UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

QUALIDADE DO LEITE PRODUZIDO NO ESTADO DE GOIÁS- OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS E ACIDEZ TITULÁVEL

Thaysa dos Santos Silva

Orientador: Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau

GOIÂNIA
2011

Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TEDE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Thaysa dos Santos Silva** E-mail: **thaysamariana@hotmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento:

País: UF: CNPJ: Sigla:

Título: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE CRU, PASTEURIZADO E UHT PRODUZIDOS NO ESTADO DE GOIÁS: 1-Ocorrência de Resíduos de Antimicrobianos 2- Acidez Titulável Palavras-chave: **Mastite, medicamentos veterinários, saúde pública, serviço de inspeção.**

Título em outra língua: **THE QUALITY OF MILK PRODUCED IN THE STATE OF GOIAS - Ocurrence of residues of antimicrobials end Titratable Acidity**

Palavras-chave em outra língua: **Department of inspection, mastitis, public health, veterinary medicinal products.**

Área de concentração: **Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **21/02/2011**

Programa de Pós-Graduação:**Ciência Animal**

Orientador(a):**Edmar Soares Nicolau** E-mail: **rena@cpa.vet.ufg.br**

Co-orientador(1): **Antônio Nonato de Oliveira** E-mail: nonato@vet.ufg.br

Co-orientador(2): **Moacir Evandro Lage** E-mail: **moacir@vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?[1] ☒ total ☐ parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[ ] Capítulos. Especifique:

[ ] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 22 de fevereiro de 2011

Thaysa dos Santos Silva

Assinatura do(a) autor(a)

[1] Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

THAYSA DOS SANTOS SILVA

QUALIDADE DO LEITE PRODUZIDO NO ESTADO DE GOIÁS- OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS E ACIDEZ TITULÁVEL

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Área de Concentração:
Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos

Orientador:
Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau - UFG
Comitê de Orientação:
Prof. Dr. Antônio Nonato de Oliveira - UFG
Prof. Dr. Moacir Evandro Lage - UFG

GOIÂNIA
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

S586q

Silva, Thaysa dos Santos.
Qualidade do leite produzido no estado de Goiás - ocorrência de resíduos de antimicrobianos e acidez titulável [manuscrito] / Thaysa dos Santos Silva. - 2011.
94f. : il. ; figs., tabs., qds.

Orientador: Prof. Dr Edmar Soares Nicolau; Co-Orientadores: Prof. Dr. Antônio Nonato de Oliveira, Prof. Dr. Moacir Evandro Lage.
Dissertação de (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2011.
Bibliografia: f. 64-79
Incluindo lista de figuras, tabelas, quadros e de abreviaturas.

1. Leite – Qualidade. 2. Pecuária leiteira - Mastite. 3. Produção de leite - Saúde Pública. 6. Produção de leite - Serviço de Inspeção. I. Título.

CDU: 636.2:637.1(817.3)

THAYSA DOS SANTOS SILVA

Dissertação defendida e aprovada em 21/02/2011, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau
(ORIENTADOR (A))

Profa. Dra. Vera Lúcia Dias da S. Fontana - UFG/Jataí-GO

Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que acreditam em mim. Meu namorado Hugo, minha mãe Suely, minha irmã Halline, meu cunhado Igor e meu sobrinho Iago, e aos meus amigos, pelo constante incentivo, apoio, ajuda e carinho.

Em especial ao meu pai (*in memoriam*) Hailton Batista da Silva.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me concedeu a oportunidade de viver com saúde, inteligência, amor, dedicação e que me ensina, com os meus tropeços e conquistas.

A minha querida mãe Suely dos Santos Silva, pela dedicação, força e luta nos momentos mais difíceis e por fornecer as condições necessárias para que eu pudesse estudar. A minha irmã Halline Mariana Santos Silva, ao meu cunhado Igor José da Silva e meu sobrinho Iago pelo incentivo, ao meu pai (*in memoriam*) Hailton Batista da Silva pelo apoio e motivação e ao meu namorado Hugo Telles Costa pelo carinho, companheirismo, paciência e dedicação.

Aos meus parentes e amigos pelo carinho e confiança, sem os quais meus ideais ficariam pela metade, em especial a Elizabeth Porto Lopes de Castro.

Aos professores, servidores e colegas de mestrado da Universidade Federal de Goiás pelo incentivo, cooperação, ensinamentos e formação, em especial as professoras Dra. Cíntia Silva Minafra e Rezende e Dra. Vera Lúcia Dias da Silva Fontana, pela amizade, ensinamentos, dedicação e paciência para comigo.

A equipe do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e as indústrias de laticínio do Estado de Goiás sob fiscalização federal, pela colaboração, incentivo e dedicação para viabilização deste projeto, em especial ao Fiscal Federal Agropecuário Duperron de Alencar Carvalho pelos ensinamentos, orientação, estímulo e motivação para a execução deste projeto.

A equipe de trabalho que executou as atividades relacionadas ao projeto, principalmente Jaqueline Vanessa de Assis, Jordana de Oliveira Leão e Sarah Rozette Teixeira.

Ao meu orientador professor Dr. Edmar Soares Nicolau, pela atenção, orientação e paciência.

A inteligência é o único meio que possuímos para dominar os nossos instintos.

Sigmund Freud

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 REVISÃO DE LITERATURA 4
2.1 Cadeia Produtiva e Qualidade do Leite 4
2.2 Legislação Brasileira Direcionada à Qualidade do Leite 8
2.3 Resíduos de Antimicrobianos no Leite e a Mastite 16
2.4 Resíduos de Antimicrobianos x Riscos à Saúde Pública e Qualidade dos Derivados 21
2.5 Metodologias Laboratoriais na Detecção de Resíduos de Antimicrobianos no Leite 26
2.6 Acidez titulável do leite fluido 31
3 OBJETIVOS 35
3.1 Objetivo Geral 35
3.2 Objetivos Específicos 35
4 MATERIAL E MÉTODOS 36
4.1 Amostras 36
4.2 Análises laboratoriais 40
4.3 Análise estatística 44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 45
6 CONCLUSÃO 63
REFERÊNCIAS 64

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Distribuição dos dez maiores produtores de leite do Brasil em 2009. 5
FIGURA 2 – Principais regiões e tecidos que compõem o úbere de vacas 18
FIGURA 3 – Mistura do leite no tanque de expansão 38
FIGURA 4 – Mistura vertical com coletor 38
FIGURA 5 – Coleta do leite 38
FIGURA 6 – Frasco plástico com a amostra de leite 38
FIGURA 7 – Esquema de coleta de leite em latão 39
FIGURA 8 – *Kit* Delvotest® SP-NP completo (conjunto com ampolas, seringa para dosagem, pipetas descartáveis) 40
FIGURA 9 – Seringa, pipeta e meio de cultura prontos para a realização da análise 43
FIGURA 10 – Incubador com as amostras 43
FIGURA 11 – Amostra positiva para resíduos de antibióticos 43
FIGURA 12 – Amostra negativa resíduos de antibióticos para resíduos de antibióticos 43

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Ocorrência de Resíduo de Antimicrobiano em Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás 46
GRÁFICO 2 – Amostras Positivas para a Presença de Resíduo de Antimicrobiano por Tipo de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás 46
GRÁFICO 3 – Amostras Positivas para a Presença de Resíduo de Antimicrobiano por Tipo Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás 47
GRÁFICO 4 – Ocorrência de Resíduo de Antimicrobiano em Amostras de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF por mês em 2010 no Estado de Goiás 52
GRÁFICO 5 – Acidez Titulável dentro e fora do padrão em Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás 54
GRÁFICO 6 – Acidez Titulável em Amostras de Leite por Tipo de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás 54
GRÁFICO 7 – Acidez Titulável das Amostras de Leite dos Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás 56
GRÁFICO 8 – Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Acidez Titulável e Presença de Resíduos de Antimicrobianos por mês no Estado de Goiás em 2010 61

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Antimicrobianos a serem monitorados no Brasil e seus LMR's 12
QUADRO 2 – Antibióticos, outros resíduos e contaminantes a serem monitorados pelo PNCRCL/2010 15
QUADRO 3 – Desempenho dos *Kits* para detecção dos LMR's da FDA e UE 29
QUADRO 4 – Nível de detecção mínimo do teste Delvotest® SP-NT para diferentes princípios ativos de substâncias utilizadas como antibióticos. Concentração em partes por milhão – ppm. Leitura realizada em 3 horas 30
QUADRO 5 – Nível de detecção mínimo do teste Delvotest® SP-NT para substâncias químicas utilizadas como detergentes e desinfetantes com ação antimicrobiana. Concentração em parte por milhão – ppm 31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Amostras Analisadas, Separadas por Tipo de Leite 45
TABELA 2 – Distribuição das Amostras por Tipo de Leite dos Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Presença de Resíduo de Antimicrobianos no Estado de Goiás em 2010 45
TABELA 3 – Distribuição das Amostras de Leite quanto à Presença de Resíduos de Antimicrobianos por Capacidade de Recebimento (leite cru) e Produção (pasteurizado e UHT) de Leite pelos Estabelecimentos sob SIF no Estado de Goiás em 2010 53
TABELA 4 – Média e Desvio Padrão da Acidez Titulável de Amostras de leite por Tipo de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF no Estado de Goiás em 2010 55
TABELA 5 – Distribuição das Amostras por Tipo de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Acidez Titulável no Estado de Goiás em 2010 57
TABELA 6 – Distribuição das Amostras fora do padrão por Tipo de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Acidez Titulável no Estado de Goiás em 2010 58
TABELA 7 – Distribuição das Amostras de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF, Quanto a Acidez Titulável, por Capacidade de Recebimento (leite cru) e Produção (pasteurizado e UHT) de Leite no Estado de Goiás em 2010 60
TABELA 8 – Distribuição das Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF de Acordo com a Ocorrência de Resíduo de Antimicrobianos e Acidez Titulável 61

LISTA DE ABREVIATURAS

ABLV	Associação Brasileira da Indústria de Longa Vida
AGRODEFESA	Agência Goiana de Defesa Agropecuária
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle
CCS	Contagem de Célula Somática
CGAL	Coordenação Geral de Apoio Laboratorial
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CPA	Centro de Pesquisa em Alimentos
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias
EVZ	Escola de Veterinária e Zootecnia
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FDA	Food and Drungs Administration
FFA	Fiscal Federal Agropecuário
FFA's	Fiscais Federais Agropecuários
HACCP	Hazard Analysis of Critical Control Points
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISO	International Standards Organization
LMR	Limite Máximo de Resíduo
LMR's	Limites Máximos de Resíduos
LQL	Laboratório de Qualidade do Leite
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PCRC	Programa de Controle de Resíduos em Carne
PCRL	Programa de Controle de Resíduos em Leite
PCRM	Programa de Controle de Resíduos em Mel

LISTA DE ABREVIATURAS

PCRP	Programa de Controle de Resíduos em Pescado
PNCR	Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal
PNCRB	Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
PNMQL	Programa Nacional da Melhoria da Qualidade do Leite
PPM	Parte Por Milhão
OMC	Organização Mundial do Comércio
OMS	Organização Mundial de Saúde
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SDA	Secretaria de Defesa Agropecuária
SIE	Serviço de Inspeção Estadual
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SIM	Serviço de Inspeção Municipal
SIPA	Secretaria de Inspeção de Produto Animal
SPSS	Statistical Package for Sciences Social
TTC	Cloreto 2,3,5 trifenil-tetrazólico
UE	União Européia
UFG	Universidade Federal de Goiás
UHT	Ultra Higth Temperature

RESUMO

O leite é considerado um dos alimentos mais completos nutricionalmente, assim os consumidores e órgãos fiscalizadores, exigem que este produto seja inócuo e de qualidade. Os medicamentos veterinários, em particular os antimicrobianos, têm sido amplamente utilizados na pecuária para tratamento e prevenção de doenças (mastites), no entanto, quando utilizados em desrespeito às boas práticas, a presença de resíduos de antimicrobianos sejam eles sanitizantes, antibióticos ou quimioterápicos colocam em risco tanto a saúde animal como a humana, predispondo a população a eventuais reações alérgicas, ação carcinogênica e resistência microbiana, além de causar prejuízos econômicos para as indústrias, produtores e governos. Além disso, a análise de acidez titulável no leite também é um dos parâmetros utilizados pelos laticínios para a determinação indireta de sua qualidade, sendo obrigatória nas plataformas de recepção de leite dos laticínios. Neste trabalho foram analisadas 992 amostras de leite no Estado de Goiás, sendo 441 de leite cru, 327 de pasteurizado e 224 de Ultra Higth Temperature (UHT), de abril a novembro de 2010, coletadas nas propriedades fornecedoras de leite e locais de comercialização do produto. Para realização da pesquisa de antimicrobianos foi utilizado o *kit* comercial Delvotest® SP-NP, já para a acidez titulável utilizou-se metodologia segundo legislação federal, e para análise dos dados o *software* SPSS versão 15.0. Das amostras analisadas 8,47% se mostraram positivas para a presença de resíduos de antimicrobianos (5,34% de leite cru, 1,92% de leite pasteurizado e 1,21% de leite UHT), já 25,30% das amostras apresentaram-se fora do padrão para acidez titulável (12,10 % leite cru, 9,57% de leite pasteurizado e 3,63% de leite UHT). Dentre as amostras que estavam fora do padrão para acidez titulável, 10,48% estavam abaixo do recomendado e 14,82% estavam acima. Os resultados das análises da pesquisa confirmam que a qualidade do leite cru, pasteurizado e UHT produzido e consumido em Goiás, estão apresentando resultados fora dos padrões recomendados pela legislação federal, no que se refere à presença de resíduo de antimicrobiano e acidez titulável, o que gera preocupação, pois representa risco a saúde pública, além de causar prejuízos no processamento do leite.

Palavras - chave: Mastite, medicamentos veterinários, saúde pública, serviço de inspeção.

ABSTRACT

Milk is considered one of the nutritionally complete foods, consumers and inspection organizations require that this product has innocuousness and good quality. The veterinary medicinal products, in particular antimicrobials have been widely used in stockfarming to treat and preventi diseases (mastitis). However, when they are used in an inappropriate manner, the presence of residues of antimicrobials such as sanitizers, antibiotics or chemotherapic drugs, endanger animals´ and humans´ health, predisposing the population to allergic reactions, carcinogenic activity, microbial resistance, in addition to causing economic losses to industries, producers and governments. Furthermore, the analysis of titratable acidity in milk is one of the parameters used by dairy industry for the indirect determination of its quality, being compulsory in the milk reception platforms the industries. In this study 992 samples (441 of raw, 327 of pasteurized and 224 of Ultra High Temperature (UHT) milk) were collected from April to November 2010 in the properties and places of commercialization, and analyzed in the State of Goias. The commercial kit Delvotest® SP-NP was used to carry out the antimicrobials research, a methodology according the federal law for the titratable acidity, and the software SPSS version 15.0 for data analysis. Out of the analyzed samples 8.47% (5.34% of raw milk, 1.92% of pasteurized milk and 1.21% UHT milk) were positive for the presence of antimicrobials residues. As for titratable acidity, 25.30% of the samples (12.10 % raw milk, 9.57% of pasteurized milk and 3.63% UHT milk) were not within standard values. Among these samples, 10.48% were below the recommendation and 14.82% were above. The analyzes results confirm that the quality of raw, pasteurized and UHT milk produced and consumed in Goias is not within the standard values recommended by federal law, as regards the presence of antimicrobial residue and titratable acidity, which represents risk to public health, besides causing economic losses in milk processing.

Keywords: Department of inspection, mastitis, public health, veterinary medicinal products.

1 INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira nacional vem ganhando espaço considerável nos últimos anos, visto seu crescimento em produção e requisitos para qualidade do leite. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a produção de leite no Brasil em 2009 foi de 29.112 bilhões de litros (BRASIL, 2010b), criando expectativas de que o setor lácteo consiga gerar mais lucros à economia por meio da exportação de seus produtos (SIQUEIRA & ALMEIDA, 2010; BRASIL, 2010a).

A atividade leiteira vem sendo praticada em todo o território nacional, em mais de um milhão de propriedades rurais e, somente na produção primária, gera acima de três milhões de empregos e agrega mais de seis bilhões ao valor da produção agropecuária nacional (MULLER, 2002). Porém, os produtores de maior relevância concentram-se nas bacias leiteiras tradicionais localizadas nos estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (HOTT & CARVALHO, 2007).

O leite é utilizado como matéria-prima pelas indústrias de laticínios, apresentando grande valor nutricional para o homem, sendo fonte de proteína, gordura, carboidrato e sais minerais (OLIVEIRA et al., 1999; BRITO & BRITO, 2001; BRASIL, 2008a).

A maior parte do leite produzido no país vem se destinando ao mercado de leite fluido e à produção de derivados lácteos, destacando-se os queijos. Dentro do segmento de leite fluido, o leite longa vida tem se apresentado com maior expressividade, talvez por se encaixar melhor ao novo perfil do consumidor, visto a busca por produtos de qualidade e maior vida útil. Para que haja crescimento tanto na produção, quanto no consumo do leite, torna-se essencial a melhoria da qualidade, visando a segurança do alimento (GOMES et al., 2001).

Os consumidores de todo o mundo, nos últimos tempos, vêm aumentando suas exigências quanto à qualidade e segurança alimentar. Esta última pode ser definida como um conjunto de normas de produção, transporte e armazenamento de alimentos, com objetivo de oferecer segurança aos consumidores. Segundo SPEARS & KASSOUF (1996) e BATALHA (2008), o

crescente interesse pela segurança dos alimentos pode ser atribuído a diferentes fatores, tais como: aumento populacional; uso de pesticidas e medicamentos; novos hábitos alimentares; maior conscientização sobre saúde e qualidade de vida; globalização e o aparecimento de barreiras não-tarifárias.

Levando em consideração a importância do leite, o que se observa é que os esforços na busca pela melhoria da qualidade estão focados nas questões microbiológicas. A contaminação do leite por resíduos de antibióticos, carrapaticidas, pesticidas, metais pesados, desinfetantes e outros contaminantes ainda não são investigados de forma eficaz e adequadas, pelas autoridades sanitárias do país.

A presença de resíduos de antimicrobianos sejam eles sanitizantes, antibióticos ou quimioterápicos, presentes no leite consumido, tem se tornado um grande problema em termos de saúde pública, para os consumidores, e econômicos para as indústrias, produtores e governos.

Por imposição de países importadores, o governo brasileiro criou em 1986 o Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal (PNCRB) e, a partir de 2007 começou a ser chamado de Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC). Segundo BRASIL (1999), tal ferramenta de controle tem como objetivo a busca pela produtividade e qualidade dos alimentos de origem animal, destinados à exportação e consumo interno, conhecendo e evitando a violação dos Limites Máximos de Resíduos (LMR's) de substâncias autorizadas, bem como a ocorrência de quaisquer níveis de resíduos de compostos químicos, de uso proibido no país.

A não realização das análises físico-químicas e microbiológicas, além de impossibilitar a avaliação da qualidade do leite cru e processado, inviabiliza a rápida identificação e imediata correção das prováveis falhas de beneficiamento. As análises físico-químicas são importantes na avaliação da qualidade do leite. Seu objetivo consiste na detecção de fraudes como, por exemplo, a adição de água, retirada da gordura, superaquecimento, entre outros.

Considerando o exposto, fica evidente a necessidade de se obter leite de qualidade, garantindo a segurança alimentar, no que se refere a sua integridade físico-química e microbiológica natural. Pelo fato da ocorrência de antimicrobianos em alimentos serem um tema de alta relevância, tanto para a

cadeia produtiva do leite – que tem por objetivo colocar no mercado produtos cada vez mais confiáveis – quanto para a saúde pública – cuja finalidade é ser vigilante e inovadora na garantia da saúde da população brasileira – e o fato da acidez titulável ser importante na avaliação da qualidade do leite. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar a qualidade do leite cru, pasteurizado e UHT produzidos em Goiás, sob fiscalização do SIF, pesquisando a ocorrência de resíduos de antimicrobianos e avaliando a acidez titulável.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cadeia Produtiva e Qualidade do Leite

Segundo a legislação vigente, o leite é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1952).

De acordo com BRASIL (2008a) e NOGUEIRA, et al. (2009) o leite é, provavelmente, um dos únicos alimentos que tem como objetivo fornecer nutrientes e proteção imunológica (através dos anticorpos) para o recém nascido, o que pode explicar o seu elevado valor nutricional. A composição do leite, aliado à distribuição equilibrada de certos componentes e a elevada digestibilidade fazem do leite, um dos componentes mais importantes na alimentação humana. Dentre os benefícios do leite temos: nitrogênio, cálcio e fósforo; ação anti-carcinogênica; redução do colesterol total e níveis de triglicerídeos; diminuição da gordura corporal; aumento da massa magra em animais experimentais em crescimento; aumento da resistência às doenças: a lactose atua no intestino promovendo o desenvolvimento de bactérias desejáveis e inibindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas e aumentando a absorção de cálcio.

Devido às propriedades nutricionais do leite, a *Foof and Agriculture Organization* (FAO) e LUNARDI et al. (2006) indicaram o setor lácteo, como estratégico para reduzir a fome no mundo, sendo um dos principais agronegócios do Brasil. De acordo com ZOCCAL et al. (2007, 2008) a importância da pecuária de leite no desempenho econômico e na geração de empregos no país é incontestável.

Segundo dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), em 2007 o Brasil ocupou a sexta colocação na classificação dos principais países produtores de leite no mundo (BRASIL, 2008b) e em 2009 a produção de leite alcançou 29.112 bilhões de litros, com alta de 5,6% em relação ao ano anterior (BRASIL, 2010b). Porém, para a Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) o Brasil precisa produzir mais e com qualidade para conseguir atender o consumo interno e aumentar a exportação (BRASIL, 2008c).

O principal estado brasileiro produtor de leite em 2009 foi Minas Gerais com 7.931 bilhões de litros, representando 28% do total produzido no País, em segundo Rio Grande do Sul com 12%, em terceiro Paraná com 12% e em quarto Goiás com 10%, como pode ser observado na Figura 1 (BRASIL, 2010b).

FIGURA 1 – Distribuição dos dez maiores produtores de leite do Brasil em 2009
Fonte: BRASIL, 2010b

Desta forma, o Estado de Goiás está incluído neste contexto como uma das principais regiões produtoras de leite do Brasil (GOMES, 2009; BRASIL, 2010b), enquadra-se como o estado que mais produz leite na região Centro-Oeste (BRASIL, 2009a; BRASIL, 2009b). As indústrias de laticínios encontram-se distribuídas por todo o estado, porém se concentram nas mesorregiões centro e sul goiano (NOVAES, 2000; LIMA, 2006). Atualmente, as indústrias registradas encontram-se sob fiscalização federal (MAPA) e estadual (Agência Goiana de Defesa Agropecuária - AGRODEFESA). Já o serviço de inspeção municipal (SIM) em Goiás, não possui dados a respeito do assunto, pois fica a critério de cada prefeitura, a sua fiscalização.

Segundo dados fornecidos em consulta ao MAPA/Superintendência de Goiás, no referido estado existiam em 2009, aproximadamente 126 estabelecimentos cadastrados em seu sistema, dentre estes; postos de refrigeração, fábrica de laticínios e usinas de beneficiamentos, existiam também dez empresas que produziam leite pasteurizado e oito que produziam leite UHT (Ultra High Temperature) também chamado de leite “longa vida” e UAT (Ultra Alta

Temperatura), porém, no momento da realização da coleta de amostras em 2010 apenas 94 estabelecimentos estavam em atividade, nove estavam produzindo leite pasteurizado e sete, leite UHT (a diminuição do número de empresas pode ser explicada pelas exigências quanto à fiscalização do estabelecimento, crise no setor lácteo e fusão de empresas de laticínios).

A partir do leite é possível a elaboração de diversos derivados, agregando valor ao produto. Os processos tecnológicos pelo qual o leite passa permite a elaboração de queijos, doces, iogurtes e muitos outros produtos. A maior parte do leite produzido no Brasil se destina ao mercado de leite fluido e a produção de derivados lácteos (principalmente queijos). Dentro do segmento de leite fluido, o leite “longa vida” (UHT) tem se apresentado com maior expressividade (GOMES et al., 2001), presente em 80% dos domicílios brasileiros, enquanto o pasteurizado é consumido com freqüência em apenas 49% dos domicílios. O “longa vida” representa 75% do mercado de leite fluido formal (ABLV, 2009).

