 2009. 39f. Seminário (mestrado em  
224 Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.
- 225 VALENÇA, L.M. Qualidade do leite cru produzido no Agreste de Pernambuco. 2013. 68 p.  
226 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um dos requisitos atuais da sociedade é a disponibilidade de alimentos seguros, saudáveis e nutritivos. As pesquisas para que tais demandas sejam atendidas é compromisso imprescindível dos segmentos e órgãos de fiscalização federal, estadual e municipal, além das instituições públicas e privadas que constituem a cadeia produtiva do leite no país.

O objetivo central deste trabalho de realizar um estudo sobre multirresíduos de antimicrobianos no leite pasteurizado e cru produzido no estado de Pernambuco foi concluído satisfatoriamente. Os resultados obtidos demonstram que, de forma geral, as amostras de leite sob Inspeção Federal, Estadual e leite cru sem fiscalização se enquadram dentro dos parâmetros preconizados pela legislação, entretanto, o gerenciamento do risco quanto à presença dessas substâncias no leite é imprescindível para a elaboração de estratégias de mitigação de riscos, garantindo o consumo de leite inócuo para população.

Este trabalho é pioneiro nesta região do país no que se refere à pesquisa de multirresíduos em todas as marcas de leite pasteurizado produzido em Pernambuco. Os resultados aqui apresentados poderão contribuir para ações de políticas públicas, aumentar a eficiência das indústrias privadas, visando intensificar o crescimento da cadeia produtiva do leite no Estado de Pernambuco.

## APÊNDICE

### **Caracterização das certificações das usinas de beneficiamento de leite pasteurizado sob Fiscalização Estadual e Federal no estado de Pernambuco**

**RESUMO:** Objetivou-se neste estudo gerar dados sobre a caracterização das certificações das usinas de beneficiamento de leite pasteurizado no Estado de Pernambuco, Brasil. Utilizou-se, como base, entrevista semiestruturada contendo dados relacionados ao número de indústrias certificadas pelos Órgãos de Fiscalização Estadual (ADAGRO) e Federal (MAPA) nos anos de 2012, 2013, 2014 e 2015. Das 26 indústrias certificadas no ano base de 2012, 50,0% (13/26) estavam localizadas na região Agreste; 15,4% (4/26) no Sertão e 34,6% (9/26) na Zona da Mata. Verifica-se pronunciada e ampla redução de indústrias certificadas no triênio 2013- 2015. Devido à possibilidade de migração de certificação, sugere-se o monitoramento periódico das indústrias, devido à importância econômica e na saúde pública.

## INTRODUÇÃO

Os gêneros alimentícios de origem animal podem apresentar riscos específicos para a saúde humana. Essas regras contêm princípios comuns relacionados em particular com as responsabilidades dos fabricantes e das autoridades competentes, com os requisitos estruturais, operacionais e de higiene que devem ser cumpridos nos estabelecimentos, com os processos de aprovação dos estabelecimentos e com as condições de armazenagem e transporte e a marcação de salubridade dos produtos (CE, 2004).

A fiscalização e análise do leite nas fábricas são feitas por técnicos do Ministério da Agricultura e das secretarias estaduais, por meio do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e do Serviço de Inspeção Estadual (SIE). A competência para tal está prevista na letra “a” do art. 4º da L 1.280/1950. A ANVISA atua na fiscalização do produto no comércio, "nas casas

atacadistas e nos estabelecimentos varejistas", conforme letra "d" do art. 4º da L 1.280/1950, investigando a presença ou não de desvio de qualidade. Sua atuação se concretiza, na prática, pela apreensão e liberação dos lotes dos produtos disponibilizados pelos fabricantes para venda no comércio. Agravo de instrumento provido para cassar a decisão que determina a ANVISA trazer aos autos relatório de fiscalização efetiva das empresas produtoras de leite e derivados (ANVISA, 2014).

As atividades executadas pelo Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SIPOA) têm por objetivo o controle higiênico-sanitário dos produtos de origem animal, visando proteção à saúde dos consumidores pela oferta de produtos que atendam aos requisitos de inocuidade e qualidade (Brasil, 2012).

A qualidade e a segurança do alimento são uma das maiores preocupações mundiais, tanto que países e blocos comerciais têm criado legislações especiais para proteger os consumidores, que, a cada dia, desejam saber a qualidade do que compram e quem, onde e como se produziu. Também, buscam informações se o meio ambiente foi respeitado, se há ética na atividade geradora do produto e, sobretudo, se não há prejuízos à saúde. Essa tendência delinea um novo perfil de consumo, no qual as normas técnicas e outros mecanismos associados, com a certificação, passam a ser peça central das discussões de acesso a mercados (Milan et al., 2007).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

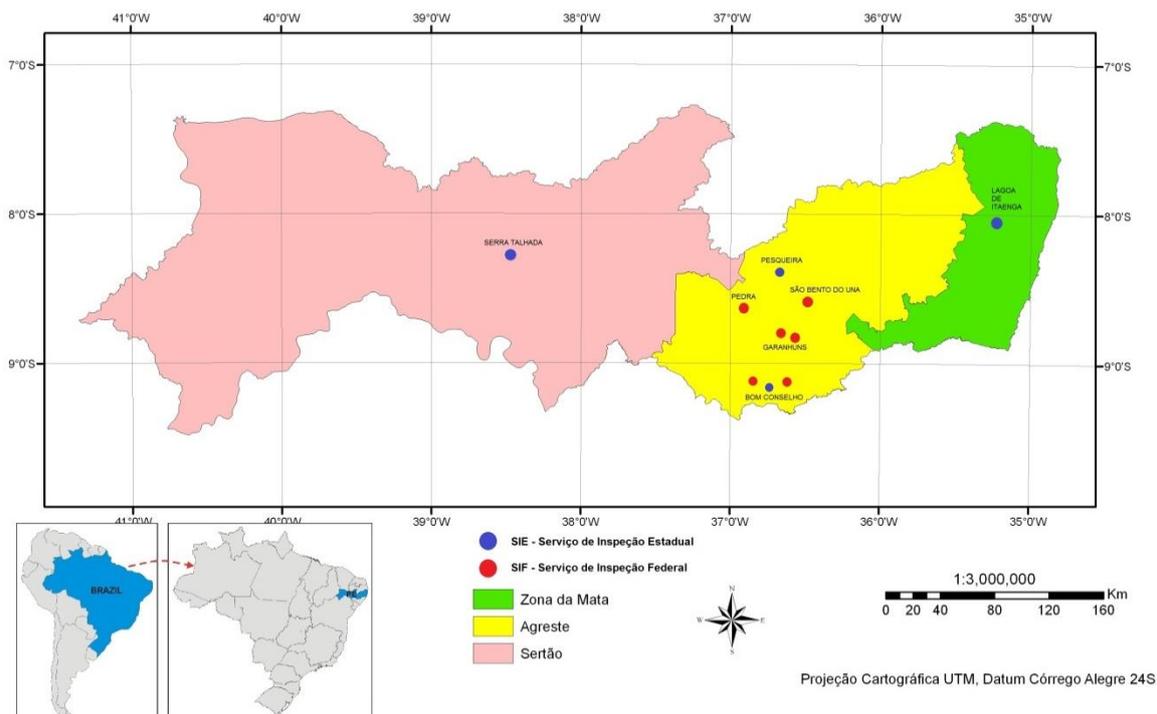
Para a realização deste trabalho foi utilizada uma entrevista semiestruturada para obter os dados, realizado na Superintendência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e Agência de Defesa Agropecuária do Estado de Pernambuco (ADAGRO-PE). Foram analisados os dados referentes ao número de usinas de beneficiamento do leite sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) e Estadual (SIE) registradas no período compreendido entre 2012 e 2015 em Pernambuco - Brasil. Os dados foram agrupados por mesorregiões do

Estado (Figura 1), empregando-se a estatística descritiva com distribuição de frequências para as variáveis qualitativas consideradas.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Observou-se neste estudo que as indústrias certificadas localizam-se em todas as regiões do Estado (Zona da Mata, Agreste e Sertão). Das 26 indústrias certificadas, 50,0% (13/26) estão localizadas no Agreste; 34,6% (9/26) na Zona da Mata e 15,4% (4/26) no Sertão, sendo a região Agreste a que apresenta a maior concentração de indústrias certificadas. Corroborando com este estudo, a Agência de Desenvolvimento Econômico de Pernambuco (2014) indica que a distribuição geográfica da produção leiteira pernambucana aponta o Agreste como sendo a principal Mesorregião produtora, respondendo por 73% da produção estadual.