A facilidade que este alimento possui tanto pela sua embalagem, garantia de valor nutricional, facilidade no transporte, acondicionamento, disponibilidade no mercado e preço competitivo, o torna um alimento cada vez mais consumido, relacionando o denominado leite “longa vida” à significativa contribuição na ampliação do mercado de leite no Brasil, comparado ao leite pasteurizado (ABLV, 2009).

Segundo BRASIL (1996), BRASIL (1997) e PRATA (1998) o leite “longa vida” caracteriza-se por uma substância homogeneizada, submetida a um processo térmico de fluxo contínuo por dois a quatro segundos, sob temperatura de 130ºC a 150ºC, sofrendo redução de temperatura de até 32°C, e envase sob condições assépticas em embalagens esterilizadas e hermeticamente fechadas. O leite UHT se difere do leite pasteurizado no processamento e não na origem, o leite pasteurizado recebe apenas o tratamento térmico de pasteurização de 72 a 75 °C por 15 a 20 segundos.

O leite UHT pode ser encontrado na forma integral, desnatado ou semi-desnatado, sendo armazenado em embalagem cartonada hermeticamente fechada. Este procedimento que impede a proliferação de microrganismos, permite o armazenamento em temperatura ambiente até ser consumido,

garantindo assim, uma longa vida na prateleira deste produto (PRATA, 1998; PRATA, 2001; ABVL, 2009). O leite pasteurizado pode ser classificado quanto ao teor de gordura, podendo ser integral, padronizado, semi-desnatado ou desnatado. Devendo o leite UHT e pasteurizado se enquadrarem nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos estabelecidos pelas legislações vigentes no país. (POLEGATO & RUDGE, 2003).

Ao longo das décadas, os alimentos consumidos e os hábitos alimentares têm mudado rapidamente, pois a vida moderna imprimiu novos ritmos e conceitos no cotidiano das pessoas. Assim nos últimos anos, a questão da qualidade e segurança alimentar dos alimentos tem se tornado um tema muito importante, com relação à saúde pública (RINALDI et al. 2010).

O termo qualidade é definido pela *International Standards Organization* (ISO)-*2007* como sendo a totalidade das características de um produto ou serviço com capacidade de satisfazer as necessidades exigidas. Já a expressão "segurança do alimento" ou "alimento seguro" está relacionada ao termo inglês *food safety,* que é "a garantia do consumidor adquirir um alimento com atributos de qualidade que sejam de seu interesse, entre os quais se destacam os atributos ligados à sua saúde e segurança". Está ligado ainda ao fornecimento do alimento em qualidade suficiente, seguro e nutritivo e que atenda às necessidades e preferências, necessárias para uma vida ativa e saudável (FAO, 2010).

Na cadeia produtiva de lácteos, a questão da qualidade e segurança alimentar gera grandes desafios, pois é necessário alcançar e sustentar padrões de identidade e qualidade em toda a cadeia produtiva, de forma competitiva. O setor vem sendo pressionado cada vez mais, pelos consumidores, a oferecer produtos de excelência, respeitando os requisitos ligados à inocuidade dos alimentos (BRITO & DIAS, 1998).

Na indústria de alimentos a qualidade está diretamente relacionada ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC, em inglês Hazard Analysis of Critical Control Points - HACCP (TRONCO, 1997). A APPCC é definida como um conjunto sistemático de atividades utilizadas para o controle da produção de alimentos, tendo como finalidade garantir a segurança alimentar (CASTRO et al., 2002). Desta forma, o objetivo do sistema é prevenir a ocorrência de riscos ao consumidor (ALMEIDA, 1998), bem como evitando alterações nos

alimentos, utilizando práticas de controle em determinadas etapas da produção, nas quais se tem maior probabilidade de ocorrência de perigos ou situações criticas (SILVA, 1999).

A qualidade do leite é definida por características relativas à sua composição, aspectos físico-químicos e microbiológicos, além do estado de higiene e sanidade do rebanho, que envolve desde a saúde animal até as boas práticas de manejo, passando pela ordenha, refrigeração, acondicionamento, transporte, beneficiamento e embalagem, até chegar à distribuição final do produto para sua comercialização (BRITO & DIAS, 1998; OLIVEIRA et al., 1999). Assim os critérios mais importantes para a definição do leite de boa qualidade incluem: o sabor agradável e característico, alto valor nutritivo, baixa carga microbiana, inexistência de agentes patogênicos e outros contaminantes como os resíduos de antibióticos, carrapaticidas, pesticidas, metais pesados e desinfetantes (BRITO, 2000; SANTOS & FONSECA, 2001; SANTOS, 2003; DURR et al., 2006).

A implementação de um procedimento de controle de resíduos químicos na produção é fundamental, visto ser este o único momento possível de se evitar a ocorrência, seja de resíduos de drogas veterinárias ou mesmo de toxinas fúngicas no leite. As etapas posteriores da cadeia produtiva de lácteos não são capazes de reduzir ou inativar tais compostos, quando, uma vez, presentes (LEME, 2005).

2.2 Legislação Brasileira Direcionada à Qualidade do Leite

A legislação sanitária e os órgãos de fiscalização são o alicerce básico da segurança dos alimentos, cujo controle é feito sistematicamente na sua produção, como também no comércio varejista (RINALDI et al., 2010). A legislação sanitária, assim como as boas práticas de produção, fabricação e manipulação têm o intuito de garantir que o alimento esteja próprio para o consumo, evitando a contaminação durante a sua produção e na exposição à venda para o consumidor (SANTOS, 1995).

No Brasil, os órgãos responsáveis pela prévia inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal, de que trata a Lei nº. 1.283, de 18 de dezembro de 1950, é da competência da União, dos Estados, do Distrito Federal e dos Municípios. Desta forma, o MAPA é responsável por realizar a fiscalização,

nos estabelecimentos que fazem comércio interestadual ou internacional, as Secretarias de Agricultura dos Estados, do Distrito Federal e dos Territórios, nos estabelecimentos que fazem comércio intermunicipal, as Secretarias ou Departamentos de Agricultura dos Municípios, nos estabelecimentos que fazem comércio municipal e os órgãos de saúde pública dos Estados como a Vigilância Sanitária, do Distrito Federal e dos Territórios, nos estabelecimentos que fazem a comercialização do produto acabado.

A legislação relacionada à agropecuária, no Brasil é de responsabilidade do MAPA, por intermédio da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) devendo: planejar, normatizar, coordenar e supervisionar as atividades de defesa agropecuária; fiscalizar e inspecionar os produtos, derivados, subprodutos e resíduos de origem animal e vegetal; fiscalizar insumos agropecuários; fiscalizar a questão higiênico-sanitária dos serviços prestados na agricultura e na pecuária; realizar análises laboratoriais como suporte às ações de defesa agropecuária e emitir certificação sanitária animal e vegetal (BRASIL, 2007).

Uma das primeiras e importantes legislações federais relacionadas a inspeção do leite é o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), nele determinou-se a classificação do leite pasteurizado em tipos A, B e C, de acordo com o sistema produtivo, tipo de instalações para a ordenha, controle sanitário do rebanho e padrões microbiológicos e físico-químicos do leite (BRASIL, 1952).

Em 1996 foi criado pelo MAPA, o Programa Nacional da Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), que trouxe em 2002 a publicação da Instrução Normativa n° 51. Esta instrução foi criada para normatizar e harmonizar, em termos de legislação o leite na cadeia produtiva brasileira, contemplando os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite produzido no país. Este documento definiu os procedimentos para a coleta do leite cru refrigerado e seu transporte a granel, determinou novos requisitos para a qualidade e inocuidade dos leites tipo A, B e C e definiu leite pasteurizado, estabelecendo seus parâmetros microbiológicos e físico-químicos (BRASIL, 2002).

Vários países e blocos econômicos, vêm implementando medidas restritivas e padrões de importações que visam assegurar que suas populações tenham acesso a alimentos em quantidade, qualidade e segurança, para que

sejam seguros do ponto de vista de saúde pública. Os padrões e requisitos restritivos vêm a cada dia sendo impostos a países produtores e fornecedores de alimentos, como o Brasil.

Diante de tal exigência, o governo brasileiro se vê obrigado a levar em consideração a imposição dos países importadores dos produtos de origem animal, principalmente da União Européia (UE) que atualmente é um dos maiores importadores do Brasil, e exige o cumprimento das regras do comércio internacional de alimentos, preconizadas pela Organização Mundial do Comércio (OMC) e órgãos auxiliares, e a busca pela produtividade e qualidade dos alimentos de origem animal destinado ao consumo interno.

No mundo moderno, grande parte da segurança alimentar repousa no controle de remanescentes residuais nos alimentos em decorrência do uso de pesticidas e medicamentos veterinários, ou por acidentes envolvendo contaminantes ambientais. Em razão destes riscos é que não se deve deixar o consumidor a mercê da nocividade de resíduos e contaminantes. Deve ser feito o controle e monitoramento dos resíduos e contaminantes presentes nos produtos de origem animal (BRASIL, 1999).

Os contaminantes físico-químicos, potencialmente presentes no leite, não poderiam ficar de fora dos requisitos necessários para se ter um leite de qualidade. Desta forma, o MAPA se utiliza de ferramentas para controlar os resíduos e contaminantes no leite, dentre estas ferramentas temos: a Instrução normativa n° 51, 18 de setembro de 2002; o RIISPOA de 1952; e o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) de 1979.

No RIISPOA está prevista a proibição do uso de substâncias químicas na conservação do leite (BRASIL, 1952), como os antimicrobianos, já na Instrução Normativa n° 51 do MAPA, determina-se que deve ser realizado a pesquisa periódica de resíduos de antibióticos no leite, não sendo estes superiores aos Limites Máximos de Resíduos (LMR's), previsto para cada tipo de grupo químico, seguindo os parâmetros do *Codex Alimentarius*. E que seja utilizado *kit* rápido de detecção de resíduo de antibiótico.

O Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal (PNCRB) foi instituído pela Portaria Ministerial n° 86 de 26 de

janeiro de 1979 e Portaria Ministerial n° 51 de 06 de fevereiro de 1986 (BRASIL, 1986), sendo alterado pela Instrução Normativa n° 42 de 20 de dezembro de 1999 do MAPA. Em 2007 passou a se chamar Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), sendo que a cada ano, são publicadas instruções normativas referentes às drogas a serem pesquisadas e seus respectivos Limites Máximos de Resíduos (LMR) e resultados obtidos (FEIJÓ, 2009).

Um dos objetivos do PNCRC é tornar-se parte integrante do esforço destinado à melhoria da produtividade e da qualidade dos alimentos de origem animal, colocados à disposição da população brasileira, e secundariamente, proporcionar à nação, condições de se adequar do ponto de vista sanitário, às regras do comércio internacional de alimentos, preconizadas pela Organização Mundial do Comércio (OMC), *Codex Alimentarius* e órgãos auxiliares. O objetivo em particular PNCRC/Leite (PNCRCL) é a garantia da produção e da produtividade leiteira no território nacional, bem como o aporte dos produtos similares importados. Suas ações estão direcionadas para conhecer e evitar a violação dos níveis de segurança ou dos LMR's de substâncias autorizadas, bem como a ocorrência de quaisquer níveis de resíduos de compostos químicos de uso proibido no país (BRASIL, 1999).

A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Food and Drugs Administration (FDA) dos Estados Unidos, estabelecem as diretrizes para o Limite Máximo de Resíduo (LMR) definidos como a concentração máxima de resíduo resultante do uso de um medicamento veterinário, que é legalmente permitido, sendo o valor do LMR correlacionável à Ingestão Diária Aceitável (MITCHELL et al., 1998). No Brasil, para medicamentos veterinários, vem-se utilizando os LMR do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) do MAPA, que se apresenta descrito no Quadro 1 (BRASIL, 1999).

QUADRO 1 – Antimicrobianos a serem monitorados no Brasil e seus LMR's

	Drogas	Matriz	Método Análitico	LQ/MIC (mg/kg)	LMR/NA* (mg/kg)	Amostras	Laboratório
Antimicrobianos	Penicilina Estreptomicina Tetraciclina (a) Eritromicina Neomicina Oxitetraciclina(a) Clortetracilina(a) Ampicilina Amoxicilina Ceftiofur	Leite	ELISA CLAE-UV	NE NE NE NE NE NE NE NE NE NE	4 200 100 40 500 100 100 4 4 100	200	LARA/RS LARA/MG
	Sulfametazina (b) Sulfadimetoxina (b) Sulfatiazol(b)	Leite	ELISA CCD-DST CLAE - UV	10 10 NE	100	100	LARA/RS LARA/MG LARA/SP
	Cloranfenicol	Leite	ELISA CLAE - UV	5 (i)	5* (ii)	100	LARA/MG LARA/RS LARA/SP

(*) NA - Nível de ação LQ - Limite de Quantificação
NE - Não estabelecido LMR - Limite Máximo de Resíduo
MIC - Concentração Mínima Inibitória
(a) Somatório de todas as Tetraciclinas
(b) Somatório de todas as Sulfonamidas
(c) O LMR é expresso em 22,23- Dihidro -Avermectina B1a
(d) Somatório de Heptacloro e Heptacloro Epóxido
(e) Somatório de Nonacloro e Oxiclordane

Fonte: BRASIL, 1999

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e a FAO, através do *Codex Alimentarius*, estabeleceram LMR's de antibióticos e outros contaminantes nos alimentos. Que se dão a partir de acurados estudos toxicológicos, de curto, médio e longo prazo, realizados por pesquisadores em animais de laboratórios, microrganismos e genomas celulares. Este LMR's é estabelecido como sendo a concentração máxima do resíduo que é legalmente permitida (SANTOS, 2003). A ingestão de antibiótico acima do limite máximo de tolerância aprovado pela legislação para leite cru, torna-o impróprio para o consumo (BRANDÃO, 2000).

Para garantir um nível elevado da proteção do consumidor, as legislações requerem que a toxicidade de potenciais resíduos seja avaliada antes que esteja autorizado o uso de um pesticida a campo ou de um medicamento veterinário, nos animais produtores de alimentos. Caso sejam necessários, são

estabelecidos os LMR's e, em alguns casos, o uso das substâncias é proibido (UE, 2009).

De acordo BRASIL (1999), de um modo geral, nos programas dos diferentes países, os resíduos e contaminantes são incluídos no monitoramento oficial considerando:

- se a substância deixa resíduo;
- a toxicidade do resíduo para a saúde do consumidor;
- o potencial de exposição da população ao resíduo, referenciado pelos hábitos alimentares e poder aquisitivo das populações, pelos sistemas de criação e de tecnologias utilizadas na produção de carne e alimentos para animais e, pela poluição ambiental;
- o potencial do mau emprego das drogas que resultam em resíduos, evitado pela utilização de boas práticas agrícolas e pecuárias, especialmente quanto ao uso correto de agrotóxicos e medicamentos veterinários (indicação, dose, via de administração, tempo de carência e descarte das embalagens, entre outras);
- disponibilidade de metodologias analíticas adequadas, confiáveis, exeqüíveis e compatíveis com os recursos laboratoriais;
- superveniência de implicações do comércio internacional, participação do país em blocos econômicos e problemas que tragam riscos à saúde pública;
- os resíduos que possam constituir barreiras às exportações de produtos de origem animal.

A seleção das drogas objeto do PNCRCL, assim como para os outros programas está baseada na observação dos seguintes itens:

- droga com probabilidade alta de exposição para os seres humanos. Representa um perigo grave para a saúde;
- droga com probabilidade moderada de exposição a seres humanos. É um perigo moderado para a saúde;
- droga com probabilidade baixa de exposição a seres humanos. Compreende um baixo perigo para a saúde;
- droga com probabilidade mínima de exposição há seres humanos. Revela um perigo mínimo para a saúde;

- droga com informação insuficiente para estimar a probabilidade de exposição. Significa a designação de compostos para os quais não há informação suficiente que permita utilizar uma avaliação toxicológica ou farmacológica adequada.

Os antimicrobianos a serem pesquisados no ano de 2010 são: clortetraciclina, oxitetraciclina, tetraciclina, sulfatiazol, sulfametazina, sulfatimetoxina e cloranfenicol (BRASIL, 2010c). O número de amostras de leite *in natura* a serem coletadas no ano de 2010 para a realização das análises é de 150 para o grupo das tetraciclinas, 100 para sulfonamidas e 75 cloranfenicol, totalizando 325 amostras coletadas em todo o Brasil. Os LMR's para 2010 são de 100 µg/kg ou µg/L para o grupo das tetraciclinas e sulfonamidas. O cloranfenicol que anos atrás teve o seu uso proibido em vacas destinadas à produção leiteira tem o LMR da ordem de 0,30 µg/kg ou µg/L. Todos estes dados podem ser observados no Quadro 2.

O PNCRCL teve inicio em 2002 com a coleta de produtos industrializados, como o leite pasteurizado e UHT. Em 2003 o programa foi paralisado e em 2004 retornou. Atualmente o programa analisa apenas amostras de leite *in natura* de estabelecimentos sob inspeção federal. É realizado o sorteio da empresa de onde a amostra deve ser coletada, entrando no sorteio todas as empresas do Brasil sob inspeção federal (BORGES, 2009; FEIJÓ, 2009). Porém, as amostras coletadas são poucas, não levando em consideração: a quantidade de leite produzido no Brasil; em cada Estado ou a quantidade de leite recebido pelas empresas.

Para o PNCRCL, o que se observa nos resultados, é que desde 2005 até 2010 nenhum antimicrobiano pesquisado nas amostras coletadas pelos Fiscais Federais Agropecuários (FFA's) apresentou-se acima do LMR. Contudo, a pesquisa evidencia-se que nas instruções normativas não foram especificados quais as drogas que foram pesquisadas, apresentando somente as classes de antibióticos.

QUADRO 2 – Antibióticos, outros resíduos e contaminantes a serem monitorados pelo PNCRCL/2010

Grupo	Analito	Matriz	LIMITE DE REFERÊNCIA* (µg/L)	Nº de Itens de ensaio
Micotoxinas	Aflatoxina M1	LEITE	0,5	100
Pesticidas Organoclorados e PCBs # #	Aldrin	LEITE	6	45
	Alfa-HCH		4	
	Lindane		10	
	HCB		10	
	Dieldrin		6	
	Endrin		2	
	Heptacloro (d)		4	
	DDT e Metabólitos		40	
	Clordane (e)		2	
	Mirex		2 *(IV)	
	Metoxicloro		10	
	PCBs		2 *(IV)	
Antiparasitários	Abamectina (e)	LEITE	10 *(II)	70
	Doramectina		15	
	Eprinomectina		20	
	Ivermectina (f)		10	
	Moxidectina		10	
	Albendazol		100	75
Antimicrobianos	Clortetraciclina	LEITE	100	150
	Oxitetraciclina			
	Tetraciclina			
	Sulfatiazol (b)	LEITE	100	75
	Sulfametazina (b)		100	
	Sulfadimetoxina (b)		100	
	Cloranfenicol	LEITE	0,30 *(III)	60
Carbamatos	Carbaril	LEITE	20	75
	Carbofuran		100	
	Metomil		20	
	Propoxur		50	
	Aldicarb		10	
	Oxamil		50	
	Metiocarb		50	
Organofosforados	Clorpirifos Etil	LEITE	10	75
	Clorpirifos Metil		10	
	Diazinon		10	
	Metamidofós		10	
	Mevinfós		50	
	Acefato		20	
	Pirimifós Metil		50	
	Paration		20	
	Pirimifós Etil		20	
	Metidation		20	
	Azinfós Metil		50	
	Azinfós Etil		50	

O resultado expresso no Certificado Oficial de Análise refere-se à concentração do analito no leite

Calcula-se a porcentagem de gordura na amostra e converte-se o resultado

Fonte: BRASIL (2010c)

2.3 Resíduos de Antimicrobianos no Leite e a Mastite

De acordo com SPINOSA (1999) e BRITO (2000) os agentes antimicrobianos são substâncias específicas (desinfetantes e antissépticos) ou inespecíficas (quimioterápicos e antibióticos) utilizadas para inibir o crescimento ou inativar os microrganismos que se estabelecem em um organismo vivo, quer sejam eles patogênicos ou não.

A presença de resíduos de antimicrobianos como sanitizantes, antibióticos ou quimioterápicos, presentes no leite consumido, possuem várias origens. Porém existem duas principais: a primeira e mais importante proveniente do tratamento de doenças, sendo a principal a mastite, e a segunda se dá devido à adição de quimioterápicos no leite por produtores, sendo dita como fraude (RUIZ et al., 1992; BRANT & FIGUEIREDO, 1994; ALLISON, 1995).

Os resíduos de desinfetantes e antissépticos podem estar presentes no leite em decorrência de procedimentos inadequados de desinfecção e/ou anti-sepsia de utensílios, equipamentos e recipientes ou por acidente tecnológico, ou ainda, pela adição intencional, na tentativa de prolongar e/ou garantir o tempo de vida do produto, como resultado de fraude, para mascarar a má qualidade do leite (GELLI et al., 1984).

Durante a vida, os animais podem ser tratados com medicamentos veterinários para prevenção ou tratamento de doenças, tornando-se indispensável (COELHO & COSTA, 2002; SANTOS, 2003). Em animais produtores de alimentos, tais como bovinos, suínos, aves e peixes, estes medicamentos podem deixar resíduos nos produtos derivados destes animais, se as boas práticas agropecuárias não forem seguidas (UE, 2009).

Desta forma, JONES & SEYMOUR (1988) relacionaram várias causas para a constatação da presença de resíduos de antimicrobianos no leite como: tratamentos aleatórios; problemas ou falhas na identificação dos animais tratados; ausência de separação de vacas em tratamento no momento da ordenha; uso de dosagens múltiplas; uso de dosagem acima da recomendada; falhas na observação ou não cumprimento dos períodos de carência dos antimicrobianos administrados; uso de medicamentos por períodos muito prolongados ou

excessivos; uso de medicamentos com períodos de excreção prolongados; descarte do leite apenas dos quartos tratados; mistura acidental de leite não contaminado com leite contaminado; uso de equipamentos de ordenha contaminados; vacas que tiveram seu período seco reduzido ou parto precoce; uso indevido de medicamento destinado a vacas secas em vacas lactantes.

Entretanto, deve-se levar em consideração, alguns fatores que influenciam na ocorrência de resíduos no leite cru como: *status* sócio-econômico-cultural do produtor (a falta de alimentos, a desnutrição infantil, o tipo de situação tecnológica e financeira das unidades produtoras de leite e o desconhecimento do risco que representa a contaminação do leite com resíduo de antimicrobiano para a saúde do consumidor, podem servir como justificativas para o aproveitamento do leite de todos os quartos da glândula mamária de animais com mastite e submetidos ao tratamento com tais substâncias), do estado de saúde da glândula mamária e conseqüentemente da necessidade do uso dos antimicrobianos (LEME, 2005).

Os antibióticos são produzidos naturalmente, total ou parcialmente por seres vivos, em sua maioria fungos*,* já os quimioterápicos são substâncias sintetizadas em laboratório (ALTERTHUM, 1999; BRITO, 2000). Segundo TORTORRA et al., 2000, esta distinção nem sempre pode ser observada. Desde 1950, os antimicrobianos amplamente utilizados na pecuária são para fins terapêuticos, profiláticos e para aumento da produtividade, isto é, como aditivos zootécnicos ou de alimentação (EVANGELISTA, 1994). Porém, ao longo do tempo o uso de antimicrobianos na nutrição animal, passou a ser questionado, sendo considerado fator de risco para a saúde animal e humana (MENTEN, 1993; PALERMO NETO, 2001).

Conforme MITCHELL et al. (1998), os antimicrobianos mais utilizados em animais de produção podem ser divididos em cinco classes incluindo os β-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), as tetraciclinas (oxitetraciclinas, tetraciclinas e clortetraciclina), os aminoglicosídeos (estreptomicina, neomicina e gentamicina), os macrolídeos (eritromicina) e as sulfonamidas (sulfametazina).

O leite produzido pela glândula mamária é obtido a partir de elementos que passam da corrente sanguínea para as células especializadas desta glândula, porém neste momento, medicamentos veterinários como os

antibióticos, que anteriormente tenham sido administrados no animal, em decorrência de tratamento de doenças, podem passar para o leite (SANTOS, 2003). Conforme DIETRICH (2008) a contaminação de antibióticos em leite é avaliada em partes por bilhão (ppb), o que significa dizer que uma dose de 500 mg de antibióticos aplicada em um animal poderá contaminar até 100 mil litros de leite.

Segundo FONSECA & SANTOS (2001) e COELHO & COSTA (2002) qualquer antibiótico utilizado em vacas por qualquer via de aplicação, seja intramamária, intramuscular, intra-uterina, oral, dieta ou pela pele pode resultar em resíduos no leite. No processo de formação do leite elementos como: proteínas, carboidratos, gorduras, sais minerais e água se integram ao sangue bem como os antibióticos administrados aos animais. Os elementos do leite e os antibióticos são absorvidos da corrente sanguínea pelas células de secreção do alvéolo da glândula mamária, produzindo o leite contaminado. O alvéolo apresenta todas as estruturas necessárias para a síntese e escoamento do leite, se houver antibiótico na corrente sanguínea, o mesmo estará no leite. O esquema da anatomia do alvéolo da glândula mamária de vaca está representado na Figura 2. Assim o tratamento de um único quarto mamário com mastite resulta na passagem do antibiótico via sanguínea para o leite presente nos outros quartos, o leite de todos os quartos deve ser descartado durante o período em que houver a presença de resíduos da droga.

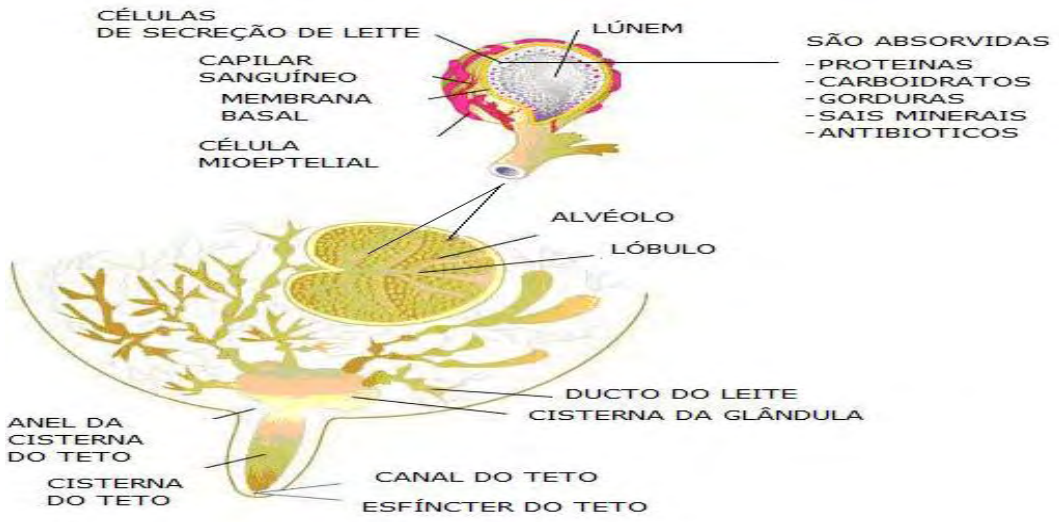


FIGURA 2 – Principais regiões e tecidos que compõem o úbere de vacas
Fonte: Modificado de DELAVAL (2009)

Os principais fatores que afetam a taxa de eliminação e a presença de antibióticos no leite destacam-se: a quantidade de leite produzida pelo animal e o intervalo de tempo entre o tratamento e a ordenha, os tipos de antibióticos e veículos utilizados, as vias de aplicação e as doses administradas (COSTA et al., 1999; RAIA JUNIOR, 2001). Porém, as alterações fisiopatológicas por que passa a glândula mamária, podem interferir com a farmacocinética dos antimicrobianos, favorecendo sua eliminação através do leite. Visto que, existe nessas condições uma maior difusão do composto do sistema circulatório para o parênquima da glândula (COSTA et al., 2000).

GERMANO & GERMANO (1995), COSTA (1996) e FONSECA & SANTOS (2000) definiram a mastite como sendo a inflamação da glândula mamária. A mastite se caracteriza por causar alterações significativas na composição do leite e pelo aumento na sua concentração de células somáticas (células brancas do sangue da circulação periférica do úbere que são estimuladas pelas toxinas dos agentes causadores da mastite), tem sido considerada, em todo o mundo, a doença de maior impacto nos rebanhos leiteiros, devido à elevada prevalência e aos prejuízos econômicos que determina.

As perdas provocadas pelo processo infeccioso vão estar de acordo com o grau de intensidade do processo inflamatório e do estágio de lactação em que ocorre a infecção (SILVA & ARAÚJO, 2008). COSTA (1996), COELHO & COSTA (2002) e SANTOS & FONSECA (2007) definiram que de acordo com a manifestação da infecção, as mastites são classificadas como clínica ou subclínica. A forma subclínica tem maior prevalência, sendo responsável pela maioria das perdas econômicas. A mastite subclínica caracteriza-se pela ausência de alterações visíveis no leite ou no úbere, responsável pela queda na produção, mudanças na composição do leite, aumento na contagem de células somáticas, aumento nos custos de produção e, conseqüentemente, redução da qualidade do leite.

No Brasil, pode-se afirmar que a mastite subclínica está presente em todos os rebanhos leiteiros (MACHADO et al., 2000). No Estado de Goiás, a grande incidência de mastite no rebanho, talvez possa ser explicada pela inexistência de um programa específico de controle e pela inobservância das formas de diagnósticos corretos, que poderiam resultar em diminuição de seus

índices e do uso indiscriminado de antibióticos (MOREIRA, 1997). Segundo PELEGRINO et al. (2008) a mastite continua sendo um dos principais problemas para a pecuária leiteira, tendo em vista os graves prejuízos acarretados, quer seja pela diminuição da produção ou pela perda dos tetos afetados, demonstrando a importância da prevenção e do controle. A escolha de um eficiente método de diagnóstico, e a contagem de células somáticas é essencial nesta tarefa.

Denomina-se mastite clínica os casos da doença nos quais existem sinais evidentes de manifestação, como edema da glândula mamária, hiperemia, presença de grumos no leite, sendo causados, na maioria das vezes, por estreptococos, estafilococos e coliformes (PHILPOT & NICKERSON, 2002; COELHO & COSTA, 2002).

SAVILLE et al. (2000) confirmaram o conceito existente de que, à medida que há aumento da CCS no rebanho, significa maior ocorrência de mastite subclínica, assim maior é a probabilidade de serem encontrados resíduos de antibióticos no leite. Esta probabilidade é cerca de cinco vezes maior nos rebanhos com CCS superior a 750.000 células/mL que nos rebanhos com baixa CCS, uma vez que em rebanhos com alta CCS, uma das medidas utilizadas para a redução da incidência de mastite é justamente o uso de tratamento com antibióticos.

Conforme SANTOS (2003) uma das formas de se evitar este problema, é orientar os produtores para que evitem a presença dos resíduos de antibióticos no leite. Que respeitem o período de carência, quando utilizar os medicamentos com recomendações especificadas. Entende-se por período de carência o período de tempo no qual o medicamento é eliminado no leite, após a última aplicação da droga no animal, sendo que o leite não deve ser consumido, pois apresenta níveis de resíduos de medicamentos. Além disso, segundo GIBBONS BURGENER et al. (2000) a fiscalização deve dispor de meios para avaliar a qualidade do leite.

A implantação de um correto manejo de ordenha é de extrema importância para o controle da mastite, independente do tipo de equipamento utilizado e do tamanho do rebanho. A conscientização por parte dos produtores com relação aos prejuízos causados pela doença, a adoção das medidas

preventivas e de controle farão com que a enfermidade do rebanho não afete economicamente sua produção (SILVA & NOGUEIRA, 2010).

Segundo BRASIL (2009b) o tratamento da vaca seca é muito importante para a redução da mastite subclínica do rebanho, e para reduzir novas infecções que venham ocorrer nas primeiras semanas e no restante do período seco. Ainda, BRASIL (2009b) ressalta que as concentrações maiores de antibióticos podem ser adotadas no período seco, o que além de aumentar a taxa de cura da mastite subclínica, minimiza consideravelmente o risco da contaminação do leite com resíduos de antibióticos.

2.4 Resíduos de Antimicrobianos x Riscos à Saúde Pública e Qualidade dos Derivados

Os perigos potenciais dos produtos lácteos à saúde humana estão normalmente relacionados às falhas de pasteurização, consumo de leite cru ou de produtos fabricados sem tratamento térmico, contaminação dos produtos lácteos por patógenos resistentes aos processamentos utilizados, contaminação química ou ainda, as zoonoses (RUEGG, 2003). Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, s.d) a contaminação dos alimentos por substâncias químicas perigosas é motivo de preocupação para a saúde pública em todo o mundo, sendo, portanto, um dos principais problemas do comércio internacional.

Segundo o *Codex Alimentarius* (1993) estudos realizados em todo o mundo, concluíram que a ingestão de resíduos de antibióticos no leite pode ocasionar sérios problemas ao homem, estando relacionado às reações toxicológicas, hipersensibilidade e possível choque anafilático (RUIZ et al., 1992; COSTA, 1996; PAIGE, 1998; COELHO & COSTA, 2002), seleção de cepas bacterianas mais resistentes no meio e transmissão para as gerações futuras (COSTA, 1999; SPINOSA et al., 1999; BARBERIO et al., 2002; COELHO & COSTA, 2002), desequilíbrio da flora intestinal e discrasias sanguíneas. Estima-se que 10% da população mundial apresentam reação de hipersensibilidade a penicilina (BRASIL, 1999; MARTINS & VAZ, 2000). Vale enfatizar que as alergias causadas pela presença de resíduos de antibióticos no leite, podem acarretar

sintomas, como: erupções eczematosas, ou vesicular e erupções em locais como a boca e pele (FAGUNDES, 1997).

Conforme PESSANHA & GONTIJO FILHO (2001) e BARBERIO et al., (2002), a resistência dos microrganismos frente aos antimicrobianos vem aumentando significativamente, devido ao uso incorreto ou indiscriminado de antimicrobianos tanto em medicina humana, quanto animal. E uma vez o microorganismo resistente este pode circular e se disseminar por período que vai de um a três anos.

O uso inadequado de antimicrobianos pode, ainda, promover pressão de seleção, favorecendo o aparecimento de um desequilíbrio na microbiota natural do trato grastrointestinal (TGI) dos animais, gerando distúrbios e conseqüentemente queda na produção (SOUZA, 1998; BRITO & DIAS, 1998; BRITO, 2000). Como exemplo de resistência a antimicrobianos, pode-se citar que estirpes de *S. aureus* isoladas do leite de vacas com mastite em diferentes partes do mundo, como Espanha, Inglaterra, Índia e até do Brasil, mostraram-se resistentes à penicilina em diferentes porcentagens (ARAUJO, 1998).

Para COSTA (1999), a idade do indivíduo exposto a contaminação é muito importante para o aparecimento de reações adversas. Deve-se atentar para a presença de resíduos de antimicrobianos no leite, por ser este o alimento mais consumido por crianças, gestantes e idosos (exatamente os grupos mais susceptíveis a estas reações adversas).

Para BRITO (2000) os principais danos toxicológicos causados ao homem pelos resíduos de antimicrobianos no leite são: carcinogênico, mutagênico e teratogênico. A ação carcinogênica dos resíduos de antibióticos leva a danos irreversíveis ao DNA (ácido desoxirribonucléico) contido nas células. De acordo com COSTA (1996) e BRITO (2000) a ação carcinogênica está envolvida com a presença de resíduos de cloranfenicol, sulfometazina e aos nitrofuranos no leite. Já os danos causados aos componentes genéticos das células ou de organismos são chamados de ação mutagênica.

RUIZ et al. (1992) e NASCIMENTO et al. (2001) afirmaram que o consumo de antibióticos como: metronidazol, rifampicina, trimetropim, estreptomicina, sulfonamidas, cloranfenicol e tetraciclina, por gestantes pode causar ação teratogênica com efeitos tóxicos ao embrião ou feto.

Em virtude da sua toxicidade e capacidade de provocar anemia aplástica em indivíduos hipersensíveis, discrasia sanguínea, supressão reversível da medula e neurite óptica (COSTA, 1999; SPINOSA et al., 1999), o cloranfenicol foi proibido para uso veterinário no Brasil, através da Portaria Ministerial n° 448, publicada em 10 de setembro de 1998, pelo MAPA, (lei revogada pela Instrução Normativa n° 09 de 27 de junho de 2003, porém ainda proíbe o uso do cloranfenicol e nitrofuranos), por se considerar que resíduos potenciais na carne, leite e ovos, oferecem riscos para a saúde pública (BRASIL, 1998; BRASIL, 2003).

De acordo com RUIZ et al. (1992), COSTA (1996), SANTOS (2003), NUNES & D'ANGELINO (2007) os efeitos negativos da presença dos resíduos de antibióticos no leite foram identificados primeiramente pela indústria de laticínios, uma vez que foi verificada que os fermentos, que são culturas lácteas, usadas na fabricação de derivados, como iogurtes e queijos, não se desenvolvem bem no leite que continha resíduos de antibióticos, resultando em prejuízos financeiros e redução da qualidade dos derivados, penalizando o produtor.

A presença de antimicrobianos no leite favorece a multiplicação de microrganismos indesejáveis (coliformes e bactérias de putrefação), que se desenvolvem em pH próximo à neutralidade. A presença de antibióticos, inibindo ou retardando as culturas lácteas, pode propiciar a seleção de bactérias resistentes, tendo-se um produto de má qualidade (FAGUNDES, 1997).

FAGUNDES (1997) ainda relata que na indústria de produtos lácteos fermentados, como iogurtes, bebidas lácteas, queijos e manteiga a presença de resíduos de antimicrobianos na matéria-prima interfere com os processos de fermentação, altera os fatores de qualidade e impede a manutenção do padrão de identidade e qualidade dos produtos nas diferentes partidas e lotes.

ALDAMANA et al. (1997) determinaram a presença de resíduos de antimicrobianos, em queijos frescos no México, na cidade de Oaxaca, foram analisadas 76 amostras, sendo 47 (61,8%) positivas para resíduos de antimicrobianos, das quais 26 (34,2%), continham somente penicilina e 19 (25%) outros antimicrobianos.

Alguns pesquisadores relatam que os antimicrobianos resistem aos métodos de processamento e conservação do leite, como o calor e o congelamento, desta forma a pasteurização do leite não afeta a presença de

antimicrobianos, em alguns casos só modifica sua atividade constituindo risco para a saúde do consumidor e problemas para a indústria. (MEDEIROS et al., 1999). Como exemplo, a pesquisa realizada por SCHENCK & FRIEMAN (2000) que avaliaram a estabilidade da ampicilina no leite armazenado a 4°C durante seis dias e concluíram que não ocorreu alteração no resíduo de ampicilina.

Para reforçar este fato, BRITO & DIAS (1998) e MEDEIROS et al. (1999), afirmam que pasteurização e a ultrapasteurização (UHT), não inativam os resíduos de antimicrobianos, supostamente presentes no leite. A fervura foi capaz de inativar até 50% das penicilinas e 66% das estreptomicinas, mas inativou 90% das oxitetraciclinas e tetraciclinas, não demonstrando qualquer ação sobre cloranfenicol. Segundo estudo realizado por ROCA et al. (2010) comprovaram que as quinolonas (antimicrobiano) são muito resistentes a diferentes tratamentos térmicos.

VAN EGMOND et al. (2000), estudaram a estabilidade de 16 princípios ativos de antibióticos e constataram, que alguns dos princípios ativos testados, perderam sua capacidade inibidora, após um processo de esterilização (temperatura de 134ºC durante 20 minutos), como por exemplo: penicilina, amoxicilina, ampicilina, cloxacilina, oxitetraciclina, doxicilina, colistina, dihidroestreptomicina e sulfametazole, o que não ocorre nos processos de fabricação de leite fluido e derivados.

Segundo FAGUNDES & MOLIN (1988) e FONSECA & SANTOS (2000), no iogurte a presença de resíduos de antibióticos interfere na fabricação, pois afeta a fermentação láctea, ou seja, retarda a acidificação, com conseqüente desequilíbrio no desenvolvimento das bactérias formadores do “fermento lácteo”, o que resulta em um produto com sabor de peptona e aspecto anormal (exsudação de soro). No queijo, conforme relatado por FAGUNDES (1997), a presença de antimicrobianos no leite utilizado para fazer queijos, resulta em uma má dessora da coalhada, fermentação indesejada com produção de gás, sabor anormal, sem textura, frágil e má maturação do produto final.

A manteiga sofre interferência de resíduos de antibióticos durante seu processamento, com inibição parcial ou total da fermentação láctea e menor produção de diacetil, que é responsável pelo aroma do produto (AURVALLE, 1981)

Pesquisas realizadas no Brasil, com o intuito de determinar a presença de resíduos de antibióticos no leite também foram feitas, como a de ALBURQUERQUE et al. (1996), que analisaram leite cru comercializado na cidade de Fortaleza, Estado do Ceará, encontrando uma incidência de 69,7% das amostras contendo resíduos de antibióticos. Esta pesquisa foi realizada utilizando-se o método de difusão em disco.

LOPES et al. (1998), utilizaram o teste Delvotest®, para pesquisar 178 amostras de leite pasteurizado comercializados na cidade de Campinas - SP, relataram 14 amostras positivas (7,9%) para a presença de antimicrobiano, das quais 13 (14,1%) eram de leite A e uma (2,5%) de leite B.

BORGES et al. (2000) concluíram que das 533 amostras de leite pasteurizado padronizado analisadas no Estado de Goiás, cerca de 9,95% apresentaram resíduos de antibióticos, concluiu-se que a presença desses resíduos comprovam que os procedimentos sanitários padronizados, recomendados pelo SIF, não foram seguidos.

Já NASCIMENTO et al. (2001) observaram que das 96 amostras de leite analisadas na cidade de Piracicaba em São Paulo, após a utilização do método difusão em disco, cerca de 50% apresentaram resíduos de antibióticos.

BARROS et al. (2001) por meio de seus estudos encontraram cerca de 38,5% das amostras de leite pasteurizado tipo C coletadas na cidade de Salvador - Bahia, apresentavam resíduos de antibióticos.

Em 2001, algumas propriedades leiteiras dos Estados de São Paulo e de Minas Gerais foram pesquisadas por RAIA JÚNIOR (2001) que, ao analisar 60 amostras de leite dos tanques de resfriamento, com o teste Delvotest®, encontrou nove amostras positivas (15%) para a presença de resíduos de antimicrobianos.

ROSÁRIO (2002) pesquisou a ocorrência de resíduos de antimicrobianos em 193 amostras de leite pasteurizado e UHT, comercializados na cidade de Pirassununga - SP, utilizou o Snap test e, obteve duas amostras positivas (2,17%) para a presença de β-lactâmicos, sendo uma de leite A e uma de leite C; e 14 amostras positivas (7,25%) para a presença de tetraciclinas, sendo seis de leite B, seis de leite UHT, uma de leite A e uma de leite C.

MEDEIROS et al. (2004) detectaram 43,33% das 30 amostras de leite cru coletadas na cidade de Patos na Paraíba com presença de resíduo de

antimicrobiano. Já TETZNER et al. (2005) observaram que a prevalência de resíduos de antibióticos (beta-lactâmicos) em amostras de leite cru na região do Triângulo Mineiro foi da ordem de 33%. LEME (2005) detectou no leite pasteurizado 0,40% de amostras com resíduos de antimicrobianos, de um total de 1200 amostras e 0,26% de amostras de leite UHT com resíduos, de um total de 300 amostras, todas coletadas na cidade de São Paulo.

NERO et al. (2007) pesquisaram em 210 amostras de leite cru, em quatro regiões produtoras de leite do Brasil: Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul, detectando a presença de resíduos de antibióticos em 11,4%, indicando perigo químico. Já MACEDO & FREITAS (2009), detectaram em 103 amostras de leite cru de propriedades rurais do Estado do Pará 10, 68% das amostras positivas para a presença de resíduos de antibióticos.

Frente ao exposto, os autores acima citados, concluíram em seus estudos, que a presença de resíduos de antibióticos em leite produzido no Brasil pode ser considerada preocupante, o que demonstra elevado risco potencial para a saúde coletiva. De modo geral o que se conclui das diversas pesquisas desenvolvidas com o intuito de verificar a presença de resíduos de antimicrobianos no leite, é que a grande maioria encontrou alta ocorrência de resíduos.

A ocorrência recorrente de contaminantes no leite pode gerar a curto, médio e longo prazos, problemas graves à saúde pública e prejuízos à indústria. Desta forma, justifica-se a importância e necessidade de se manter procedimentos de controle e monitoramento da presença dos antimicrobianos na cadeia produtiva de alimentos. Além de constantes pesquisas que detectem a presença dessa contaminação.

2.5 Metodologias Laboratoriais na Detecção de Resíduos de Antimicrobianos no Leite

Atualmente, existem vários testes de detecção de resíduos de antimicrobianos no leite, variando-se desde a inibição microbiana, reações enzimáticas, aglutinação em látex, receptores microbianos, radioimunoensaio, eletroforese, até a cromatografia gasosa, camada delgada e líqüida (técnicas

analíticas sensíveis e específicas para a identificação e quantificação de resíduos de antibiótico no leite). A técnica mais utilizada é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (SHENCK & CALLERY, 1998; FONSECA & SANTOS, 2000).

Conforme MCINTOSH & SHELDON (2002) existem desvantagens das técnicas microbiológicas, como: baixa seletividade na identificação do antimicrobiano; restritos limites de detecção de compostos; demora na obtenção dos resultados e incidência de resultados falsos positivos.

A CLAE possui maior sensibilidade para detectar resíduos de antimicrobianos em alimentos de origem animal. Este método requer sempre algum tipo de extração e, ou, desproteinização prévia, dependendo da matriz e resíduo a ser pesquisado, porém é uma técnica cara, além de instrumentação complexa e pessoal treinado (MINEO & KANEKO, 1992). No entanto, a capacidade desses métodos em identificar seletivamente e quantificar níveis de resíduos na ordem de ng/mL ou ng/g tem garantido seu uso, principalmente para a confirmação de amostras positivas em métodos de triagem (MITCHELL et al., 1998).

Dentre as metodologias disponíveis para os testes qualitativos (triagem), existem variações quanto à classe do antimicrobiano detectável, a sensibilidade e o tempo de realização do teste. Os testes comerciais disponíveis para aplicação a campo são, na sua maioria, qualitativos ou semi-qualitativos. A detecção qualitativa de resíduos de antimicrobianos é um importante recurso nos levantamentos da ocorrência desses compostos em alimentos prontos para o consumo sendo o ponto de partida para implementação de programas de controle e supervisão oficiais (MITCHELL et al., 1998).

Para pesquisa de antimicrobianos tem sido bastante utilizado o método da inibição da multiplicação microbiana em meio de cultivo específico, em virtude de sua praticidade e capacidade de evidenciar uma ampla gama de princípios ativos (KUKUROVA & HOZOVA, 2003). Este tipo de teste consiste na observação da capacidade de multiplicação de um determinado microrganismo na presença do antimicrobiano (FONSECA, 2000; MITCHELL et al., 1998).

Estão oficialmente aceitos na comunidade internacional para triagem os testes: TTC - cloreto 2,3,5 trifenil-tetrazólico (baseia-se na redução do cloreto de 2-3-5 trifenil-tetrazólico pelo *Streptococcus thermophylus* sensível a antibióticos do

grupo-lactâmicos, sendo necessário um período de incubação de duas horas e meia à temperatura de 37ºC), Método de Difusão em Disco (baseia-se na inibição do crescimento do microrganismo *Bacillus subtilis* , sensível a antibióticos do grupo dos β-lactâmicos, para a obtenção dos resultados é necessário incubar a amostra, a ser analisada, por um período de 12 horas, à temperatura de 32ºC), e Delvotest (BRASIL, 1999).

Para assegurar a correta identificação da presença de antimicrobianos no leite, depende da metodologia utilizada para análise. No momento da escolha do teste, deve-se levar em consideração: a) princípio do teste e os compostos que detecta, os limites de detecção, a praticidade de realização, o tempo despendido com a análise e o custo; b) o fato de que só serão acusadas como positivas as amostras que contenham resíduos que sejam detectáveis pela metodologia e que estejam presentes em concentrações superiores ao limite de detecção do teste; c) a presença de resultados positivos não significa invariavelmente risco de comprometimento da saúde do consumidor daquele produto, pois a concentração dos mesmos, quando presente no leite pode estar abaixo dos LMR's estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* ou pela legislação vigente para eles (LEME, 2005).