Figura 1 – Distribuição geográfica das usinas de beneficiamento de leite, por Mesorregião do Estado de Pernambuco, Brasil, no ano de 2014.



O Sertão Pernambucano é considerado uma área de alta produção de leite, porém com o menor percentual de indústrias certificadas 15,4% (4/26). Em uma pesquisa realizada pelo Sebrae (2013), a Região Nordeste apresentou, em 2012, o menor percentual do leite sob inspeção, em relação ao total do leite produzido (apenas 30,7%). Isto significa que aproximadamente 70% do que é produzido na região são consumidos de forma *in natura*. Considerando que este percentual já foi menor (em 1997 era de 23,3%), pode-se afirmar que a região vem gradualmente apresentando evolução no processo de industrialização.

Segundo dados da Pesquisa Pecuária Municipal e Pesquisa Trimestral do Leite do IBGE, o parque industrial instalado na Região Nordeste ainda é muito restrito. Isto se comprova pelo baixo percentual do leite produzido na região e que é captado e processado pelas indústrias, significando apenas 30,7% do total (IBGE, 2012).

Corroborando com estes resultados, Reis Filho (2013) cita que, de um modo geral, o nível de industrialização nos Estados da Região Nordeste é muito baixo. Destes, os mais críticos acontecem no Piauí e Maranhão, onde o total do leite captado representa, respectivamente, 13,2% e 16,6% do total do leite produzido. O maior percentual acontece nos Estados do Ceará, com 48,6% e Alagoas com 43,9%. Bahia e Pernambuco que ocupam a primeira e a segunda colocação na região em produção de leite, destinam, respectivamente, apenas 30,8% e 27,9% desse leite para as indústrias de laticínios.

Segundo estudo realizado em 2005 pelo órgão de fiscalização SIPA/MS e IAGRO, o número de estabelecimentos existentes no Estado de Mato Grosso do Sul são 76 unidades de laticínios e usinas de beneficiamento ativas. Destes, 60,5% (46/76) são inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Estadual e 39,5% (30/76) unidades são inspecionadas pelo Serviço de Inspeção Federal (Puga, 2008). Esses dados corroboram com os resultados encontrados em Pernambuco onde se observou uma maior concentração de indústrias certificadas com o SIE, o que demonstra uma maior comercialização em nível estadual. Tal resultado tem relevância por indicar que, em ambos os Estados da Federação, um número elevado de empresas podem potencialmente migrar para Inspeção Federal e assim, proporcionar uma ampliação sustentável do setor, desde que medidas e ações complementares sejam adotadas.

Conforme a Tabela 1, entre os anos de 2012 e 2015 houve uma diminuição de 78,9% das indústrias certificadas pelo Serviço de Inspeção Estadual em Pernambuco. Os principais motivos para que ocorresse o cancelamento do registro pelo SIE foram o não atendimento às normas higiênico-sanitárias e tecnológicas; a necessidade de reforma parcial ou total não atendida e o efeito da seca que atingiu Pernambuco em 2013, afetando gravemente a produção de leite no Estado.

Tabela 1: Evolução temporal da Certificação Estadual e Federal no Estado de Pernambuco, no período de 2012 e 2015.

Certificação	2012	2013	2014	2015	% Redução (*)
SIE	19	5	4	4	78,9%
SIF	7	6	6	5	28,6%
TOTAL	26	11	10	9	65,4%

Tabela 1 (\*) Em relação a 2012.