Para COELHO (2003), o Delvotest® SP-NT é um teste simples de ser realizado, sensível e relativamente rápido, quando comparado aos outros testes, seu limite de detecção é cerca de 10 vezes menor que o do método TTC e o método da difusão em disco. Além de ser amplamente utilizado por produtores de leite no Canadá, é recomendado para programas de segurança da qualidade do leite e carne nos Estados Unidos da América; e também, indicado para controlar o período de carência dos antimicrobianos aplicados em animais produtores e, garantir que o leite de cada animal medicado ou o tanque de resfriamento esteja isento de resíduos de antimicrobianos acima dos LMR's estabelecidos pela legislação.

Outra vantagem é o baixo custo da análise por amostra de alimento a ser testado para presença de antimicrobiano, ou seja, cerca de R$ 3,20. Por estas razões, o Delvotest ® SP-NT é um dos testes mais comumente utilizados para a detecção da presença de resíduos de antimicrobianos no leite. DIETRICH (2008) confirma que dos vários *kits* rápidos existentes no mercado para triagem e levantamento qualitativo na detecção de resíduos de antibióticos, o Delvotest® SP-

NT é o que melhor identifica os LMR's de antibióticos, estabelecidos pela FDA e a UE, Quadro 3. Segundo BRASIL (2001) o Delvotest® SP-NT é aprovado pelo FDA. É recomendado, pelo *Codex Alimentarius* e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para este tipo de análise.

O Delvotest® SP-NT é um teste realizado em três horas e permite detectar qualitativamente a presença de antibióticos no leite como a penicilina G, sulfonamidas, um número substancial de outros antibióticos e substâncias inibidoras, podem ser detectados quando presentes em níveis iguais ou próximos aos LMR's (Quadro 4). Baseia-se por um diagnóstico microbiológico por meio da inibição de crescimento do *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* C953 e na mudança de pH, conferindo resultados num período aproximado de três horas (DIETRICH (2008).

QUADRO 3 – Desempenho dos *Kits* para detecção dos LMR's da FDA e UE

Percentual de drogas identificadas em que os testes possuem sensibilidade que atendam aos Limites Máximos Permitidos pela FDA (Food and Drugs Administration) e UE (União Européia)			
	Nº drogas que possuem LMP estabelecidos pela FDA : 22	**Nº drogas que possuem LMP estabelecidos pela UE : 46**	**Número total de drogas citadas: 52**
Marca comercial do teste	**% das drogas em que o teste atende os LMP estabelecidos pela FDA**	**% das drogas em que o teste atende os LMT estabelecidos pela UE**	**% das drogas citadas em que o teste possui alguma sensibilidade**
Delvotest	50%	69,5%	88,4%
Copan	45,4%	39,3%	73%
Eclipse	41%	37%	36,5%
BetaStar	22,7%	21,7	21,1%
Charm Rosa Beta	27,7%	8,7%	11,5%
Charm Rosa Tetra	13,6%	6.5%	5,7%
Charm Rosa Sulta	9,1%	4,3%	3,8%
Twing	40,9%	26%	25%
Snap Beta	22,7%	23,9%	25%
Snap Sulfa	13,6%	6,5%	5,7%

Fonte: DIETRICH (2008)

Para os antibióticos, de acordo com o principio ativo presente na amostra de leite, o limite de detecção do *kit do* Delvotest® SP-NT é bastante variado, indo deste a penicilina G, com nível de detecção de 0,0025 ppm ao cloranfenicol com nível de detecção 7.5-10.00 ppm. (Quadro 4). Outras

substâncias antimicrobianas, como os desinfetantes e detergentes são detectadas pelo Delvotest® SP-NT, sendo o nível de detecção variado para cada tipo de substância, como exemplo, cloro ativo e peróxido de hidrogênio (muito utilizados em laticínios como sanitizante) com nível de detecção de 200 ppm e 600 ppm, respectivamente, e os derivados quaternários da amônia, como nível de detecção de 10.000 ppm (Quadro 5) (DSM FOOD SPECIALTIES, 2010).

QUADRO 4 – Nível de detecção mínimo do teste Delvotest® SP-NT para diferentes princípios ativos de substâncias utilizadas como antibióticos. Concentração em partes por milhão – ppm. Leitura realizada em 3 horas

Antibióticos	**Nível de detecção em partes por milhão (ppm)**
Penicilina G	0-0025
Penicilina G * *	0.003-0.004
Cloxacilina	0.02-0.025
Dicloxacilina	0.01-0.015
Oxacilina	0.01
Nafcilina	0.01
Ampicilina	0.003-0.005
Amoxicilina	0.003-0.005
Cefapirina	0.005-0.01
Cefalonio	0.015-0.025
Cefalexina	0.06-0.1
Cefacetril	0.02-0.04
Cefaperazon	0.06-0.1
Tetraciclina	0.3-0.6
Oxitetraciclina	0.4-0.5
Clortetraciclina	0.3-0.6
Tilosina	0.1
Eritromicina	0.25
Lincomicina	0.3-0.4
Spiramicina	n.s.
Gentamicina	0.4-05
Neomicina	0.4-2.0
Dihidrostreptomicina	2.5-10.0
Kanamicina	n.s.
Cloramfenicol	7.5-10.00
Sulfametazina	0.1-0.2
Sulfadimetoxina	0.1
Sulfatiazol	0.1-0.15
Sulfadiazina	0.1
Dapsone	0.004-0.008
Trimetoprima	0.5

Fonte: Adaptado de DSM FOOD SPECIALTIES (2010)
* * concentração em Unidades Internacionais por L de leite
n.s.: não sensível, limite de detecção acima de partes por milhão - p.p.m.

COELHO (2003) relatou, ainda, que o teste pode gerar alguns resultados falso-positivos, porém, KANG E SEYMOUR (2001) afirmaram que os índices destes resultados (falso-positivos) podem ser minimizados quando a leitura do teste é realizada em duas horas e cinqüenta minutos. Para HILLERTON et al. (1999) os resultados falso-positivos encontrados por alguns autores poderiam estar ligados a falhas humanas, tanto na realização quanto na interpretação do teste.

QUADRO 5 – Nível de detecção mínimo do teste Delvotest® SP-NT para substâncias químicas utilizadas como detergentes e desinfetantes com ação antimicrobiana. Concentração em parte por milhão – ppm

Desinfetantes e Detergentes	Nível de detecção em ppm
Cloro Ativo	200
Iodo	150
Peróxido de Hidrogênio (30%)	600
Cetrimida (bromato de amônia quaternário)	100
Farmquat (5% cloridato de amônia quaternário)	10.000
Rodalon (cloridato de amônia quaternário)	30
Niroklar (baseado em ácido fosfórico agente de limpeza)	500
Calgonita (5% potássio dicloro-iso-cianureto)	00
Sublimato (cloridato de mercúrio)	20
Dicromato de Potássio	20
Nitrato de Sódio	50

Fonte: Adaptado de DSM FOOD SPECIALTIES (2010)

2.6 Acidez titulável do leite fluido

O tipo de produção utilizado na maioria das propriedades leiteiras do Brasil é a de pouca tecnologia, baixo controle sanitário dos animais e higienização deficientes, o que gera um leite de baixa qualidade. Um dos principais aspectos de qualidade afetados é o microbiológico, uma vez que o leite produzido em condições inadequadas de higiene e sanidade, possui alta população bacteriana, comprometendo-o do ponto de vista tecnológico, durabilidade e de segurança alimentar. Leite com baixa qualidade microbiológica gera a fabricação de derivados e de leite beneficiado, com semelhante baixa qualidade, revelando a importância da produção de matéria-prima com qualidade (NERO, 2005).

Desta forma, a Instrução Normativa n.° 51, de 18 de setembro de 2002, estabeleceu a obrigatoriedade da refrigeração do leite cru na propriedade rural e seu transporte a granel até a indústria (BRASIL, 2002). Esta prática leva à redução dos custos operacionais de produção do leite, evita sua deterioração por atividade acidificante de bactérias mesofílicas ou problemas tecnológicos relacionados com a atividade de enzimas proteolíticas e lipolíticas de bactérias psicrotróficas (MACIEL et al., 2003). O tratamento térmico, como a pasteurização do leite elimina os microrganismos patogênicos e reduz os deteriorantes, garantindo a segurança do consumidor e o aumento da conservação dos produtos (SPREER, 1991).

A análise de acidez titulável é obrigatória nos laticínios, sendo uma das medidas mais usadas no controle da matéria-prima pela indústria leiteira, devendo ser feita em todo o leite que chega a plataforma de recepção dos laticínios. A determinação da acidez titulável do leite é usado para classificação do leite sendo também um guia para o controle da manufatura de produtos. A acidez do leite pode ser aferida pelo pH (padrão de 6,6 a 6,8) ou pelo método da acidez titulável expressa em gramas de ácido lático por 100 mL de leite (g de ácido lático/100 mL de leite), podendo variar de 0,14 a 0,18 (BRASIL, 2002).

A acidez acima do padrão estabelecido pela legislação pode ter relação com falhas no processo de obtenção do leite, e até mesmo de sua conservação, indicando indiretamente a qualidade microbiológica do leite, visto que a ação das enzimas de origem microbiana provoca a hidrólise da lactose com formação de ácido lático e conseqüente redução do pH, tornando o produto inadequado para a industrialização e para o consumo. Acidez elevada constitui o principal fator que diminui a estabilidade térmica do leite (SANTOS & FONSECA, 2001; OLIVEIRA & NUNES, 2003; SILVA et al., 2008).

A acidez também pode ajudar a identificar fraudes no leite. Considera-se fraudado, adulterado ou falsificado o leite que: 1) for adicionado de água; 2) tiver sofrido subtração de qualquer dos seus componentes, exceto a gordura nos tipos “C” e “magro”; 3) for adicionado de substâncias conservadoras ou quaisquer elementos estranhos à sua composição; 4) for de um tipo e se apresentar rotulado como de outro de categoria superior; 5) estiver cru e for vendido como

pasteurizado; 6) for exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade (BRASIL, 1997).

BEHMER (1987), PEREIRA et al. (2001) ROBINSON (2002) afirmaram que a adição de soluções alcalinas, para prolongar a conservação ou diminuir a acidez do leite, é considerada fraude. Contudo, bicarbonatos, formol, ácido bórico, peróxido de hidrogênio, bicromato de potássio, hipocloritos e ácido salicílico têm sido empregados como conservadores.

Para a determinação da acidez titulável para leite fluido são descritas duas metodologias aplicáveis (método A e B), cujo princípio consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, tendo como indicador a fenolftaleína. O que difere nos métodos é a solução utilizada, podendo ser a solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N ou solução Dornic (0,11 N ou N/9) (BRASIL, 2006).

Muitas pesquisas com diferentes tipos de leite (leite cru, pasteurizado e UHT) têm evidenciado elevados índices de amostras fora dos padrões legais relacionados às análises físico-químicas, em especial a acidez titulável. Este quesito está diretamente relacionado à qualidade do produto final. Assim sendo e tendo em vista os fatos abaixo, torna-se extremamente importante as análises físico-químicas no leite de forma a estabelecer um monitoramento constante para assegurar a qualidade do produto que vai ser consumido pela população.

Segundo NASCIMENTO et al. (1995), analisando as características do leite fluido consumido em Belém, obtiveram irregularidades em relação à acidez e densidade. BELOTI et al. (1999), em sua pesquisa com 42 amostras de leite cru analisadas, detectou um percentual de 61,4% das amostras fora dos parâmetros determinados pela legislação. BELOTI et al. (1996), analisando o leite pasteurizado na cidade de Londrina, Paraná, verificaram que 15% das amostras estavam fora do padrão estabelecido para a prova de acidez, 5% para gordura, 22,5% para densidade, 5% para Estrato Seco Desengordurado (ESD), 2,5% para crioscopia e 2,5% para peroxidase. Já FAGUNDES et al. (2001) examinando o leite pasteurizado tipo “C” comercializado na região de Toledo, Paraná, verificaram que 75 % das amostras analisadas estavam em desacordo com os padrões físico-químicos da legislação.

FERREIRA et al. (2003), em avaliação do “leite informal” (não inspecionado) consumido em Sobral, quatro (66,7%) amostras das seis analisadas apresentaram-se fora dos padrões. Relatos de MARTINS et al. (2006), das 55 amostras analisadas, estas obtidas de 20 diferentes marcas de leite UHT produzidas nos Estados de Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná, 11 apresentaram resultados fora do padrão, obtendo um percentual de 20% do total analisado. VILSON RHEINHEIMER et al. (2006) realizaram pesquisa em Passo Fundo, em 11 amostras de leite pasteurizado e 30 de UHT, na qual nenhuma se mostrou acima do padrão para acidez titulável, porém 77, 8% das amostras de leite pasteurizado e 18% das amostras de leite UHT apresentaram acidez baixo do padrão, o autor conclui que os seus dados sugerem evidências de fraude que devem ser investigadas.

SILVA et al. (2008) avaliando amostras de leite pasteurizado em Alagoas encontrou 7,5% de amostras fora do padrão para acidez. Já MENDES et al. (2010), avaliaram no ano de 2006 cerca de 32 amostras de leite *in natura* comercializado em Mossoró, sendo que 6,2 % das amostras estavam fora do padrão estabelecido pela legislação para acidez titulável e concluíram que através de análises físico-químicas e pesquisas de fraudes, permitiu constatar que a maioria do leite *in natura* comercializado e pesquisado em Mossoró, apresentou irregularidades, uma vez que não são seguidas as normas estabelecidas pela legislação. Esse resultado pode estar relacionado ao manejo alimentar e sanitário, bem como às práticas de transporte e armazenamento do leite, o que reforça a necessidade de se desenvolver estudo neste sentido também em Goiás.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade do leite cru, pasteurizado, e UHT produzidos no Estado de Goiás sob fiscalização do serviço de inspeção federal (SIF), no que se refere à ocorrência de resíduos de antimicrobianos e acidez titulável.

3.2 Objetivos Específicos

- Verificar a ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite cru, pasteurizado e UHT produzido no Estado de Goiás sob fiscalização do SIF.

- Detectar a presença de antimicrobianos no leite, como antibióticos e desinfetantes e detergentes.

- Avaliar a acidez titulável em leite cru, pasteurizado e UHT produzido no Estado de Goiás sob fiscalização do SIF.

- Verificar se há relação entre a acidez titulável e a presença de resíduos de antimicrobianos no leite cru, pasteurizado e UHT produzidos no Estado de Goiás sob fiscalização do SIF.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras

No presente estudo foram analisadas 992 amostras de diferentes tipos de leite, sendo 441 amostras de leite cru, 327 amostras de leite pasteurizado (integral) e 224 amostras de leite UHT (integral, desnatado e semi-desnatado) produzidos no Estado de Goiás, sob fiscalização do SIF, entre abril e novembro de 2010 (compreendendo os períodos, chuvoso e seco).

As amostras foram coletadas em todo o Estado de Goiás, nas propriedades fornecedoras de leite dos estabelecimentos sob fiscalização do SIF (leite cru) e nos locais de comercialização do leite processado (pasteurizado e UHT). As análises foram realizadas na cidade de Goiânia, Goiás, no Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (LQL/CPA/EVZ/UFG).

No presente estudo foi realizado um levantamento analítico e descritivo simples (SAMPAIO, 2007), com amostragem probabilística estratificada e simples ao acaso (VIEIRA, 1980; STEVENSON, 1981).

Para a determinação do número de amostras utilizou-se o teste de “Z” ($Z_{0,025}$), para efeito de cálculos foram adotados valores para a confiança de 95% e 5% de erro. A ocorrência de resíduos de antibióticos estimada no Estado de Goiás, sendo de: 40% para leite cru, 25% pasteurizado e 15% UHT (com base em outras pesquisas). Foram somados ao número total de amostras, 10% referente ao cadastro reserva.

Uma vez determinada a quantidade de amostra de leite cru, pasteurizado e UHT a serem coletadas, realizou-se a classificação dos estabelecimentos, utilizando o seguinte critério: quantidade de leite recebido (para o leite cru) e processado (para o leite pasteurizado e UHT) por dia. As empresas foram classificadas de A a H, sendo o grupo A, caracterizado por receber ou processar até 5 mil litros de leite por dia de forma crescente até o grupo H acima de 500.000 litros de leite por dia. Estimou-se assim, a quantidade total de leite recebido e processado, e de acordo com este valor calculou-se a porcentagem de

participação de cada grupo. Desta forma foi distribuída a quantidade de amostras a serem coletadas por grupo.

Para o leite cru, uma vez determinado o número de amostras a serem coletadas por grupos, realizou-se a seleção dos produtores rurais fornecedores de leite, por meio de sorteio aleatório e sem reposição. Já para o leite pasteurizado e UHT como a quantidade de amostra era muito superior ao número de estabelecimentos que os produziam, a divisão se deu igualmente entre os membros dos grupos. As amostras de leite UHT e pasteurizado foram coletadas aleatoriamente, com datas de fabricação e lotes diferentes, nos hipermercados e supermercados de todo o Estado de Goiás.

4.1.1 Coleta de amostra de leite cru

Todos os estabelecimentos fiscalizados pelo SIF em Goiás são obrigados a encaminhar amostras de leite cru de todos os seus fornecedores pelo menos uma vez por mês a um laboratório credenciado pelo MAPA, para a realização de análises de rotina, que em Goiás é o LQL/CPA/EVZ/UFG. Aproveitando deste fato, o estabelecimento que teve o seu fornecedor sorteado, foi comunicado com antecedência que deveria coletar mais um frasco de 40 mL de leite para cada amostra coletada sem adição de conservante. As amostras foram identificadas com etiquetas com código de barras pelos estabelecimentos e enviadas ao projeto. Lembrando que o estabelecimento não foi comunicado dos tipos de análises a serem realizadas, para que não ocorresse interferência no resultado final da análise.

Os estabelecimentos sob fiscalização do SIF coletam as amostras de leite diretamente das propriedades rurais de seus fornecedores, nos tanques de expansão ou em latões, segundo instruções do MAPA, e a encaminham para o LQL/CPA/EVZ/UFG, desta forma foi seguido o mesmo procedimento de coleta para as amostras analisadas nesta pesquisa.

O procedimento recomendado pelo MAPA para coleta de amostra é: 1) Misturar o leite do tanque de expansão, através de agitação mecânica programada no próprio tanque (o agitador deve ficar ligado por no mínimo cinco minutos, em tanques até 5000 L e em tanques de volume superior a 5000 L deixar

ligado por dez minutos) Figura 3; 2) Desligar o agitador do tanque e realizar a mistura vertical com o auxílio de um copo coletor de cabo longo ou concha de metal higienizado, com pelo menos cinco movimentos, Figura 4; 3) Coletar com a ajuda de um copo coletor uma alíquota de 40 mL de leite, sendo posteriormente colocada em um frasco plástico, Figuras 5 e 6.

FIGURA 3 – Mistura do leite no tanque de expansão

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

FIGURA 4 – Mistura vertical com coletor

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

FIGURA 5 – Coleta do leite

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

FIGURA 6 – Frasco plástico com a amostra de leite

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

Para a coleta em latões os procedimentos recomendados pelo MAPA e seguidos foram: 1) Coletar uma amostra composta, ou seja, a amostra deve conter leite dos diferentes latões; 2) o leite do latão deve ser misturado com auxílio de um misturador de cabo longo, realizando pelo menos 15 movimentos verticais na amostra (100mL) e transferindo a mesma para um balde. Isso deverá ser feito em cada latão sendo que ao final tem-se um balde com leite de todos os latões; 3) em seguida deve-se coletar uma amostra de 40 mL, com auxílio do

copo coletor, transferindo-o para um frasco de coleta. A técnica é sintetizada na Figura 7.

Posteriormente as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, com temperatura de refrigeração de no máximo 7°C, sendo a mesma aferida no momento da recepção do leite no LQL/CPA/EVZ/UFG, não aceitando amostras fora deste padrão. As amostras chegavam ao LQL/CPA/EVZ/UFG, o mais rápido possível para não comprometer os resultados das análises.

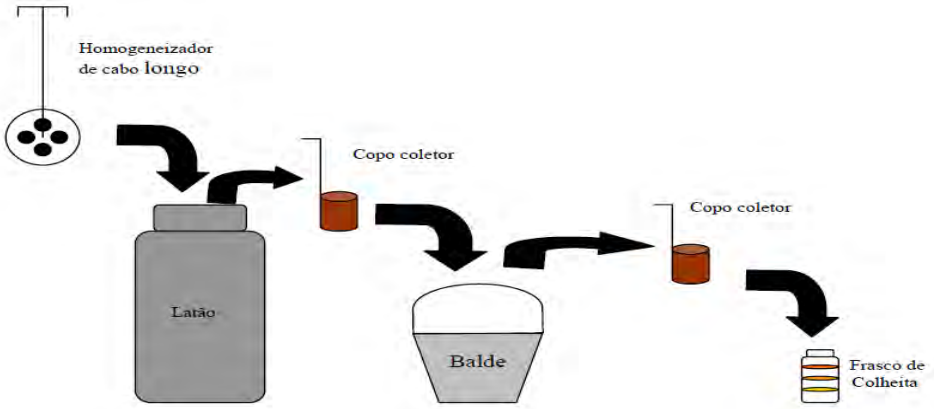


FIGURA 7 – Esquema de coleta de leite em latão
Fonte: SILVA (2007)

4.1.2 Coleta de amostras de leite pasteurizado e UHT

As amostras de leite pasteurizado e UHT foram coletadas nos locais de comercialização (como supermercados, hipermercados, panificadoras, armazéns) destes produtos no Estado de Goiás, sendo escolhidos de forma aleatória de acordo com a marca da empresa sorteada.

Nas gôndolas e prateleiras dos estabelecimentos a coleta foi aleatória da seguinte forma: as gôndolas e prateleiras contendo o produto foram divididas em quatro quadrantes de forma imaginária, pegou-se a raiz (√n**)** do total de produtos estimado, do valor obtido retirou-se 10% das amostras, e deste foi retirado a amostras do leite pasteurizado e UHT.

As amostras de leite pasteurizado após a coleta foram devidamente identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável a

uma temperatura de no máximo 7°C, durante o tempo de transporte até o local da realização das analises. Já o leite UHT foi mantido em temperatura ambiente, pois seu fabricante indica que deve ser conservado em temperatura ambiente até a abertura da embalagem, em seguida foi identificado e enviado ao laboratório para a realização das análises. Todas as amostras foram encaminhadas ao LQL/CPA/EVZ/UFG, num período inferior a quatro horas, para não comprometer a realização das análises.

4.2 Análises laboratoriais

4.2.1 Procedimento de análise das amostras de leite para a detecção de resíduos de antimicrobianos

Todas as amostras de leite cru, pasteurizado e UHT foram analisadas pelo teste qualitativo de detecção de resíduos de antimicrobiano, através do *Kit* Delvotest® SP-NP. Apesar da CLAE possuir maior sensibilidade para detectar resíduos de antimicrobianos, a mesma não foi utilizada na presente pesquisa, em virtude do grande número de amostras analisadas, o que seria bastante oneroso. O *kit* é composto por ampolas plásticas tendo em seu interior meio de cultura sólido semeado com esporos do microrganismo *Bacillus stearothermophillus var. calidolactis* C953*,* ponteiras plásticas descartáveis e uma seringa dosadora regulada para 0,1mL (Figura 8).

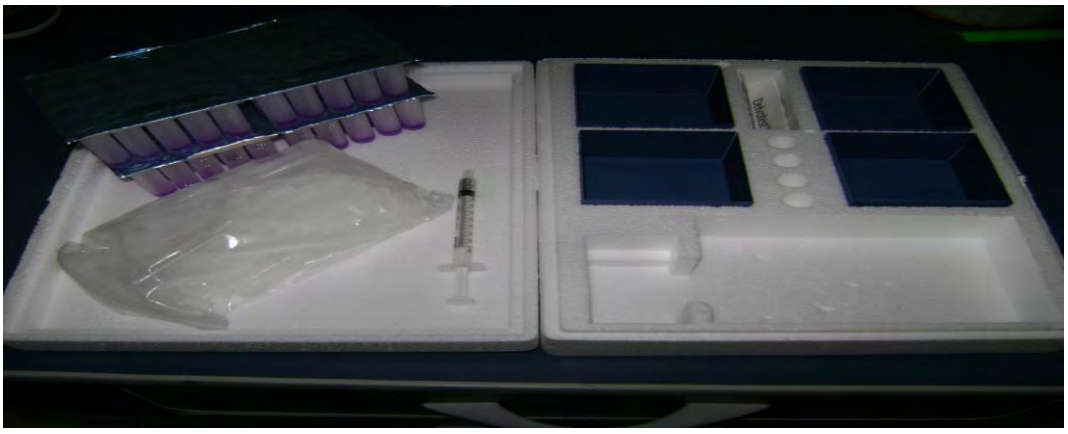


FIGURA 8 – *Kit* Delvotest® SP-NP completo (conjunto com ampolas, seringa para dosagem, pipetas descartáveis)

Fonte: Fonte: Arquivo pessoal (2010)

Os *kits* de Delvotest® SP-NP antes de serem utilizados foram testados quanto a sua viabilidade, para garantir maior segurança nos resultados obtidos. Realizaram-se análises controle de todo o *kit (*com 100 análises), utilizando como amostra teste, leite sem resíduo de antimicrobiano, proveniente de vacas da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Utilizou-se também amostras contaminadas com antibiótico, sendo utilizado a oxitetraciclina (dosagem de 0,6 ppm) e em seguida era realizada a leitura.

Para evitar resultados falso-positivos (COELHO, 2003), foram utilizados alguns procedimentos como: avaliação da viabilidade do *kit* Delvotest® SP-NP; treinamento da equipe de trabalho para a realização e leitura das análises, segundo HILLERTON et al. (1999) os resultados falso-positivos poderiam estar ligados às falhas humanas, tanto na realização quanto na interpretação do teste;

Utilizou-se também amostra controle negativa de leite cru, pasteurizado e UHT (leite cru proveniente das vacas da EVZ/UFG que estavam livres de antimicrobiano, sendo coletado diariamente, e para o leite pasteurizado e UHT amostra já analisada no dia e que o resultado foi negativo) em cada bateria de análises (nove análises mais o controle negativo), este procedimento foi utilizado por recomendação do fabricante, pois quando ocorresse a viragem da amostra controle negativa seria o tempo necessário para que todas as outras amostras passassem da cor púrpura para amarela, o que acontecia em um tempo de duas horas e quarenta e cinco minutos, o que vai de encontro com KANG E SEYMOUR (2001) que afirmaram que os índices de resultados falso-positivos são minimizados quando a leitura do teste é realizada em duas horas e cinqüenta minutos.

Ainda para evitar os resultados falso-positivos em amostras de leite cru, relacionados à presença de substâncias inibidoras naturais do leite (substâncias presentes nas tetas das vacas em concentração aumentada depois de parir, no caso de infecção do úbere, como a mastite, ao término do período de lactação e sendo parte do sistema de defesa da vaca contra infecções), estas substâncias têm atividade antibacteriana (RAIA JUNIOR, 2001) e nas ampolas contendo o meio de cultura do Delvotest® SP-NP, estas substâncias irão ficar na parte superior da ampola e difundirão em direção descendente da amostra de leite, alguns milímetros no meio de cultura, esporos bacterianos dentro desta faixa

estreita serão inibidos, mas esses, na mais baixa parte do meio de cultura não serão e reagiram como normalmente: produzindo ácido na ausência de antimicrobianos e sendo inibidos quando resíduos de antimicrobianos estão presentes no leite. Ocorre que essa faixa púrpura estreita sobre uma camada de agar amarelo pode ser vista como indicação de presença de substâncias inibidoras naturais na amostra de leite. Desta forma para a realização da leitura do resultados das análises de leite cru, tal faixa foi desconsiderada e o resultado do teste foi lido como negativo para a presença de antimicrobianos.

Outro fator importante que foi utilizado para evitar os resultados falso-positivos foi à realização das análises por grupos de acordo com o tipo de leite a ser analisado (leite cru, pasteurizado e UHT), ou seja, quando estava sendo realizada análise de leite cru, somente amostras de leite cru poderiam ser analisadas naquele momento. Este procedimento foi utilizado, por recomendação do fabricante para não influenciar nos resultados.

As amostras foram preparadas da seguinte forma para realização da analises pelo *Kit* Delvotest® SP-NP: as amostras de leite cru foram homogeneizadas assim que chegavam ao LQL/CPA/EVZ/UFG. As amostras de leite pasteurizado (em saco plástico) e UHT foram lavadas com água e detergente neutro. As amostras não analisadas no dia da coleta foram congeladas em freezer comum (-18ºC) e mantidas por, no máximo, seis dias (DAVIDSON & BRANEN, 1993, citado por LEME, 2005), respeitando-se sempre, o prazo de validade do produto.

A embalagem foi seca com papel toalha e logo em seguida o conteúdo foi homogeneizado com movimentos de inversão por 25 vezes. A unidade amostral de leite pasteurizado foi colocada em um recipiente (jarra). No local onde foi feito a abertura da embalagem foi passado um algodão embebido com álcool 70%, esperando cerca de 30 minutos para cortar com tesoura esterilizada o canto da embalagem.

O protocolo do *Kit* Delvotest® SP-NP, segundo instruções do fabricante (Gist-Brocades BSD – Biotechnology contributing to food healtand the environment) consiste em: realizar a identificação das ampolas referente às amostras de leite; homogeneizar a amostra com 10 movimentos de vai e vem; colocar a pipeta na seringa, pegar 0,1 mL de leite, Figura 9; depois colocar o leite

na ampola que tem o meio de cultivo, que incorpora um indicador de pH; deve-se incubador com temperatura de 64º± 0,5ºC por até 3 horas, (Figura 10); depois realizar a leitura. Até o momento da obtenção dos resultados, a quantidade de leite remanescente no tubo plástico foi mantida, no caso de ser necessário repetir o teste.

Na presença de antimicrobianos, o microrganismo (*Bacillus stearotermophilos)* é inibido e não há alteração do pH, o meio permanece púrpura (um tipo de roxo), obtendo-se, assim, um resultado positivo (Figura 11); na ausência de antimicrobianos detectáveis pelo teste, o microrganismo se multiplica, acidificando o meio e alterando sua coloração que passa do púrpura para o amarelo, gerando um resultado negativo (Figura 12). Quando ocorria resultado negativo a amostra era descartada, quando positivo, repetia-se a análise, obtendo resultado final positivo ou negativo.

FIGURA 9 – Seringa, pipeta e meio de cultura prontos para a realização da análise

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

FIGURA 10 – Incubador com as amostras

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

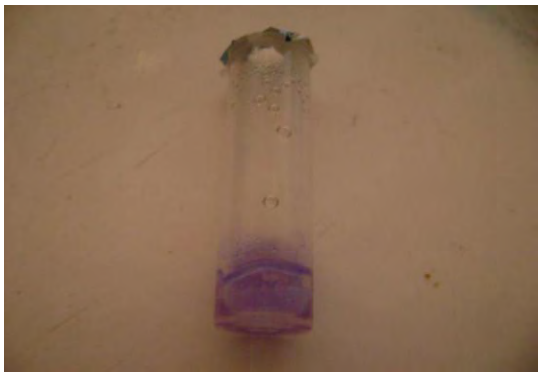


FIGURA 11 – Amostra positiva para resíduos de antibióticos

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

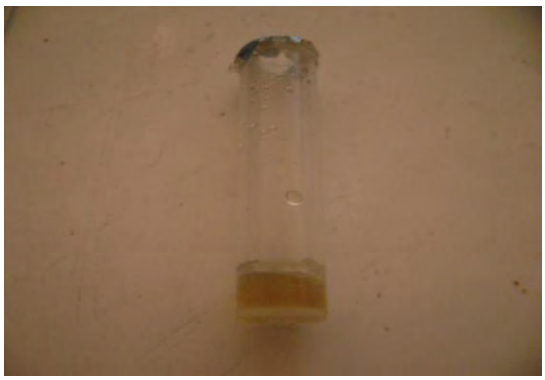


FIGURA 12 – Amostra negativa resíduos de antibióticos para resíduos de antibióticos

Fonte: Arquivo pessoal (2009)

4.2.2 Procedimento de análise das amostras para acidez titulável

As amostras de leite cru, pasteurizado e UHT logo que chegaram ao LQL/CPA/EVZ/UFG foram submetidas a análises de acidez titulável o mais rápido possível para evitar a alteração na acidez.

Para a determinação da acidez titulável nas amostras de leite cru, pasteurizado e UHT foi utilizado o método B, descrita por BRASIL (2006), cujo princípio consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, tendo como indicador a fenolftaleína. A solução utilizada, foi a solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N. O procedimento seguido foi: transferir 10 mL da amostra para o béquer e adicionar quatro a cinco gotas da solução de fenolftaleína a 1% e titular com solução de NaOH (0,1N), até aparecimento de coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos.

Utilizou-se a fórmula descrita por BRASIL (2006) para o método B e utilizando a solução de NaOH 0,1 N, e foram obtidos os resultados em gramas de ácido lático/100 mL. A solução de NaOH 0,1 N foi preparada conforme BRASIL (2006), sendo feito o cálculo do fator de correção a cada 15 dias e a solução de NaOH 0,1 N com prazo de validade de seis meses.

4.3 Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo método descritivo, sendo feita comparações entre grupos, o teste utilizado para a tomada de decisão, desta comparação foi o Qui-Quadrado, e também foram criados intervalos de confiança, utilizando Z da distribuição Normal Padrão.

A análise foi feita com uso do programa *software* estatístico SPSS (“Statistical Package for Sciences Social”) versão 15.0.

.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 992 amostras de leite, sendo estratificadas na Tabela 1. Do total de amostras analisadas, 84 (8,47%) (6,70% <IC 95%< 10,20%) se mostraram positivas para a presença de resíduos de antimicrobianos, sendo 5,34% de leite cru, 1,92% de pasteurizado e 1,21% de UHT, (Gráfico 1 e 2). Assim, das 84 amostras positivas para a presença de resíduo de antimicrobiano temos 53 amostras de leite cru, 19 de leite pasteurizado e 12 amostras de leite UHT, o que representa respectivamente 63,09%, 22,63% e 14,28 % (Tabela 2 e Gráfico 3).

TABELA 1 – Amostras Analisadas, Separadas por Tipo de Leite

Tipo de leite	N° de amostra	%
Cru	441	44,46
Pasteurizado	327	32,96
UHT	224	22,58
TOTAL	992	100,00

TABELA 2 – Distribuição das Amostras por Tipo de Leite dos Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Presença de Resíduo de Antimicrobianos no Estado de Goiás em 2010

Presença de Resíduo de Antimicrobiano	Tipo de Leite					
	UHT [A]		Cru [B]		Pasteurizado [A]	
	N° Amostra	%	N° Amostra	%	N° Amostra	%
Negativo	212	94,60	388	88,0	308	94,20
Positivo	12	5,40	53	12,0	19	5,80
TOTAL	224	100,00	441	100,00	327	100,0

P = 0,002 - Teste: Qui-Quadrado

** Letras iguais indica a Não existência de diferença significativa

GRÁFICO 1 – Ocorrência de Resíduo de Antimicrobiano em Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás

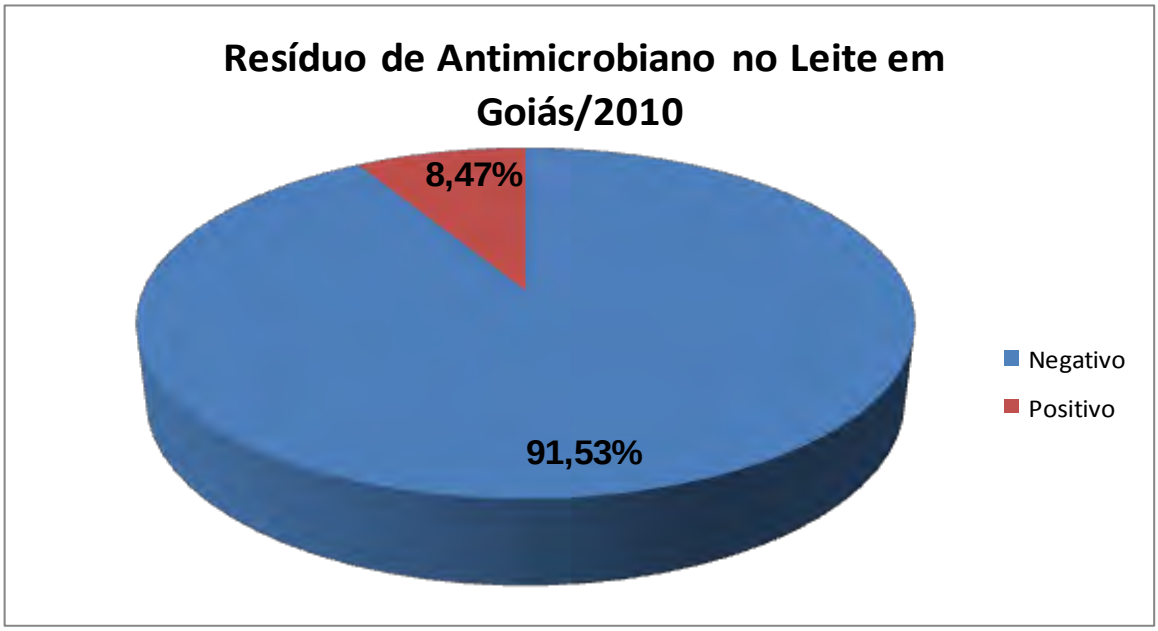


GRÁFICO 2 – Amostras Positivas para a Presença de Resíduo de Antimicrobiano por Tipo de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás

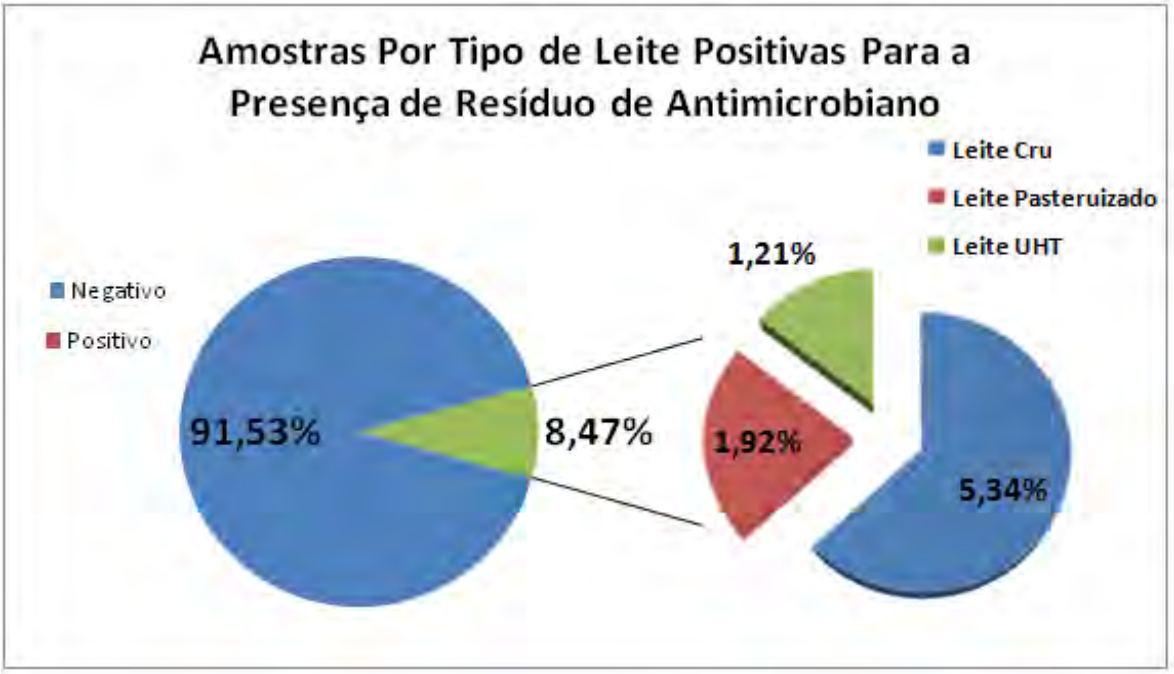
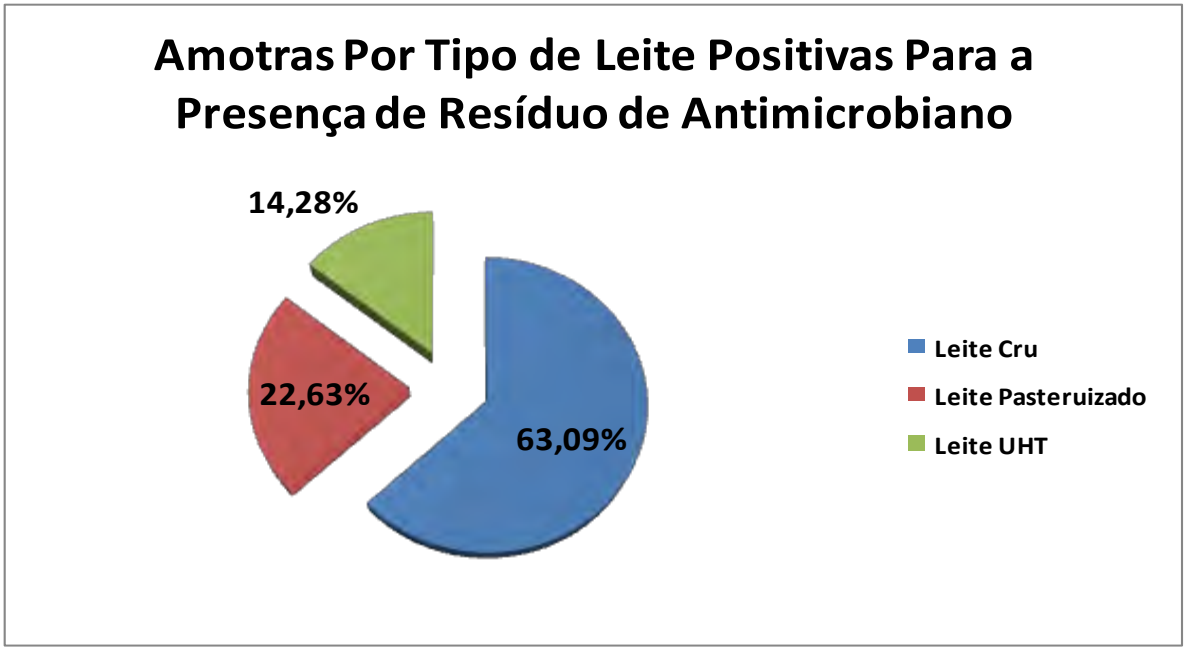


GRÁFICO 3 – Amostras Positivas para a Presença de Resíduo de Antimicrobiano por Tipo Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás



Desta forma, o resultado obtido nesta pesquisa confirma a existência de resíduos de antimicrobianos no leite produzido e consumido em Goiás, o que representa risco à saúde pública (perigo químico) (COELHO & COSTA, 2002), podendo causar, reações toxicológicas, hipersensibilidade, possível choque anafilático, seleção de cepas bacterianas mais resistentes no meio e transmissão para as gerações futuras, desequilíbrio da flora intestinal e discrasias sanguíneas, aparecimento de um desequilíbrio na microbiota natural do trato gastrointestinal, ação carcinogênica, mutagênica, ação teratogênica, anemia aplástica, supressão reversível da medula e neurite óptica.

Conforme, já haviam sido detectados por BRITO (2000) os consumidores, em sua maioria possuem a imagem de que o leite e seus derivados são produtos saudáveis, nutritivos, livres de adulterantes, contaminantes e de substâncias que possam constituir riscos para a sua saúde. A presença de resíduos de antimicrobianos ou outras substâncias no leite e seus derivados cria uma imagem negativa destes produtos, e prejudica o consumo.

Outro problema causado pela presença de resíduos, são os prejuízos econômicos à indústria e produtores, visto que, produtos como iogurtes, bebidas

lácteas fermentadas, queijos e manteiga, podem ter alteração nos padrões de identidade e qualidade nas diferentes partidas e lotes.

Os resultados aqui encontrados servem de alerta para a sociedade, devido aos riscos à Saúde Pública e Animal, pois revelam a realidade do uso de antimicrobianos, principalmente os antibióticos no rebanho leiteiro do Estado de Goiás, evidenciando a necessidade de iniciar um programa de controle efetivo e eficaz e definir estratégias de ações e leis mais rigorosas.

É importante ressaltar que ao se comparar os resultados da presente pesquisa com os encontrados na literatura, deve-se deixar claro que existem variações nos limites de detecção para cada antimicrobiano, segundo o método empregado para a análise. Assim, alguns autores utilizaram metodologia distinta daquela usada no presente trabalho, o que estimou uma freqüência de ocorrência, e o confronto com a observada.

Cabe informar que o PNCRCL no decorrer de oito anos desde sua criação, não detectou violação dos LMR's. Quando comparado ao resultado desta pesquisa, percebe-se diferença, concluindo que as diretrizes do programa devem ser revistas. O valor encontrado nesta pesquisa foi acima do encontrado por LEME (2005) no qual 0,67% das amostras coletadas na cidade de São Paulo foram positivas para a presença de resíduos de antimicrobianos.

Para o leite cru foram detectadas 53 amostras positivas (12%), de um total de 441 amostras (Tabela 2). De acordo com os dados obtidos, nota-se que a ocorrência de resíduos de antimicrobianos em leite cru expressa semelhança aos valores encontrados por RAIA JÚNIOR (2001) que detectou 15% de amostras positivas em São Paulo e Minas Gerais, NERO et al. (2007) que detectaram 11,4% em quatro regiões produtoras de leite, e MACEDO & FREITAS (2009) que verificaram 10,68% das amostras coletadas em propriedades do Estado do Pará com presença de resíduos, concluindo, portanto, que tal freqüência é considerável, o que demonstra elevado risco potencial para a saúde coletiva, o que reforça a preocupação com os resultados aqui obtidos.

O resultado obtido nesta pesquisa, para leite cru, foi menor que o encontrado por ALBURQUERQUE et al. (1996), que detectaram ocorrência de 69,7% das amostras contendo resíduos de antibióticos. Em Fortaleza, MEDEIROS et al. (2004) que detectaram 43,33% em amostras no município de

Patos na Paraíba e por TETZNER et al. (2005) que observaram ocorrência de 33% em amostras do Triângulo Mineiro.

Desta forma, os pesquisadores acima citados, concluíram em seus estudos, que a presença de resíduos de antibióticos em leite produzido no Brasil pode ser considerada preocupante, indicando perigo químico, o que vai de encontro com a pesquisa em questão. O que é preocupante ao analisar os dados encontrados, é que, no Estado de Goiás, leite considerado adulterado pela legislação, devido presença de antimicrobianos, e conseqüentemente impróprio para o consumo vem sendo destinado ao beneficiamento.

A alta ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite cru pode ser atribuída principalmente ao fato dos produtores rurais utilizarem de forma indiscriminada e incorreta os antibióticos, por realizarem tratamentos desnecessários, por administrarem doses acima daquelas recomendadas, pelo uso de substâncias proibidas, incorporação de antibióticos no leite de forma proposital (fraude) ou principalmente para tratamento de doenças (mastite) e o não respeito ao período de carência dos antibióticos (PALERMO NETO, 2001).

Uma das formas de evitar este problema é a orientação dos produtores para evitar a presença dos resíduos de antibióticos no leite, seguindo os princípios de posologia recomendados e prescritos pelo médico veterinário, isto é, que os antimicrobianos quando necessário sejam utilizados corretamente. Deve-se respeitar o período de carência dos medicamentos (SANTOS, 2003).

A implantação de um correto manejo de ordenha é de extrema importância para o controle da mastite. A conscientização por parte dos produtores com relação aos prejuízos causados pela doença, a adoção das medidas preventivas e de controle fará com que a enfermidade não afete economicamente sua produção, e realizar o tratamento da mastite no período seco, onde as chances de cura é maior (SILVA & NOGUEIRA, 2010).

Para o leite pasteurizado foram detectadas 19 amostras positivas (5,8%) de um total de 327 amostras (Tabela 2), este resultado se assemelha com o valor obtido por LOPES et al. (1998), que detectaram 14 amostras positivas (7,9%) na cidade de Campinas e por BORGES et al. (2000) que encontraram resíduos de antibióticos em 9,95% das amostras de leite pasteurizado no Estado de Goiás.

Por outro lado, o valor encontrado para a presença de resíduos de antimicrobianos em leite pasteurizado está abaixo do obtido por BARROS et al. (2001), no qual 38,5% das amostras analisadas em Salvador foram positivas, e acima do valor encontrado por LEME (2005) de 0,40% na cidade de São Paulo.