Dados da Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária de Pernambuco (ADAGRO) apontaram neste período para uma redução de quase 70% na produção da bacia leiteira, formada por 14 municípios, com prejuízo mensal estimado em R\$ 36 milhões. Antes da estiagem, o Sindicato das Indústrias de Laticínios e Produtos Derivados do Estado de Pernambuco contabilizava a produção de 2,3 milhões de litros por dia e, em 2015, apenas 830 mil litros são produzidos diariamente. A queda afeta principalmente os criadores que presenciam a morte dos animais com a falta de chuvas no interior pernambucano (ADAGRO, 2013). O Estado de Pernambuco apresenta cenário de seca prolongada que vem assolando a região Nordeste desde 2012 e já é apontada como a seca mais grave em décadas. Tal cenário tem impactado severamente a economia da região, reduzindo sua produção Agropecuária. Segundo a Agência Pernambucana de Águas e Clima, verifica-se que no período de 2013 a 2015 a maior parte das mesorregiões do Estado apresentaram cenários pluviométricos muito secos a secos, conforme os totais mensais de chuva observados na rede pluviométrica do Estado.

## CONCLUSÃO

Devido à possibilidade de migração de certificação, sugere-se o contínuo monitoramento das indústrias certificadas pelos órgãos de fiscalização, para que ações conjuntas possam contribuir para o desenvolvimento das indústrias de pequeno e médio porte, retirando-as da clandestinidade e proporcionando ampliação do comércio além dos limites dos municipais, estaduais e federais, além de nortear as ações governamentais no setor agropecuário.

## REFERÊNCIAS

ADAGRO - PE. Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária de Pernambuco (Adagro), 2013).  
Sindicato das Indústrias de Laticínios e Produtos Derivados do Estado de Pernambuco (Sindileite).  
Site.

AD DIPER. Agência de Desenvolvimento Econômico de Pernambuco. Panorama Pernambuco, n 3, ANO 1, Dez. 2014.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ART. 1. 2014.

BRASIL. Portaria n.72, de 03 junho de 1998. **Diário Oficial da União**, Brasília, n.107, 8 de jun. 1998. Seção 1, p.131. [O Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária estabelece o Programa de Controle e Resíduos Biológicos em Leite – PCRBL].

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 11, de 22 de maio de 2012. Plano Nacional de Controle de Resíduos em produtos de origem animal. 2012. Diário Oficial da União de 25 de maio de 2012. Brasília (Brasil).

BRESSAN, M.; MARTINS, M.C. Segurança alimentar na cadeia produtiva do leite e alguns de seus desafios, Artigo, Ano XIII, nº 3, Jul./Ago./Set. 2004. Revista Política Agrícola.

(CE) REGULAMENTO N.º 853/2004 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 29 de Abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. **Jornal Oficial da União Europeia**. L 139/55. 30.4.2004

GERMANO, P. M. & GERMANO, M. I. Qualidade do Leite no Processamento de Derivados. In: Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 629 p.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Censo Agropecuário 2012.

MILAN, M.; ZEN, S.D.E.; MIRANDA, S.H.G.; COSTA, E.J.C.; PINAZZA, L.A.  
(Ed.) **Sistema de Qualidade nas Cadeias Agroindustriais**. São Paulo, 2007. 208p.

PUGA, L.C.H.P., 1975 – Serviço de Inspeção Estadual de produtos de origem animal: uma visão pela Coordenadoria Regional de Juiz de Fora – MG- Viçosa, 2008.

REIS FILHO, R.J.C. Cenário para o leite e derivados na região Nordeste em 2020. Recife/PE. Sebrae, 2013. 154 p.

## ANEXOS

### ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (BRAZILIAN JOURNAL OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES)

Instruções aos autores

#### **Política Editorial**

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

#### **Reprodução de artigos publicados**

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <[www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br)>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços [www.scielo.br/abmvz](http://www.scielo.br/abmvz) ou [www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br).

#### **Orientação para tramitação de artigos**

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação on-line do ABMVZ no endereço [www.abmvz.org.br](http://www.abmvz.org.br).
- Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.

- Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.
- A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.
- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.
- Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.
- O ABMVZ comunicará, via eletrônica, a cada autor, a sua participação no artigo. Caso pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

### **Comitê de Ética**

É indispensável anexar cópia do Certificado de aprovação do projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. Esclarecemos que o referido documento deve constar como sendo a primeira página do texto em Word (não incluir no texto em pdf), além da menção, em Material e Métodos, do número do Certificado de aprovação do projeto.

### **Tipos de artigos aceitos para publicação:**

- **Artigo científico**

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 30.

- **Relato de caso**

Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 10, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

- **Comunicação**

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. O texto, com título em português e em inglês, Autores e Filiação deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

O número de páginas não deve exceder a 8, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

### **Preparação dos textos para publicação**

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras.

### **Formatação do texto**

- O texto **NÃO** deve conter subitens em qualquer das seções do artigo e deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3cm (superior,

inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.

- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

### Seções de um artigo

- **Título.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.
- **Autores e Filiação.** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

### Nota:

1. o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação.
2. o texto do artigo em pdf **NÃO** deve conter o nome dos autores e filiação.

- **Resumo e Abstract.** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.
- **Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco.
- **Introdução.** Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.
- **Material e Métodos.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de aprovação do CEUA. (verificar o Item Comitê de Ética).

- **Resultados.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.
- *Tabela.* Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é 8). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.
- *Figura.* Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é referida no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se referir a mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviadas no formato jpg com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão na tela de registro do artigo. As figuras devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

**Nota:**

- Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.
- **Discussão.** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes e sem subitens).

- **Conclusões.** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

**Agradecimentos.** Não obrigatório.

Devem ser concisamente expressados. **Referências.** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ conforme exemplos:

### Como referenciar:

#### 1. Citações no texto

- A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979)
- mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

- *Citação de citação.* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

- *Comunicação pessoal.* Não fazem parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

#### 2. Periódicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

**3. Publicação avulsa** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

**4. Documentos eletrônicos** (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more cambative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

**Nota:**

- Artigos que não estejam rigorosamente dentro das normas acima não serão aceitos para avaliação.
- O Sistema reconhece, automaticamente, como “Desistência do Autor” artigos em diligência e/ou “Aguardando liberação do autor”, que não tenha sido respondido no prazo dado pelo Sistema.

#### **Taxas de submissão e de publicação:**

- **Taxa de submissão.** A taxa de submissão de R\$50,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal. Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.

- **Taxa de publicação.** A taxa de publicação de R\$150,00, por página, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal.

#### **Recursos e diligências:**

- No caso de o autor encaminhar resposta a diligências solicitadas pelo ABMVZ, ou documento de recurso, o mesmo deverá constar como a(s) primeira(s) página(s) do texto do artigo somente na versão em Word.
- No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso, o mesmo deve ser feito pelo e-mail [abmvz.artigo@abmvz.org.br](mailto:abmvz.artigo@abmvz.org.br).

## **REVISTA ARQUIVOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO**

### **Instruções aos autores**

#### *Escopo e política editorial*

Arquivos do Instituto Biológico tem por objetivo publicar em português, inglês ou espanhol, trabalhos científicos originais e de qualidade que contribuam significativamente para o desenvolvimento das ciências agrárias nas áreas de sanidade animal e vegetal, relacionadas ao

agronegócio e suas implicações no agroambiental, incluindo a qualidade e a segurança alimentar. Aceita, também, trabalhos sobre pragas sinantrópicas.

O periódico apoia e segue os princípios e padrões recomendados pelo COPE (Committee on Publication Ethics), organização internacional de referência em integridade e ética na publicação científica. Assim, todo o processo e critérios de seleção e publicação do periódico seguem as normas de conduta e ética conforme [http://publicationethics.org/files/u2/New\\_Code.pdf](http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf).

Uma carta de apresentação (cover letter) deve acompanhar o manuscrito descrevendo a importância do trabalho na área de atuação, qualificando-o para publicação nos Arquivos do Instituto Biológico.