Para o leite UHT foram detectadas 12 amostras positivas (5,4%) de um total de 224 amostras (Tabela 2). O valor encontrado se assemelha com o obtido por ROSÁRIO (2002) que detectou na cidade de Pirassununga, duas amostras positivas (2,17%) para a presença de β-lactâmicos e 14 amostras positivas (7,25%) para a presença de tetraciclinas, porém está acima do encontrado por LEME (2005) de 0,26%.

Uma vez presente no leite, o antibiótico gera riscos à saúde pública e prejuízos para a indústria, pois não é eliminado no beneficiamento (BRITO & DIAS, 1998; VAN EGMOND et al., 2000), o que explica a alta ocorrência de resíduos de antibióticos no leite pasteurizado e UHT. Este fato indica não realização das análises de antibióticos nas plataformas de recepção das indústrias de laticínio e nem a sua fiscalização, no qual é uma exigência das normas oficiais para a produção, beneficiamento e industrialização do leite e uma das preocupações tecnológicas das grandes empresas do setor lácteo (BRASIL, 1999). Esta alta ocorrência gera preocupação, pois este alimento está sendo consumido pela população.

Logo, os resultados obtidos neste estudo indicam que é fundamental e necessário o monitoramento e controle desta etapa pelos órgãos e antimicrobianos entre o leite UHT e o cru, e entre o leite cru e pasteurizado, porém observa-se semelhança entre o leite pasteurizado e UHT (Tabela 2). Este fato pode ser explicado em função da detecção de antimicrobianos ser mais freqüente em amostras provenientes da mistura do leite de poucos animais (no caso do leite cru), quando comparada à mistura de grandes volumes (leite pasteurizado e UHT), o que reforça a necessidade da realização de testes a campo, para a pesquisa de antimicrobianos previamente à mistura do leite de diferentes tanques, para o transporte em caminhões-tanques, ou antes, de serem misturados nos silos nas empresas.

Outro fator importante, e que deve ser levado em consideração ao se comparar a ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite cru e beneficiado, é

que algumas empresas realizam a análise de presença de resíduo de antimicrobianos nas plataformas de recepção, e quando detectados no leite cru, o mesmo é descartado/eliminado, diminuindo a detecção de antimicrobianos no leite beneficiado (leite pasteurizado e UHT).

Embora, a ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite pasteurizado e UHT, registrada nesta pesquisa tenham sido relativamente inferior ao do leite cru, deve-se ressaltar que esta observação se deu no leite destinado ao consumo humano, tal fato deve ser interpretado com critério, pois um volume considerável de litros de leite pode conter resíduos detectáveis de antimicrobianos. Sendo que esse leite contendo resíduos antimicrobianos poderá ser consumido pelas pessoas acarretando problemas à saúde como já foi citado.

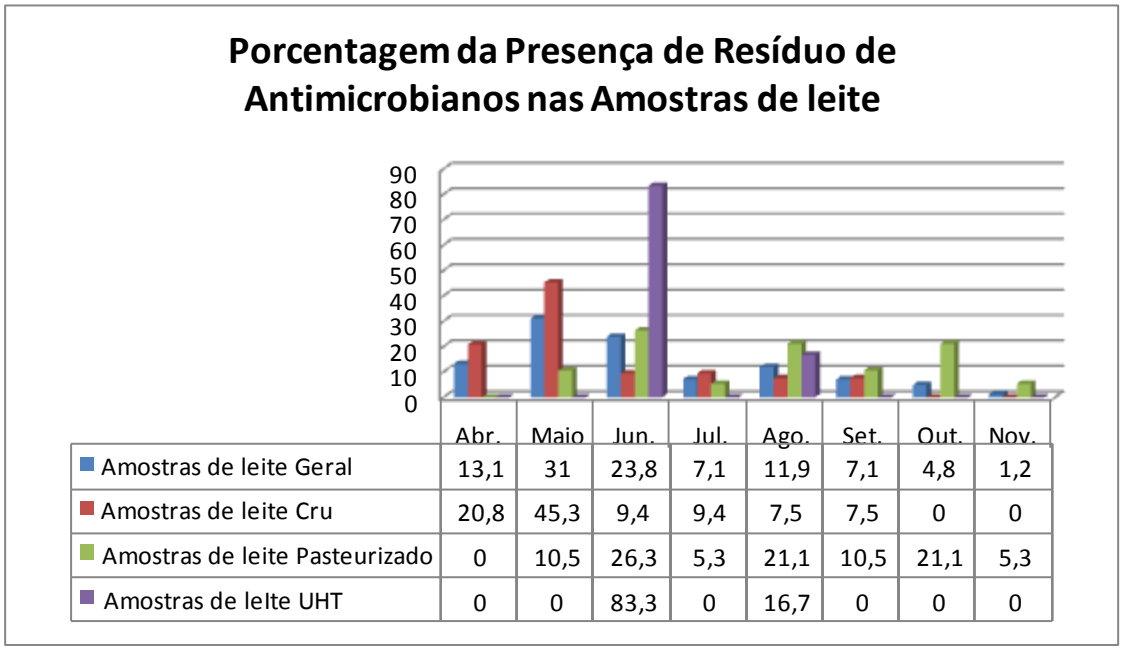
A distribuição mensal das amostras de leite com seus respectivos resultados positivos estão no Gráfico 4, sendo que os meses que mais tiveram resultados positivos foram em ordem decrescente o mês de maio (31,00%), junho (23,80%), abril (13,10%) e agosto (11,90%), estes resultados diferem dos encontrados na pesquisa de LEME (2005), sendo sua ocorrência maior nos meses de setembro, fevereiro, agosto e novembro, em ordem decrescente respectivamente.

Nota-se que para o leite cru os meses de maior ocorrência de resíduos de antimicrobianos são maio e abril, já para o leite pasteurizado são os meses de junho, em segundo agosto e outubro, e para o leite UHT a maioria das amostras positivas foram encontradas nos meses de junho e agosto (Gráfico 4). Deve-se levar em consideração para justificar o fato observado que a CCS quando é superior a 200.000 células/mL, pode-se dizer que o animal tem mastite (SMITH, 1996), assim no Estado de Goiás, o período, no qual a CCS é maior (em média de 352.000 células/mL o que indica mastite) são os meses secos do ano, indo de maio a outubro (BUENO et al. 2005), que na maioria das propriedades rurais do Estado de Goiás coincide com o período seco das vacas (período esse mais indicado para o tratamento da mastite) (FAGUNDES, 2003; BRASIL, 2009b).

Desta forma, os dados aqui mostrados sugerem que os produtores rurais realizam o tratamento certo dos animais contra a mastite em Goiás (o que seria no período seco da vaca), porém não estão descartando o leite contendo antibiótico (não estão respeitando o período de carência dos medicamentos

veterinários), visto que a quantidade de leite eliminado no final da lactação diminui, o que resulta em uma maior concentração de antibióticos no leite de animais tratados e com maior período de carência, desta forma se o leite não for descartado, os antibióticos podem estar presentes no leite em maior quantidade, o que justifica o índice maior nos meses secos do ano.

GRÁFICO 4 – Ocorrência de Resíduo de Antimicrobiano em Amostras de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF por mês em 2010 no Estado de Goiás



	Abr.	Maio	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.
Amostras de leite Geral	13,1	31	23,8	7,1	11,9	7,1	4,8	1,2
Amostras de leite Cru	20,8	45,3	9,4	9,4	7,5	7,5	0	0
Amostras de leite Pasteurizado	0	10,5	26,3	5,3	21,1	10,5	21,1	5,3
Amostras de leIte UHT	0	0	83,3	0	16,7	0	0	0

** Amostragem estratificada proporcionalmente

Os resultados da ocorrência de resíduo de antimicrobiano por capacidade de recebimento (leite cru) ou produção (leite pasteurizado e UHT) de leite pelos estabelecimentos inspecionados pelo SIF, não se encontra diferença significativa, isto quer dizer, que não importa a capacidade de recebimento ou produção de leite dos estabelecimentos (o que estaria relacionado com o tamanho do estabelecimento), que a ocorrência de resíduo de antimicrobianos ocorre em todas (Tabela 3). O que elimina a falsa idéia de que grandes estabelecimentos de laticínio, com grandes marcas possuem um maior controle higiênico e sanitário, portanto, melhores produtos do que as empresas de menor porte.

Um fator importante que deve ser levado em consideração é que o *Kit* Delvotest® SP-NP, segundo a literatura, é um teste de triagem e qualitativo, não sendo possível a identificação do principio antimicrobiano quando a amostra é

positiva, desta forma não é possível elucidar quais as principais drogas encontras, o que estimula estudos neste sentido. Acredito que a pesquisa deva deixar sucessores e que estudos complementares sejam incentivados.

TABELA 3 – Distribuição das Amostras de Leite quanto à Presença de Resíduos de Antimicrobianos por Capacidade de Recebimento (leite cru) e Produção (pasteurizado e UHT) de Leite pelos Estabelecimentos sob SIF no Estado de Goiás em 2010

Capacidade de recebimento e produção em mil litros de leite/dia pelos estabelecimentos sob SIF	Presença de Resíduos de Antimicrobianos			
	Negativo		Positiva	
	n	%	n	%
< 5 000	50	5,04	10	1,01
5.001 l–— 10.000	64	6,45	6	0,61
10.001 l–— 20.000	73	7,36	7	0,71
20.001 l–— 50.000	197	19,86	15	1,51
50.001 l–— 100.000	37	3,73	4	0,40
100.001 l–— 300.000	182	18,35	17	1,71
300.001 l–— 500.000	151	15,22	11	1,11
≥ 500.001	154	15,52	14	1,41
Total	908	91,53	84	8,47

P=0,492 - Teste: Qui-Quadrado

As amostras avaliadas para a presença de resíduos de antimicrobianos também foram analisadas para acidez titulável, na qual 251 amostras (25,30%) (22,60% < IC 95% < 28,00%), sendo 120 amostras (12,10 %) de leite cru, 95 amostras (9,57%) de leite pasteurizado e 36 amostras (3,63%) de leite UHT estavam fora do padrão estabelecido pela legislação (BRASIL, 2002; BRASIL, 1996), sendo este padrão para o leite cru, pasteurizado e UHT entre 0,14 a 0,18g de ácido lático por 100 mL de leite (Gráfico 5 e 6). O resultado aqui obtido vai de encontro ao de NASCIMENTO et al. (1995), que obtiveram irregularidades em relação à acidez em Belém.

O resultado de amostras fora do padrão para leite cru foi inferior ao encontrado por BELOTI et al. (1999), no qual, 61,4% das amostras apresentaram-se fora dos parâmetros determinados pela legislação e por FERREIRA et al. (2003), em avaliação do “leite informal” consumido em Sobral, quatro (66,7%) amostras das seis analisadas apresentaram-se fora dos padrões. Porém, foi

superior ao encontrado por SILVA et. al. (2008), no qual detectou 7,5% em amostras coletadas em Alagoas e por MENDES et al. (2010), que em Mossoró, detectaram 6,2 % das amostras fora do padrão estabelecido pela legislação.

GRÁFICO 5 – Acidez Titulável dentro e fora do padrão em Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás

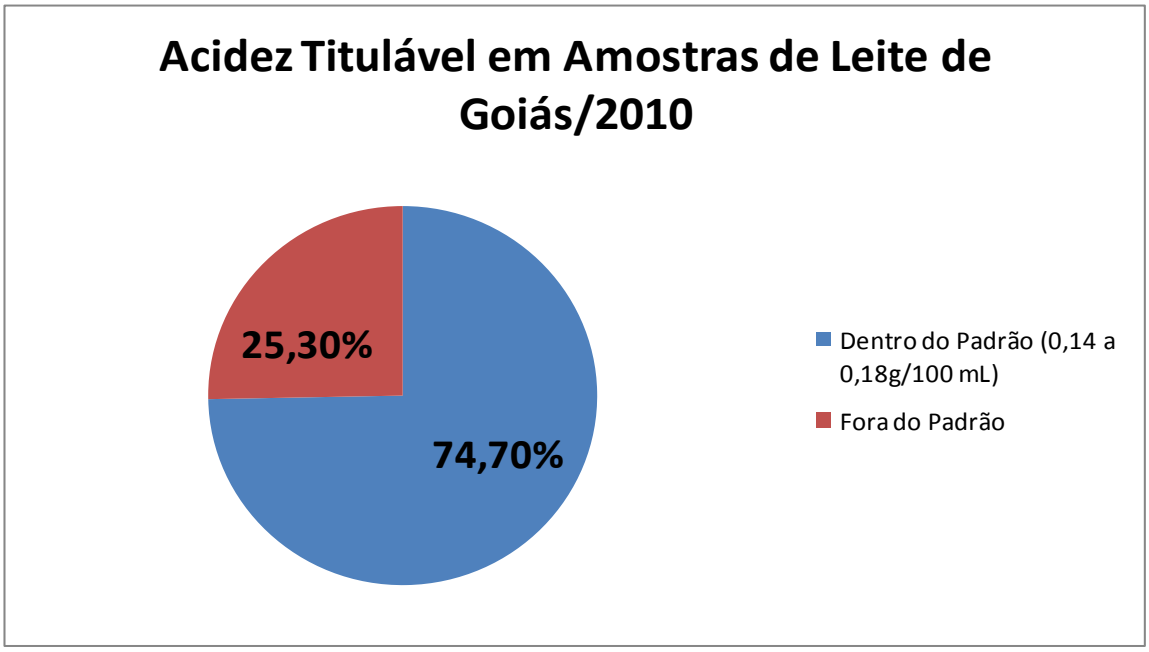
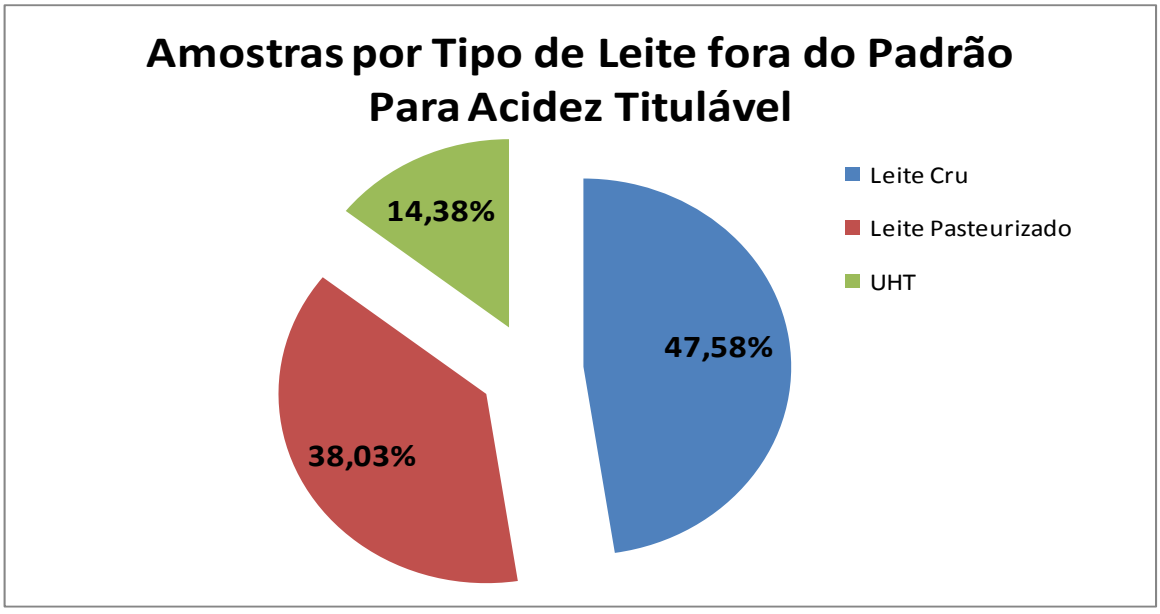


GRÁFICO 6 – Acidez Titulável em Amostras de Leite por Tipo de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás



A média da acidez titulável das amostras de leite foi de 0,165g /100mL, estando no intervalo permitido pela legislação, assim como as médias por tipo de leite que foram de: 0,170g/100mL para o leite cru, 0,152g100mL para o leite pasteurizado e para o leite UHT 0,172g/100mL (Tabela 4). O desvio padrão entre os tipos de leite variou entre si, porém os valores inferiores e superiores em relação à média estavam dentro do padrão estabelecido pela legislação, com exceção do leite UHT, no qual o valor superior em relação à média foi de 0,187g/100mL, o que se conclui que a média da acidez titulável do leite UHT pode estar acima do valor recomendado pela legislação (Tabela 4).

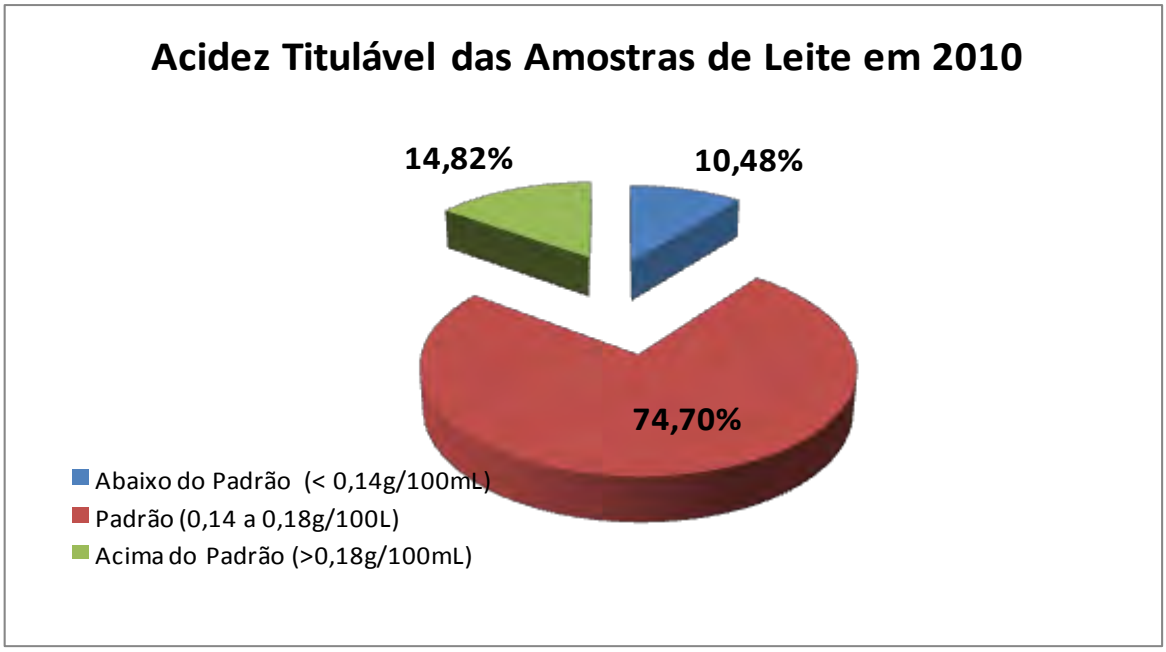
TABELA 4 – Média e Desvio Padrão da Acidez Titulável de Amostras de leite por Tipo de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF no Estado de Goiás em 2010

Tipo de Leite	N° de amostras	Média	Desvio	IC Média (95%)	
				Inferior	Superior
UHT	224	0,172	0,110	0,158	0,187
Cru	441	0,170	0,053	0,165	0,175
Pasteurizado	327	0,154	0,020	0,152	0,156
Total	992	0,165	0,064	0,161	0,169

A porcentagem detecta nesta pesquisa para leite pasteurizado fora do padrão de acidez titulável, encontra-se entre os valores obtidos por FAGUNDES et al. (2001) que verificaram em Toledo 75% e da pesquisa de BELOTI et al. (1996), que detectaram na cidade de Londrina 15%, o que indica que o valor encontrado está dentro da faixa que vem sendo detectada para acidez fora do padrão.

Das amostras que estavam fora do padrão para acidez titulável, 104 (10,48) estavam abaixo do padrão recomendado, já 147 (14,82) estavam acima do padrão estabelecido pela legislação (Gráfico 7).

GRÁFICO 7 – Acidez Titulável das Amostras de Leite dos Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF em 2010 no Estado de Goiás



A ocorrência de amostras com acidez titulável abaixo do padrão estabelecido pela legislação vigente (abaixo de 0,14g/100 mL) é sugestivo de adição ilegal de neutralizantes ao leite (como o hidróxido de sódio, e bicarbonato de sódio), constituindo fraudes graves, na tentativa de correção da acidez, o que vai de encontro ao que dizem BEHMER (1987) e PEREIRA et al. (2001) que afirmam que a adição de soluções alcalinas, para prolongar a conservação ou diminuir a acidez do leite, é considerada fraude. Contudo, bicarbonatos, formol, ácido bórico, peróxido de hidrogênio, bicarbonato de potássio, hipocloritos e ácido salicílico têm sido empregados como conservadores. Pode-se associar também a acidez abaixo do padrão a fraude por aguagem (adição de água) que leva à redução proporcional nos valores de acidez (RODRIGUES et al., 1995).

Já o percentual de amostras com acidez acima do permitido pela legislação vigente (acima de 0,18g/100mL), pode ter relação com falhas no processo de obtenção do leite, e até mesmo de sua conservação, provavelmente não houve uma refrigeração imediata logo após a ordenha, ou ainda devido a falha na higiene durante a produção, indicando um aumento de acidificação devido a conversão da lactose em ácido lático, por meio da proliferação dos microrganismos deterioradores e/ou patogênicos no leite (OLIVEIRA & NUNES,

2003; SILVA et al., 2008). Isto posto, torna-se importante ressaltar que o leite alcalino ou ácido é impróprio para o consumo e para a industrialização, podendo gerar riscos à saúde dos consumidores, pois podem conter substâncias perigosas (fraude) e/ou contaminação microbiana, além das inúmeras desvantagens no âmbito industrial, devido a perda do rendimento na industrialização desta matéria-prima.

Analisando os resultados por tipo de leite para acidez titulável, no leite cru, foram encontradas 120 amostras fora do padrão estabelecido pela legislação, no qual 33 (7,50%) amostras estavam abaixo do padrão, já 87 (19,70%) destas estavam acima do padrão, de um total de 441 amostras analisadas (Tabela 5 e 6).

Para o leite pasteurizado, foram detectadas 95 amostras fora do padrão estabelecido pela legislação, no qual 66 (20,20%) amostras estavam abaixo do padrão, já 29 (8,90%), destas estavam acima do padrão, de um total de 327 amostras analisadas (Tabela 5 e 6). Já para o leite UHT foram detectadas 36 amostras fora do padrão, no qual 5 (2,20%) amostras estavam abaixo do padrão e 31 (13,80%) destas estavam acima do padrão, de um total de 441 amostras (Tabela 5 e 6). Comparando o resultado obtido com a pesquisa de VILSON RHEINHEIMER et al. (2006) que não identificaram nenhuma amostra de leite pasteurizado e UHT acima do padrão para acidez titulável, entretanto 77, 8% das amostras de leite pasteurizado e 18% das amostras de leite UHT apresentaram acidez baixo do padrão, os autores concluíram que os seus dados sugerem evidências de fraude, que devem ser investigadas em trabalhos futuros, assim como se sugere nesta pesquisa.

TABELA 5 – Distribuição das Amostras por Tipo de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Acidez Titulável no Estado de Goiás em 2010

Nível de Acidez	UHT [A]		Cru [B]		Pasteurizado [C]	
	N° Amostra	%	N° Amostra	%	N° Amostra	%
Abaixo do Padrão	5	2,20	33	7,50	66	20,20
Padrão	188	83,90	321	72,80	232	70,90
Acima do Padrão	31	13,80	87	19,70	29	8,90
Total	224	100,00	441	100,00	327	100,00

P< 0,001 - Teste: Qui-Quadrado

** Letras Iguais Indica a Não Diferença significativa

TABELA 6 – Distribuição das Amostras fora do padrão por Tipo de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Acidez Titulável no Estado de Goiás em 2010

Nível de Acidez	UHT		Cru		Pasteurizado	
	N° Amostra	%	N° Amostra	%	N° Amostra	%
Abaixo do Padrão	5	13,89	33	27,5	66	69,47
Acima do Padrão	31	86,11	87	72,5	29	30,53
Total	36	100,00	120	100,00	95	100,00

Relatos de MARTINS et al. (2006), diferem dos aqui evidenciados, pois, das 55 amostras analisadas, estas obtidas de 20 diferentes marcas de leite UHT produzidas nos estados de Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná, 11 apresentaram resultados fora do padrão, obtendo um percentual de 20% do total analisado, onde 18,18% das amostras apresentaram valores abaixo do determinado e 1,82% ultrapassaram o intervalo permitido, se comparado com os valores desta pesquisa tem uma inversão de valores, nos quais a maior ocorrência foi do leite acima do padrão estabelecido pela legislação vigente.

Embora com a aplicação da Instrução Normativa n°. 51/2002/MAPA tem sido observado melhoria na qualidade do leite produzido no país, pode-se constatar que tanto no leite cru quanto no processado (pasteurizado e UHT) no Estado de Goiás, vem apresentando variações consideráveis em suas características físico-químicas. A alteração dos níveis de acidez titulável das amostras de leite avaliadas foi decorrente do aumento na concentração de ácido lático, sendo resultado da fermentação da lactose por bactérias, indicando elevada contaminação microbiológica, ou no caso de diminuição da acidez (possivelmente fraude) o que torna a matéria-prima inadequada para o processamento e consumo. Deve-se salientar que os métodos de beneficiamento do leite, como a pasteurização e esterilização, não são capazes de melhorar a qualidade do leite cru, embora reduzam a carga microbiana presente no alimento, como as bactérias patogênicas ao homem, más não suas enzimas e /ou toxinas, o que pode causar algum mal ao consumidor ou deteriorar o produto, diminuindo sua vida útil.

Observou-se que há diferença significativa na acidez titulável fora dos padrões entre os três tipos de leite analisados, o que significa que eles tem comportamentos diferentes em relação a ocorrência de amostras fora do padrão, sendo que para o leite abaixo do padrão o que tem maior ocorrência é o leite pasteurizado, seguido pelo leite cru e por último o UHT, já para o leite acima do padrão a ocorrência foi maior no leite cru, depois o leite UHT e pasteurizado em último (Tabela 5). Porém, ao se fazer a mesma avaliação, só que analisando dentro das amostras fora do padrão, nota-se uma inversão nas amostras acima do padrão, sendo o leite UHT em primeiro e em segundo o leite cru (Tabela 6).

O que chama a atenção é a elevada porcentagem de amostras acima do padrão para o leite UHT, apesar do mesmo passar por processo de ultrapasteurização e, em seguida, ser acondicionado em embalagens assépticas (dentro destas, o leite UHT fica protegido de qualquer contaminação) (ABLV, 2009), além de poder sofrer a adição de estabilizantes como o Citrato de sódio, Monofosfato de sódio, Difosfato de sódio, Trifosfato de sódio, separados ou em combinação, em uma quantidade não superior a 0.1g/100ml expressos em P_20_5 (BRASIL, 1997). No entanto algumas hipóteses para explicar este fato surgem, como: recontaminação (principalmente por microfuros nas embalagens); não adição do citrato de sódio no leite, ou ainda está sendo utilizado em quantidades insuficientes, para a acidez ficar dentro do padrão, sem ultrapassar a quantidade permitida em lei.

Alcançar os padrões estabelecidos por BRASIL (2002) e BRASIL (1996) não requer apenas critérios de inspeção e vigilância, mas de disseminação de políticas de qualidade, envolvendo todos os participantes do processo. Os órgãos públicos, indústrias e técnicos são partes importantes nesse processo, dadas a necessidade de desenvolver atividades de extensão, que visam à melhoria na qualidade do leite produzido, que atualmente não é uma exigência apenas da lei, mas também de mercado (PEDRICO et al., 2009).

Quanto aos resultados da acidez titulável por capacidade de recebimento (leite cru) ou produção (leite pasteurizado e UHT) de leite pelos estabelecimentos sob SIF, observa-se que há diferença significativa, ou seja, a acidez fora do padrão determinado pela legislação ocorre em estabelecimentos, independente da sua capacidade de recebimento ou produção de leite (Tabela 7).

TABELA 7 – Distribuição das Amostras de leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF, Quanto a Acidez Titulável, por Capacidade de Recebimento (leite cru) e Produção (pasteurizado e UHT) de Leite no Estado de Goiás em 2010

Capacidade de recebimento e produção em mil litros de leite/dia pelos estabelecimentos sob SIF	Acidez Titulável					
	Abaixo do Padrão		Padrão		Acima do Padrão	
	n	%	n	%	n	%
< 5000 [A]	15	1,51	43	4,33	2	0,20
5.001 I–— 10.000 [B]	17	1,71	53	5,34	0	0,00
10.001 I–— 20.000 [A,C]	21	2,12	50	5,04	9	0,91
20.001 I–— 50.000 [D]	18	1,81	160	16,13	34	3,43
50.001 I–— 100.000 [D,E]	2	0,20	37	3,73	2	0,20
100.001 I–— 300.000 [F]	10	1,01	131	13,21	57	5,75
300.001 I–— 500.000 [D,E,G]	13	1,31	137	13,81	13	1,31
≥ 500.001 [D,E,H]	8	0,81	130	13,11	30	3,02
Total	104	10,48	741	74,70	147	14,82

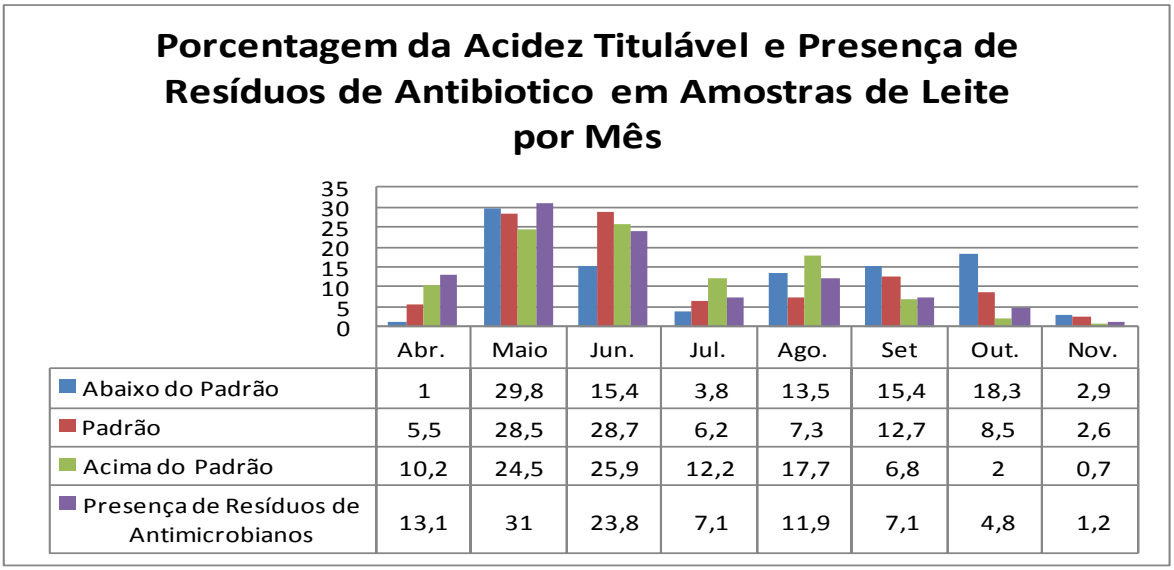
P< 0,001- Teste: Qui-Quadrado
** Letras Iguais Indica a Não Diferença significativa

Observa-se maior ocorrência de amostras abaixo do padrão em estabelecimentos que recebem ou produzem de 10 mil a 20 mil litros de leite por dia (estabelecimento de pequeno porte), ficando em segundo os estabelecimentos de 20 mil a 50 mil litros de leite/dia (médio porte) e em terceiro de 5 mil a 10 mil litros de leite/dia (pequeno porte) e em quarto estabelecimentos de 300 mil a 500 mil litros de leite/ dia (grande porte). Já para a acidez acima do padrão ocorreu mais em estabelecimentos de médio a grande porte. Isto pode ser explicado pelo fato de que em Goiás os laticínios que produzem leite pasteurizado serem de médio a grande porte e os que produzem leite UHT serem somente os de grande porte, assim pode-se observar na Tabela 7, que tiveram maior porcentagem em relação a acidez abaixo do padrão o leite pasteurizado, seguido do leite cru e por último o leite UHT, já para acidez acima do padrão foi respectivamente em ordem decrescente o leite cru, UHT e pasteurizado.

Os meses com amostras com acidez titulável abaixo do estabelecido pela legislação foram os meses em seqüência de maio, outubro, setembro e junho, já para acidez acima do padrão foram os meses de junho, maio, agosto e abril (Gráfico 8). Desta forma, observa-se que há semelhança em alguns meses,

como maio e junho, porém as porcentagens se diferem um pouco. Ao se comparar os meses de maior ocorrência de resíduos de antimicrobianos temos maio, junho, abril e agosto, tendo semelhança, com os meses de maior ocorrência de amostras fora do padrão para acidez titulável (Gráfico 8), no mais, analisando a relação existente entre a presença de resíduos de antimicrobianos com acidez titulável fora dos padrões, observa-se que não há diferença significativa entre os seus valores, o que indica que um leite que tenha acidez fora do padrão pode-se independentemente apresentar-se negativo ou positivo para a presença de antimicrobiano (Tabela 8).

GRÁFICO 8 – Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF Quanto à Acidez Titulável e Presença de Resíduos de Antimicrobianos por mês no



	Abr.	Maio	Jun.	Jul.	Ago.	Set	Out.	Nov.
Abaixo do Padrão	1	29,8	15,4	3,8	13,5	15,4	18,3	2,9
Padrão	5,5	28,5	28,7	6,2	7,3	12,7	8,5	2,6
Acima do Padrão	10,2	24,5	25,9	12,2	17,7	6,8	2	0,7
Presença de Resíduos de Antimicrobianos	13,1	31	23,8	7,1	11,9	7,1	4,8	1,2

Estado de Goiás em 2010

P < 0,001 - Teste: Qui-Quadrado

** Amostragem estratificada proporcionalmente

TABELA 8 – Distribuição das Amostras de Leite de Estabelecimentos sob Fiscalização do SIF de Acordo com a Ocorrência de Resíduo de Antimicrobianos e Acidez Titulável

Presença de Antimicrobiano	Abaixo do Padrão		Padrão		Acima do Padrão	
	n	%	n	%	n	%
Negativo	97	93,3	678	91,5	133	90,5
Positivo	7	6,7	63	8,5	14	9,5
Total	104	100,0	741	100,0	147	100,0

P = 0,734 - Teste: Qui-Quadrado

Deve se ressaltar que há uma grande necessidade de melhorar a qualidade do leite produzido no país, mantendo-o livre de contaminantes, incluindo os antimicrobianos e que esteja dentro dos padrões físico-químicos e microbiológicos (BRASIL, 1999). Entretanto a melhoria da qualidade é resultado de uma série de fatores, que envolve a educação e treinamento dos produtores e técnicos, desta forma há uma necessidade da conscientização do produtor rural no cumprimento das medidas higiênico-sanitárias, bem como do armazenamento, além é claro da implementação dos programas de autocontrole pelos laticínios, pois só desta forma poderá ser ofertado ao consumidor um produto compatível com a legislação vigente, quer no âmbito industrial ou comercial.

Revela-se também a necessidade da adoção de medidas rigorosas, pelos órgãos de fiscalização, responsáveis por impedir que alimentos que estejam fora dos padrões estabelecidos pela legislação cheguem aos consumidores e, afetem diretamente a saúde da população e comprometam o agronegócio da cadeia produtiva do leite e as exportações do mesmo e de seus derivados.

Portanto, todos os esforços devem ser desprendidos pelos principais envolvidos com a cadeia produtiva de leite brasileira, para assegurar que o leite saia da propriedade, passe pelo processamento e chegue ao consumidor com alta qualidade e livre de perigos para a saúde humana (BRITO, 2000).

Desta forma, espera-se que os dados desta pesquisa possam ser utilizados pelas autoridades de fiscalização dos alimentos, como o SIF, Agências de defesa Agropecuária, Vigilância Sanitária e o Serviço de Inspeção Municipal, como instrumento de verificação da eficiência do serviço executado por estes, podendo colaborar com a criação de políticas públicas mais rigorosas e eficientes, evitando e prevenindo os transtornos causados à saúde do consumidor e perdas econômicas. Assim são necessários mais estudos na área para conhecimento do assunto e para a elaboração de políticas públicas mais rigorosas, bem como programas de educação continuada e conscientização do produtor rural pelo serviço de inspeção e as indústrias.

6 CONCLUSÃO

Em função dos resultados obtidos na pesquisa pode-se concluir que:

O leite cru, pasteurizado e UHT produzidos e consumidos em Goiás, apresentou resultados fora dos padrões recomendados pela legislação federal (MAPA), no que se refere a ocorrência de resíduos de antimicrobianos e acidez titulável.

A ocorrência de resíduos de antimicrobiano em leite cru, pasteurizado e UHT foi de 8,47%, sendo considerada uma alta ocorrência.

Com relação a acidez titulável 25,30% das amostras de leite analisadas apresentaram-se fora do padrão estabelecido pela legislação.

Não há relação entre a acidez titulável fora do padrão e a presença de resíduos de antimicrobianos no leite.

Ao analisar os resultados obtidos neste trabalho, sugere-se uma adequação entre as ações dos órgãos de inspeção, as indústrias e os produtores.

REFERÊNCIAS

1. ABLV- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE LONGA VIDA. 2009. Disponível em: http://www.ablv.org.br/EmpresasAssociadas.aspx. Acessado em: 22 jul. 2010.

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

3. ALDAMANA, P.L.; MAYA, J.J.M.; ANGEL, L.S.S. Determination de penicilina y outros inhibidores em quesos frescos de La ciudade de Oaxaca, México. **Veterinaria Mexico** [online], n. 28, v. 3, p. 185-188, 1997. Disponível em: http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=1998/MX/MX98026.xml;MX1998000000. Acessado em: 18 dez. 2010.

4. ALLISON, J.R.D. Antibiotics residues in milk. **British Veterinary Journal** [online], v. 14, p. 9-16, 1995. Disponível em: http://www.science-direct.com/science/journal. Acessado em: 04 abr. 2009.

5. ALMEIDA, C.R. O sistema do HACCP como instrumento para garantir a inocuidade dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 53, p. 12-20, 1998.

6. ALTERTHUM, F. Origem e natureza química dos principais agentes antibacterianos. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 87-92.

7. ARAÚJO, W.P. Fagotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos, isoladas de leite. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science,** São Paulo, v. 35, n. 4, p. 4-9, 1998.

8. AURVALLE, A.E. Presença de antibióticos no leite. **Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 1, n. 3, p. 20-27, 1981.

9. BARBERIO, A.; GIELT, H.; DALVIT, P. *In vitro* sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e coliformes isolados de mastite bovina na região do Veneto, Itália, no período de 1996-1999. **Revista Napgama,** São Paulo, v. 5, n. 1, p. 3-10, 2002.

10. BARROS, G.M.S.; JESUS, N.M.; SILVA, M.H. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C, comercializado na cidade de Salvador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção** [online], v. 2, n. 3, p. 69-73, 2001. Disponível em: http://www.rbspa.ufba.br/printarticle.php?id=63&layout=html. Acessado em: 09 abr. 2009.

11. BATALHA, M. O. **Gestão Agroindustrial.** 3.ed. São Paulo: Atlas, 2008. 770 p.

12. BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do leite: leite, queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise**. 15.ed. São Paulo: Nobel, 1987. 320 p.

13. BELOTI, V.; BARROS, M.A.L.; FREIRE, R.L.; MARTINS, L.G.G.; SOUZA, J.A.; MANDUCA, S.; OSAKI, S. Aspectos Físico-Químicos do Leite Pasteurizado Tipo C Consumido na Cidade de Londrina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiana de Veterinária, 1996, p. 205.

14. BELOTI, V.: BARROS, M.A.F.: SOUZA, J.A.; NERO, L.A.; SANTANA, E.H.W.; BALARIN, O.; CURIAKI, Y. Avaliação da Qualidade do Leite Cru comercializado em Cornélio Procópio, Paraná - Controle do Consumo e da Comercialização. **Semana: Ciências Agrárias** [online], v. 20, n. 1, p. 12-15, mar. 1999. Disponível em: http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/4208/4528. Acessado em: 06 jun. 2010.

15. BORGES, G.T.; SANTANA, A.P.; MESQUITA, A.J.; MESQUITA, S.Q.P.; SILVA, L.A.F.; NUNES, V.Q. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira** [online], v. 1, n. 1, p. 59-63, 2000. Disponível em: http://www.revista.ufg.br/index.php/vet/article/view/236/200. Acessado em: 26 mar. 2009.

16. BORGES, G.T. (gabriela.borges@agricultura.gov.br) **Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes:** Controle de Resíduos de Antibióticos em Leite. Informações sobre o PNCRC. Mensagem recebida por SILVA, T.S. (thaysamariana@hotmail.com). Acessado em: 24 set. 2009.

17. BRANDÃO, S.C.C. **O Futuro da Qualidade do Leite Brasileiro**. Indústria de Laticínios, 2000. 68-71 p.

18. BRANT, M.C.; FIGUEIREDO, J.B. Prevalência da mastite subclínica e perdas de produção em vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 46, p. 595-606, 1994.

19. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal -** RIISPOA. Brasília: SDA, 1952. p. 124.

20. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria Ministerial nº. 51, de 06 de fevereiro de 1986. Dispõe sobre a instituição do Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal-PNCRB**. Diário Oficial da União**, Brasília, 07 fev. 1986. Seção 1, p. 2228. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2631. Acessado em: 15 ago. 2009.

21. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria Ministerial nº. 146, de 07 de março de 1996. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do leite UAT (UHT). **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 mar. 1996. Seção 1. Disponível em: http://www.agais.com/normas/leite/leite_uat.htm. Acessado em: 20 jan. 2011.

22. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº. 370, de 04 de setembro de 1997. Dispõe sobre a aprovação da inclusão do Citrato de Sódio no Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Leite UHT (UAT). **Diário Oficial da União**, Brasília, 08 de set. 1997. Seção 1, p. 19700. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1252. Acessado em: 24 jun. 2010.

23. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 448, de 10 de setembro de 1998. Dispõe sobre a proibição de fabricação, importação, comercialização e o emprego de preparações farmacêuticas de uso veterinário, de rações, e de aditivos alimentares contendo cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona, em animais cujos produtos sejam destinados à alimentação humana. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 set. 1998. Seção 1, p. 38.

24. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº. 42, de 20 de dezembro de 1999. Dispõe sobre a Alteração do Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel – PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 dez. 1999. Seção 1, p. 213. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16717. Acessado em: 15 mar. 2009.

25. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Medicamentos veterinários e saúde pública: uma proposta de ação para a ANVISA**. São Paulo: ANVISA, 2001. 19 p.

26. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n.° 51 de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre a Aprovação dos Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do leite tipo A, B e C do leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento técnico da coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a granel. **Diário Oficial da União,** Brasília, 20 set. 2002. Seção 1, p. 13. Disponível em: http://estranet.agricultura.gov.br. Acessado em: 20 nov. 2009.

27. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 09, de 27 de julho de 2003. Dispõe sobre a proibição da fabricação, da manipulação, do fracionamento, da comercialização, da importação e do uso dos princípios ativos cloranfenicol e nitrofuranos e os produtos que contenham estes princípios ativos, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de

todos os animais e insetos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 jun. 2003. Seção 1, p. 4. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1398. Acessado em: 24 jan. 2011.

28. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n° 68, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006, Seção 1, p. 8.

29. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Regimento Interno da Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria Nº 45, de 22 de março de 2007. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=13106. Acessado em: 19 set. 2009.

30. BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA). **Leite: segurança, qualidade e consumo?**. 2008a. Disponível em: http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2008/leite-seguranca-qualidade-e-consumo. Acessado em: 02 dez. 2009.

31. BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA**). Classificação mundial dos principais países produtores de leite de vaca - 2007**. 2008b. Disponível em: http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0212.php. Acessado em: 13 jan. 2011.

32. BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA**). Importância econômica.** 2008c. Disponível em: http://www.sistemasdeprodução.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/importancia.html. Acessado em: 01 fev. 2009.

33. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Regimento Interno da Secretaria de Defesa Agropecuário-Acessória de Gestões Estratégicas. **Projeções do Agronegócio Brasil - 2008/2009 a 2018/2019**. Brasília, fev. 2009a. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU_LATERAL/AGRICULTURA_PECUARIA/PROJECOES_AGRONEGOCIO/PROJE%C7%D5ES%20DO%20AGRONEG%D3CIO%202008-2019%20%20RESUMO.PDF. Acessado em: 17 set. 2009.

34. BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA). **Tratamento à Secagem**. 2009b. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_206_21720039247.html. Acessado em: 29 set. 2009.

35. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**. Agricultura empresarial**. 2010a. Disponível em:

https://i3gov.planejamento.gov.br/coi/textos/livro2/2.1_Agricultura_empresarial.pdf . Acessado em: 13 jan. 2011.

36. BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA). **Efetivo nacional de bovinos cresce 1,5% em 2009**. 2010b. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1761&id_pagina=1. Acessado em: 13 jan. 2011.

37. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº. 08, de 29 de abril de 2010. Dispõe sobre Aprovação dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes (Bovina, Aves, Suína e Eqüina), Leite, Mel, Ovos e Pescado para o exercício de 2010. **Diário Oficial da União,** Brasília, 28 mai. 2010c. Seção 1, p. 28. Disponível em: http://members.wto.org/crnattachments/2010/sps/BRA/10_2156_00_x.pdf. Acessado em: 14 jan. 2011.

38. BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **Qualidade do leite**. Juiz de Fora: EMBRAPA – CNPGL. Tortuga, 1998. 98 p.

39. BRITO, M.A.V.P. **Resíduos de antimicrobianos no leite**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de leite. 2000. 28 p. (Circular técnico).

40. BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. Produção higiênica do Leite**. Informe Agropecuário,** Belo Horizonte, v. 22, n. 211, p. 91-93, 2001.

41. BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NICOLAU, E.S.; OLIVEIRA, A.N.; OLIVEIRA, J.P.; NEVES, R.B.S.; MANSUR, J.R.G.; THOMAZ, L.W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no estado de Goiás. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 848-854, jun./ago., 2005.

42. CASTRO, M.F.P.M.; SCHMIDT, F.J.; LEITÃO, M.F.F. Boas práticas agrícolas e aplicação do sistema APPCC no cultivo e processamento industrial do café obtido pela via seca. **Revista Higiene Alimentar,** São Paulo, v. 16, n. 96, p. 29-42, 2002.

43. CODEX ALIMENTARIUS – FAO/WHO Food Standards. **Codex Guidelines for the Establishment of a Regulatory Programme for Control of Veterinary Drug Residues in Foods**. CAC/GL 16, 1993. Disponível em: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/47/CXG_016e.pdf. Acessado em: 19 set. 2009.

44. COELHO, V.R.P.; COSTA, E.O. Avaliação da influência da intensidade de mastite do quarto tratado por via intramamária na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite de quartos mamários não tratados. **Revista Napgama,** São Paulo, v. 5, n. 1, p. 11-15, 2002.

45. COELHO, V.R.P. **Avaliação de resíduos de antimicrobiano no leite de quartos mamários não tratados de vacas com mastite tratadas por via**

intramamária. 2003. 102 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Produtiva Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

46. 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.

47. COSTA, E.O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1999, 442-455 p.

48. COSTA, E.O.; RAIA, R.B.; GARINO JÚNIOR, F.; WATANABE, E.T.; RIBEIRO, A.R.; GROFF, M.R. Presença de resíduos de antibióticos no leite de pequena mistura de propriedades leiteiras. **Revista Napgama**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 10-13, 1999.

49. COSTA, E.O.; RAIA, R.B.; WATANABE, E.T.; GARINO JÚNIOR, F.; COELHO, V.R.P. Influência do tratamento intramamário de casos de mastite de bovinos em lactação em relação a presença de resíduos de antibióticos nos quartos sadios não tratados. **Revista Napgama,** São Paulo, v. 3, n. 4, p. 14-17, 2000.

50. DELAVAL. **Glândula Mamária**. Disponível em: http://www.delaval.com.br/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm. Acessado em: 15 set. 2009.