Além disso, uma declaração, assinada pelo autor correspondente em nome de todos os autores, deve obrigatoriamente ser anexada como documento suplementar na área designada no sistema online onde os autores declaram que: a) os dados contidos no manuscrito são inéditos e autênticos, portanto, sem fraudes e/ou derivações de plágio (todos os manuscritos recebidos são submetidos a um software para detecção de plágio);

b) o manuscrito não foi submetido para publicação em nenhum outro veículo impresso ou eletrônico;

c) o conteúdo do manuscrito é da inteira responsabilidade de todos os autores nominados, os quais assumem terem contribuído significativamente para a pesquisa e obrigam-se a fornecer retratações ou correções de erros se necessários. Em caso de dúvidas, consultar Singapore Statement;

d) caso haja conflito de interesse, estarão se manifestando, o que será analisado posteriormente pelo Comitê Editorial.

*Informações complementares:*

Estudos envolvendo: 1- animais de experimentação e/ou organismos geneticamente modificados devem ser aprovados pela Comissão de Ética e Biossegurança com inclusão do respectivo número do processo no trabalho e encaminhamento de uma cópia da aprovação fornecida pelo respectivo Comitê responsável da Instituição de origem do autor correspondente; 2- plantas devem ter o registro e depósito prévio desse material (vouchers) em coleções registradas e de acesso público, com inclusão do respectivo número de

identificação no manuscrito. 3- sequências de DNA devem ter o número do depósito feito em bancos de dados habilitados informado no manuscrito.

Os manuscritos submetidos ao periódico Arquivos do Instituto Biológico são analisados preliminarmente pelo Comitê Editorial. Na pré-análise do trabalho verifica-se o seu enquadramento no escopo e mérito para publicação. Os manuscritos que não atenderem às normas redatoriais ou que necessitem de grande reformulação serão rejeitados sem revisão pelos pares. Os manuscritos pré-selecionados serão submetidos à análise crítica de, pelo menos, dois Consultores Científicos (ad hoc) escolhidos dentre os especialistas da área do trabalho submetido, os quais responderão um formulário de avaliação. A aceitação do trabalho é em consonância com o Editor-Chefe do Comitê Editorial. Em caso de rejeição por parte de um dos Consultores Científicos a decisão caberá ao Editor-Associado que emitirá parecer conclusivo. As revisões, juntamente ao parecer conclusivo, são encaminhadas aos autores para correções, justificativas e apresentação da nova forma que é, em seguida, confrontada pelo Editor-Chefe do Comitê Editorial com a versão original do trabalho. Uma vez aceito, o trabalho é encaminhado para revisão de referências, abstract e vernáculo. Após diagramação, o texto é submetido às correções finais pelos autores e pelo Comitê Editorial. Os trabalhos são publicados em ordem de aprovação.

A taxa para publicação no periódico Arquivos do Instituto Biológico é de R\$ 50,00 (cinquenta reais) por página diagramada.

Após o aceite do trabalho, comunicado pelo editor-chefe, os autores deverão efetuar o depósito do valor correspondente à publicação em nome do Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio - FUNDEPAG (CNPJ 50.276.237/0001-78) [Banco do Brasil (001), Agência 1199-1, Conta Corrente 30.200-7 ou Banco Santander (033), Agência 0637, Conta Corrente 13-001316-9]. Enviar comprovante de depósito via fax ou e-mail, mencionando o número do trabalho, para: (11) 5087-1790 ou E-mail: arquivos@biologico.sp.gov.br

#### *Forma e preparação de manuscritos*

São considerados para publicação Artigos Científicos e Comunicações Científicas. Artigos de Revisão poderão ser aceitos a critério do Comitê Editorial.

Artigo científico: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do autor correspondente e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-

chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências.

**Comunicação científica:** compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do autor correspondente e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, texto sem subdivisões, agradecimentos e referências. Comunicação científica é um breve relato, cuja publicação imediata é justificada por se tratar de fato inédito de importância, mas com conteúdo insuficiente para constituir um artigo científico.

**Artigo de revisão:** compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, texto sem subdivisões e referências.

**Apresentação:** os trabalhos deverão ser elaborados em Word (.doc ou .docx), página A4, com margens de 2,5 cm, fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço duplo e páginas numeradas em sequência.

As linhas deverão ser numeradas de forma contínua, utilizando a ferramenta Layout em Configurar Página.

O máximo de páginas será 25 para artigos de revisão, 20 para artigos científicos e 10 para comunicação científica, incluindo tabelas e figuras.

**Idioma:** o trabalho poderá ser redigido em português, inglês ou espanhol. Quando escrito em português, o resumo deverá ter uma versão em inglês. No caso de artigo escrito em inglês ou espanhol deverá ter um resumo em inglês ou espanhol e outro em português.

**Título:** embora breve, deverá indicar com precisão o assunto tratado no artigo, focando a sua finalidade principal.

**Nome(s) e Endereço(s) do(s) autor(es):** Não deve constar do corpo do manuscrito, pois Arquivos do Instituto Biológico segue revisão por pares duplo cega. Essas informações devem ser inseridas no campo específico do sistema online de submissão.

**Resumo:** deverá apresentar concisamente o objetivo do trabalho, material e métodos e conclusões, em um único parágrafo. Não ultrapassar 250 palavras.

**Palavras-chave:** abaixo do resumo e separado por um espaço, citar no máximo cinco palavras-chave, separadas por vírgula. Não utilizar termos que apareçam no título.

**Abstract:** apresentar uma tradução para o inglês do título do trabalho e do resumo. A seguir, relacionar também em inglês (ou espanhol) as mesmas palavras-chave (keywords, palabras-clave) já citadas. Não ultrapassar 250 palavras.

**Introdução:** descrever a natureza e o objetivo do trabalho, sua relação com outras pesquisas no contexto do conhecimento existente e a justificativa da pesquisa feita.

**Material e Métodos:** apresentar descrição breve, porém, suficiente para permitir uma repetição do trabalho. Técnicas e processos já publicados, exceto quando modificados, deverão ser apenas citados. Nomes científicos de espécies, bem como drogas, deverão ser citados de acordo com regras e padrões internacionais.

**Resultados:** apresentá-los acompanhado de tabelas e/ou figuras, quando necessário. As tabelas e figuras devem ser inseridas após as referências.

**Discussão:** discutir os resultados obtidos comparando-os com os de outros trabalhos publicados (resultados e discussão poderão fazer parte de um único item).

**Tabelas e Figuras:** incluir título claro e conciso que possibilite o seu entendimento sem consultas ao texto. As tabelas não deverão conter linhas verticais. No texto, use a palavra abreviada (ex.: Fig. 3). As figuras devem estar no formato jpg (fotos) ou gif (gráficos e esquemas) e com tamanho inferior a 500 Kb. As figuras originais ou com maior resolução poderão ser solicitadas após o aceite. Devem ser enviadas em arquivos individuais e nomeadas de acordo com o número da figura. Exemplos: Fig1.gif, Fig2.jpg.

**Conclusões:** serão citadas em ordem de importância. Poderão constituir um item à parte ou serem incluídas na discussão.

**Agradecimentos:** poderão ser incluídas pessoas ou instituições. No caso de agência de fomento, deve-se incluir o número do processo do financiamento.

**Referências e citações no texto:** Citar apenas as referências estritamente necessárias para a compreensão do trabalho. Recomenda-se em torno de 25 referências para artigos e comunicações científicas. Citações no texto e referências estão diretamente vinculadas. Todos os autores citados devem figurar nas referências. A referência no texto deve seguir o sistema

sobrenome do autor e ano de publicação e deverá estar em caixa alta reduzida ou versalete, tal como: 1 autor - Allan (1979) ou (Allan, 1979); 2 autores – Lopes; Macedo (1982) ou (Lopes; Macedo, 1982); mais de 2 autores - Besse et al. (1990) ou (Besse et al., 1990); coincidências de autoria e ano de publicação - (Curi, 1998a), (Curi, 1998b) ou (Curi, 1998a, 1998b). As referências deverão ser baseadas na NBR 6023/2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e estar em ordem alfabética de primeiro autor. A exatidão dos dados nas referências é de responsabilidade dos autores.

*Envio de manuscritos*

O manuscrito deve ser submetido apenas na forma eletrônica através do endereço <https://mc04.manuscriptcentral.com/aib-scielo>.