51. DELVOTEST. **On farm testing supplies delvotest**. Disponível em: http://images.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.nelsonjameson.com/farmfriend/farmfriend/delvotest_files/delvotest_packaging_system_new_low.jpg&imgrefurl=http://www.nelsonjameson.com/farmfriend/farmfriend/delvotest.html&usg=__FuGCR-3wOu4-_KF0JdCcR_lurw0=&h=155&w=207&sz=10&hl=pt-BR&start=3&um=1&tbnid=AivTVQn7hUNcxM:&tbnh=79&tbnw=105&prev=/images%3Fq%3Ddelvotest%26hl%3Dpt-BR%26lr%3Dlang_pt%26client%3Dfirefox-a%26channel%3Ds%26rls%3Dorg.mozilla:pt-BR:official%26hs%3Deml%26sa%3DN%26um%3D1: Acessado em: 16 nov. 2009.

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

53. DSM FOOD SPECIALTIES. DELVOTEST. **On farm testing supplies delvotest**. Disponível em: http://www.dsm.com/le/en_US/delvotest/html/home.htm. Acessado em: 26 mai. 2010.

54. DURR, J.W.; MORO, D.V.; RHEINHEIMER, V.;TOMAZI, T. Estado atual da qualidade do leite no Rio Grande do Sul. In: MESQUITA, A.J.; DURR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento Gráfico e Editora, 2006. p. 83-94.

55. EVANGELISTA, J. **Tecnologia dos Alimentos**, 2.ed. São Paulo, 1994. 98 p.

56. FAGUNDES, C.M.; MOLIN, L. Interferência dos resíduos de antibióticos no controle de qualidade do leite e derivados. **Informativo Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 13, n. 155, p. 24-30, 1988.

57. FAGUNDES, C.M. **Inibidores e controle de qualidade do leite**. Pelotas: Editora Universitária, 1997. 128 p.

58. FAGUNDES, M.R.M.; PALÁCIO, S.M.; PIEROZAN, D.; BOCARDI, J. Avaliação da Qualidade Microbiológica e Físico-Química de Cinco Marcas de Leite Tipo "C" Produzido e Comercializado na região de Toledo/PR (Cadeia Produtiva de Laticínios – Agropolo/Oeste). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21., 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBM, 2001, p. 374.

59. FAGUNDES, H. **Ocorrência de resíduo de antibiótico utilizado no tratamento de interrupção de lactação no início da lactação subseqüente em animais com período seco recomendado**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Produtiva Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

60. FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. **Chemicals in food.** [s.d]. Disponível em: http://www.fao.org/ag/AGN/agns/chemicals_en.asp. Acessado em: 04 abr. 2009.

61. FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. **The Special Programme for Food Security**. 2010. Disponível em: http://www.fao.org/spfs/about_spfs/mission_spfs/en/. Acessado em: 07 jan. 2010.

62. FEIJÓ, L.D. (leandro.feijo@agricultura.gov.br). **Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes**: Controle de Resíduos de Antibióticos em Leite. Informações sobre o PNCRC. Mensagem recebida por SILVA, T.S. (thaysamariana@hotmail.com). Acessado em: 23 set. 2009.

63. FERREIRA, N.D.L.; FERREIRA, S.H.F.; MONTE, A. L.S.; VASCONCELOS, N.L. Avaliação das condições sanitárias e físico-químicas do leite informal consumido em Sobral, Ceará. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 108, p. 79-82, 2003.

64. FONSECA, L.F.; SANTOS, M.V. Contagem de células somáticas. In: Qualidade do leite e controle de mastite, São Paulo: Lemos, 2000. p. 44-58.

65. FONSECA, L.F.L. SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e Controle de Mastite.** 2.ed. São Paulo: Lemos, 2001, p. 169-174.

66. GELLI, D.S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Inibidores microbianos em leite pasteurizado do comércio da cidade de São Paulo. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 19-24, 1984.

67. GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Higiene do leite: aspectos gerais das mastites. **Revista Higiene Alimentar,** São Paulo, v. 9 n. 36, p. 12-16, 1995.

68. GIBBON BURGENER, S.N., KANEENE, J.B., LLOYD, J.W., ERSKINE, R.J. Influence of the milk and dairy beef quality assurance program on dairy farm drug management practices. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 26, n. 12, p. 1960-1964, 2000.

69. GOMES, A.T.; LEITE, J.L.B.; CARNEIRO, A.V. **O agronegócio do leite no Brasil**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2001. p. 49-61.

70. GOMES, S.T. **Diagnóstico da Cadeia Produtiva do leite em Goiás.** Federação da Agricultura de Goiás (FAEG), 2009. 63 p. Disponível em: http://www.faeg.com.br/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=2&Itemid=109. Acessado em: 25 nov. 2009.

71. HILLERTON, J.E.; HALLEY, B.I.; NEAVES, P.; ROSE, M.D. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using delvotest microbial inhibitor test. **Journal Dairy Science,** Estados Unidos da América, v. 82, n. 4, p. 704-707, 1999.

72. HOTT, M.C.; CARVALHO, G.R. Análise espacial da concentração da produção de leite no Brasil e potencialidades geotecnológicas para o setor. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 13., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBSR, 2007. p. 2729-2736.

73. JONES, G.M.; SEYMOUR, E.H. Cowside antibiotic residue testing. **Journal of Dairy Science** [online], v. 71, p. 1691-1699, 1988. Disponível em: http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302%2888%2979734-9/abstract. Acessado em: 15 jan. 2011.

74. KANG, J.M.; SEYMOUR, E.H. Occurrence of false-positive results of inhibitor on milk samples using the Delvotest SP assay. **Journal Food Protection**, v. 64, n. 8, p. 1-5, 2001.

75. KUKUROVA, I.**;** HOZOVA, B. Interactions of antimicrobials in milk and their detection by the disk diffusion method and delvotest SP. **Journal of Association of Official Analytical Chemistry International** [online], v. 86, n. 3, p. 529-533, 2003. Disponível em: http://www.atypon-link.com/AOAC/doi/abs/10.5555/jaoi.2003.86.3.529. Acessado em: 24 jan. 2011.

76. LEME, F.B.P. **Presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de diferentes tipos de leite comercializados no município de São Paulo**. 2005. 103 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo, São Paulo.

77. LIMA, W.M. **A indústria do leite em Goiás**. SEPIN - Superintendência de Estatística, Pesquisa e Informação / SEPLAN / Governo de Goiás. 2006.

Disponível em: http://www.seplan.go.gov.br/sepin/pub/conj/conj6/03.htm. Acessado em: 10 mai. 2010.

78. LOPES, L.T.; GANDARA, A.L.N.; CRISTIANINI, M. Detecção de resíduo de antibiótico em leite comercial na cidade de Campinas. **Revista do Instituto Laticínio Cândido Tostes,** Juiz de Fora, v. 53, n. 301/302/303, p. 64-67, 1998.

79. LUNARDI, R.; DUTRA, D.F.C.; BICALHO NETO, J.M.; MARQUES, K.M. Cadeia produtiva do leite: o caso das Mini-Usinas de Cachoeira do Sul. In: ENCONTRO DE ECONOMIA GAÚCHA, 3., 2006, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: EEG, 2006.

80. MACEDO, L.C.S.; FREITAS, J.A. Ocorrência de Resíduos de Antimicrobianos em leite. **Revista Ciência Agrária** [online], n. 52, p. 147-157, jan./dez., 2009. Disponível em: http://www.ufra.edu.br/editora/revista_52/REVISTA%2052_artigo%2013.pdf. Acessado em: 09 fev. 2011.

81. MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SILVA, L.F.P. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 57, n. 2, p. 359- 36, 2000.

82. MACIEL, J.F.; BONOMO, P.; DAMASCENO, M.M.; SAMPAIO, K.A.; SANTOS, L.S.; CARVALHO, E.A.; BONOMO, R.C.F. Qualidade microbiológica de leite pasteurizado comercializado em Itapetinga-BA. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 20., 2003, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Congresso Nacional de Laticínios, 2003. p. 131-134.

83. MARTINS, M.A., VAZ, A.K. Comparação entre Delvotest P e o teste de coagulação pelo fermento láctico para a detecção de substâncias inibidoras no leite. **Hora Veterinária**, Porto Alegre**,** v. 19, n. 113, p. 53-55, 2000.

84. MARTINS, F.O.; SILVA, C.A. O.; CAMPOS, M.E.M.; ANTUNES, V.C; MILAGRES, M.P.; BRANDÃO, S.C.C. Avaliação da composição, da qualidade físico-química e ocorrências de adulterações em leite UHT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. **Anais…** [online]. Goiânia: CBQL, 2006. Disponível em: http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p043.pdf. Acessado em: 01 jun. 2010.

85. MCINTOSH, C.; SHELDON, M. The new Delvotest SP: what are the implications for dry cow therapy?. **Cattle Practice** [online], v. 10, p. 119-123, 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0101-20612005000100023&pid=S0101-20612005000100023&lng=en. Acessado em: 24 jan. 2011.

86. MEDEIROS, N.G.A.; CARVALHO, M.G.X.; LEITE, E.O.; PEREIRA, J.M.; PONTES, M.P.S. Detecção de antibióticos no leite “in natura” consumido no

município de Patos-PB. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4., 1999, Recife. **Anais...** Recife: SPEMVE, 1999. p. 225-226.

87. MEDEIROS, N.G.A.; CARVALHO, M.G.X.; SANTOS, M.G.O.; LIMA, S.C.P. Detecção de antibióticos em leite in natura consumido no município de Patos, Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 124, p. 85-88, 2004.

88. MENDES, C.G.; SAKAMOTO, S.M.; SILVA, J.B.A.; JÁCOME, C.G.M.; LEITE, A.I. Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira** [online], v. 11, n. 2, p. 349-356, abr./jun. 2010. Disponível em: http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/1146/6839. Acessado em: 21 jan. 2010.

89. MENTEN, J.F.M. Probióticos e seus benefícios. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1993, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 1993. p. 203-219.

90. MINEO, H.; KANEKO, S. An analytical study of antibacterial residues in meat: the simultaneous determination of 23 antibiotics and 13 drugs using gas chromatography. **Veterinary Human Toxicology** [online], v. 34, n. 5, 1992. Disponível em: http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0101-20612005000100023000023&pid=S0101-20612005000100023&lng=en. Acessado em: 24 jan. 2011.

91. MITCHELL, J.M.; GRIFFITHS, M.W.; McEWEN, S.A.; McNAB, W.B.; YEE, J. Antimicrobial drung residues en milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. **Journal of Foof Protection**, Des Moines, v. 61, n. 6, p. 742-756, 1998.

92. MOREIRA, P.C.; SILVA, L.A.F.; MESQUITA, A.J. **Resistência de *Staphylococcus coagulase* positiva e *Streptococcus sp.* Isolados do leite de vacas com mastite clinica na bacia leiteira de Goiânia** [online], 1997. Disponível em: http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat/article/viewFile/2970/3016. Acessado em: 04 abr. 2009.

93. MULLER, E.E. Qualidade do leite: células somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2002, Toledo. **Anais…** Toledo, 2002. p. 206-217.

94. NASCIMENTO, J.A.C.; SILVA, R.A.G.; FREITAS, J.A. Características do leite fluido consumido em Belém, Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 47, n. 3, p. 435-445, 1995.

95. NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição** [online], v. 14, n. 2, p. 119-124, 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732001000200005. Acessado em: 04 abr. 2009.

96. NERO, L.A. ***Listeria monocytogenes*** **e** ***Salmonella*** **spp. em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção.** 2005**.** 141f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

97. 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** [online], Campinas, v. 27, n. 2, p. 787-792, 2007. Disponível em: http://www.infocentral.com.br/cta/revista/vol027/nr_2/6_finalizad_v27n2a1836.pdf. Acessado em: 10 abr. 2009.

98. NOGUEIRA, J.L.; SILVA, M.V.M.; PASSOS, C.C.; FERREIRA, A.O.; MIGLINO, M.A.; AMBRÓSIO, C.E. A interferência na saúde devido a presença de antibióticos no leite: uma realidade existente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MÉDICINA VETERINÁRIA, 36., 2009, Porto Seguro. **Anais...** [online]. Porto Seguro: CBMV, 2009. Disponível em: http://www.conbravet.com.br/doc/Apresentacoes_dos_Trabalhos.pdf. Acessado em: 01 jan. 2010.

99. 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/sepin/pub/conj/conj9/04.htm**.** Acessado em: 10 jun. 2010.

100. NUNES, M.T.; D' ANGELINO, J.L. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite, em fazendas produtoras e no leite pronto para consumo. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo. v. 21, p. 57-61, mar. 2007.

101. OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, L. GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar** [online], v. 13, n. 62, p.10-16, 1999. Disponível em: http://www.bichoonline.com.br/artigos/ha0012.htm. Acessado em: 03 abr. 2009.

102. OLIVEIRA, M. M. A.; NUNES, I. F. Análise microbiológica e físico-química do leite pasteurizado tipo "C" comercializado em Terezina, PI. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 111, p. 92-94, 2003.

103. PAIGE, J.C. The issues of residues and human health. **Journal of the American Veterinary Medicine Association** [online], Schaumburg, v. 23, n. 12, p.1735-1736, 1998. Disponível em: http://translate.google.com.br/translate?hl=pt-br&sl=en&u=http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9861963&ei=bpYOTdafJsG88gafl6jvDg&sa=X&oi=translate&ct=result&resnum=3&ved=0CDMQ7gEwAg&prev=/search%3Fq%3DThe%2Bissues%2Bof%2Bresidues%2Band%2Bhuman%2Bhealth.%2BJournal%2BAm.%2BVeterinary%2BMedicine%26hl%3Dpt-br%26lr%3D%26prmd%3Divns. Acessado em: 19 dez. 2010.

104. PALERMO NETO, J. Resíduo de antimicrobianos em leite. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, v. 7, n. 22, p. 65-71, jan/fev/mar/abr, 2001.

105. PEDRICO, A.; CASTRO, J.G.D.; SILVA, J.E.C.S.; MACHADO, L.A.R. Aspectos higiênico-sanitários na obtenção do leite no assentamento alegre, município de Araguaína, To. **Ciência Animal Brasileira** [online], v. 10, n. 2, p. 610-617, abr./jun. 2009. Disponível em: http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/3382/4855. Acessado em: 12 jan. 2011.

106. PELEGRINO, R.C.; MELLO, F.C.; AMARAL, G.A.C. Mastite em vacas leiteiras. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** [online], v. 6, n. 10, 2008. Disponível em: http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/edic-vi-n10-RL56.pdf. Acessado em: 19 nov. 2009.

107. PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F.; COSTA JÚNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2.ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. 234 p.

108. PESSANHA, R.P.; GONTIJO FILHO P.P. Uso de antimicrobianos como promotores de crescimento e resistência em isolados de *Escherichia coli* e de Enterobacteriaceae lactose-negativa da microflora fecal de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** [online], v. 53, n. 1, 2001. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352001000100018&script=sci_arttext. Acessado em: 24 jan. 2011.

109. PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba: Westfalia Surge/Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192 p.

110. POLEGATO, E.P.S.; RUDGE, A.C. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini-usinas da região de Marília – São Paulo/ Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 56-63, 2003.

111. PRATA, L.F. Leite UHT: solução ou problema? Uma análise da situação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, p. 10-15, 1998.

112. PRATA, L.F. Leite UHT. In: **Fundamentos da ciência do leite**. Jabuticabal: Funepe-Unesp, p.189-208, 2001.

113. RAIA JÚNIOR, R. B. **Influência da mastite na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite**. 2001. 78 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

114. RINALDI, R.N.; RAMOS, M.J.; FALÇÃO, G.P. Percepções do consumidor relacionadas à qualidade e segurança dos alimentos - um estudo de caso aplicado na universidade aberta à terceira idade - Unati de Toledo/PR. In:

CONGRESO LATINOAMERICANO DE SOCIOLOGÍA RURAL, 7., 2010, Porto de Galinhas. **Anais…** [online]. Porto de Galinhas: ALASRU, 2010. Disponível em: http://www.alasru.org/cdalasru2010/1%20trabalhos%20completos/GT-4/RUBIA%20NARA.pdf. Acessado em: 14 jan. 2011.

115. ROBINSON, R.K. **Dairy Microbiology Handbook**. 3.ed. Wiley-Interscience, 2002. 784 p.

116. ROCA, M.; CASTILLO, M.; MARTI, P.; ALTHAUS, R.L.; MOLINA, M.P. Effect of Heating on the Stability of Quinolones in Milk. **Journal of Agricultural and food** chemistry [online], v. 58, n. 9, p. 5427–543, 2010. Disponível em: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9040518. Acessado em: 12 de jan. 2011.

117. RODRIGUES, R.; FONSECA, L. M.; SOUZA, M. R. Acidez do leite. Caderno Técnico da Escola de Veterinária- UFMG, n. 13, p.63-72, 1995.

118. ROSÁRIO, T.R. **Avaliação da presença de resíduos de antibióticos no leite comercializado no município de Pirassununga**. 2002. 89 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Produtiva Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

119. RUEGG, P.L. Practical food safety intervention for dairy production. **Journal of Dairy Science** [online], Savoy, v. 86, p. E-1-e-9, 2003. Disponível em: http://217.218.200.220/c/document_library/get_file?p_l_id=18927&folderId=20986&name=DLFE-19046.pdf. Acessado em: 24 jan. 2011.

120. RUIZ, R.L.; AFERRI, G.; CORRÊA, C. Microbiologia do leite. In: RUIZ, R, L. **Microbiologia Zootécnica**. São Paulo: Roca, 1992, 215-250 p.

121. SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2007. 263 p.

122. SANTOS, R.C. A inspeção de alimentos e segurança nacional. **Revista Conselho Federal de Medicinia Veterinária**, Brasília, v. 1, n. 3, p. 24, set./nov. 1995.

123. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Importância de bactérias psicrotróficas sobre a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

124. SANTOS, M.V. Antibióticos: como não deixar resíduos no leite. **Balde Branco** [online], v. 460, p. 54-57, 2003. Disponível em: http://www.cbgl.com.br/files/Legislacao/Antibiotico%20como%20nao%20deixar%20residuos%20no%20leite.pdf. Acessado em: 04 abr. 2009.

125. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007. 314 p.

126. SAVILLE, W.J.A.; WITTUM, T.E.; SMITH, K.L. Association between measures of milk quality and risk of violative antimicrobial residues in grade- A raw milk. **Journal of the American Veterinary Medical Association – JAVMA** [online], Schaumburg, v. 217, n.4, p. 541-545**,** 2000**.** Disponível em: http://avmajournals.avna.org . Acessado em: 04 abr. 2009.

127. SCHENCK, F.J.; CALLERY, P.S. Chromatographic methods of analysis of antibiotics in milk. **Journal of Chromatography** [online], Amsterdam, v. 812, p. 99-109, jul., 1998. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TG8-3T22KS8-7&_user=10&_coverDate=07%2F03%2F1998&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1618371387&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=bf8dd47d92620ace42860c43ec4bfed1&searchtype=a. Acessado em: 24 jan. 2011.

128. SCHENCK, F.J.; FRIEDMAN, S.L. The effect of storage at 4°C on the stability of ampicillin residues in raw milk. **Food Additives and Contaminants**. Basingstoke, v. 17, n. 8, p. 675-677, 2000.

129. SILVA, J.A. As novas perspectivas para o controle sanitário dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 65, p. 22-25, 1999.

130. SILVA, A.N. **Manual de coleta do Laboratório de Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás** [Apostila]. 2007. 24 p.

131. SILVA, M.V.M.; ARAÚJO, K.P.C. Mastite e qualidade do leite. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, p. 20 – 23, out./dez. 2008.

132. SILVA, M.C.D.; SILVA. J.V.L.; RAMOS, A.C.S.; MELO, R.O.; OLIVEIRA, J.O. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite do Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, jan./mar., 2008.

133. SILVA, M.V.; NOGUEIRA, J.L. Mastite: Controle e Profilaxia no Rebanho Bovino. **Revista Cientifica Eletrônica de Medicina Veterinária** [online], v. 8, n. 15, jun. 2010. Disponível em: http://www.revista.inf.br/veterinaria/revisao/ANOIIIEDI15RL05.pdf. Acessado em: 15 jan. 2011.

134. SMITHI, K.L. Standards for somatic cells in milk: Physiological and regulatory. **Newsletters of the International Dairy Federation**, n.144, p.7- 9, 1996.

135. SOUZA, N.G. **Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite de consumo no estado de Santa Catarina.** 1998. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

136. SPEARS, E.E., KASSOUF, A.L. A segurança dos alimentos: uma preocupação crescente. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 18-19. 1996.

137. SPINOSA, H.S.; GORNIAK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, 646 p.

138. SPREER, E. **Lactologia industrial**. 2.ed. Zaragora: Acribia, 1991. 617p.

139. SIQUEIRA, K.B.; ALMEIDA, M.F. Projeções para o mercado lácteo mundial. **Panorama do Leite online-** Centro de Inteligência do Leite- CILeite [online], v. 4, n. 43, jun. 2010. Disponível em: http://www.cileite.com.br/panorama/conjuntura42.html. Acessado em: 15 jun. 2010.

140. STEVENSON, W.J. **Estatística aplicada à administração**. São Paulo: Haper & Row do Brasil,1981. 495 p.

141. TETZNER, T.A.D.; BENETTI, E.; GUIMARÃES, E.C.; PERES, R.F.G. Prevalência de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru na região do Triângulo Mineiro, MG. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 130, p. 69-72, abr., 2005.

142. TOTORRA, G.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Drogas antimicrobianos. In: TORTORA, G; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 6.ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. p. 531-552.

143. TRONCO, V.M. Sugestões de melhorias da qualidade para a indústria de laticínios através do uso do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). **Leite & Derivados,** São Paulo, n. 33, p. 50-58, mar./abr. 1997.

144. UE – União Européia. **Residues of Veterinary Medicinal Products-Introduction**. 2009. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/index_en.htm e http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/index_en.htm. Acessado em: 19 set. 2009.

145. VAN EGMOND, H.J.; NOUWS J.F.M.; SCHILT, R.; VAN LANKVELD-DRIESSEN W.D.M.; STREUTJENS-VAN NEER, E.P.M.; SIMONS F.G.H. Stability of antibiotics in meat during a simulated high temperature destructions process. In: MAIN INDEX EURO RESIDUE, 4., 2000, Veldorven. **Anais….** [online]. Veldorven: MAIN INDEX EURO RESIDUE, 2000. 231 p. Disponível em: http://www.euroresidue.nl/ER_IV/Contributions%20A-H/Egmond%20van%20430-437.pdf. Acessado em: 15 jan. 2011.

146. VIEIRA, S. **Introdução a bioestatística**. 3.ed. Rio de Janeiro: Campus,1980. 195p.

147. VILSON RHEINHEIMER, J.W.; DÜRR, M.A.W.; HEPP, D.V.; MORO, M.R.C.; JACOBS, V.L.; ANTONI, M.A.; SAGGIORATTO, G. A.; DAL'MASO, L.B.; RODRIGUES, J.S.; CLERI DORO, S.B.; FONTANELI R.S. Qualidade de leite fluido de diferentes marcas comercializadas em Passo Fundo In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006. **Anais...** [online]. Goiânia: CBQL, 2006. Disponível em: http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p007.pdf. Acessado em: 10 fev. 2011.

148. ZOCCAL, R.; CARNEIRO, A.V.; CARVALHO, G.; STOCK, L.A.; CHAIB FILHO, H.; GARAGONY, F.L. Distribuição espacial da pecuária leiteira no Brasil. In: REUNION LATINO AMERICANA DE PRODUCCION ANIMAL, 20., 2007. Cuzco-Peru. **Anais...** [online]. Cuzco-Peru: ALPA, 2007. Disponível em: http://www.cileite.com.br/sites/default/files/distribuicao_espacial_da_pecuaria_leiteira_no_brasil.pdf. Acessado em: 13 jan. 2011.

149. ZOCCAL, R.; STOCK, L.A.; REIS FILHO, R.J.C.; CARNEIRO, A.V.; MARTINS, P.C.; CARVALHO, G.R. Agropolo Sobral. In: ZOCCAL, R.; MARTINS, P.C.; CARNEIRO, A.V.; FILHO, R.J.C.R.; NOGUEIRA, J.N.A. **Competitividade da cadeia produtiva do leite no Ceará: produção primária**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2008. p. 341-364. Disponível em: http://www.prodemb.cnptia.embrapa.br/busca.jsp?baseDados=INSTIT&fraseBusca=CNPGL%20em%20SIG&forcaDetalhe=0. Acessado em: 13 jan. 2010.