

DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE SUBSTÂNCIAS COM AÇÃO ANTIMICROBIANA NOS LEITES UAT E PASTEURIZADO COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE ITABUNA-BAHIA¹

Uílio Macks Barros Brito²
Leonara Martins de Souza²
Pedro Alexandre Gomes Leite³
Antônio Roberto da Paixão Ribeiro³

RESUMO

O leite é um alimento rico em nutrientes e bastante importante na dieta. A ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite pode trazer sérios riscos à saúde coletiva, além de trazer prejuízos para a indústria de laticínios. Foram analisadas 100 amostras de leite UAT de 17 marcas diferentes e 100 amostras de leite pasteurizado de três marcas diferentes comercializados nos principais estabelecimentos varejistas do município de Itabuna-BA. Realizou-se o teste de inibição de crescimento bacteriano com as bactérias teste *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* semeadas em Ágar Mueller Hinton e observado a formação de halo de inibição em volta de papéis filtro mergulhados nas amostras de leite. No leite UAT, foram detectadas 34% de amostras positivas, sendo 8% para *Escherichia coli*, 7% para *Bacillus subtilis* e 19% para ambos. Já no leite pasteurizado, foram detectadas 27% de amostras positivas, sendo 7% para *Escherichia coli*, 11% para *Bacillus subtilis* e 9% para ambos. Observou-se uma alta frequência de resíduo de antibiótico nos leites estudados, devendo-se aumentar a fiscalização por parte dos órgãos responsáveis e realizar campanhas educativas mostrando os riscos provocados pela presença desses resíduos no leite consumido e, com isso, buscar a melhoria da qualidade do leite UAT e Pasteurizado comercializado na região pesquisada.

Palavras-chave: antimicrobiano, leite, qualidade, resíduo.

DETECTION OF RESIDUES OF SUBSTANCES WITH ANTIMICROBIAL ACTION IN THE UHT MILK AND PASTEURIZED MILK SOLD IN THE CITY OF ITABUNA-BAHIA

ABSTRACT

The milk is a rich food in nutritious and very important in the diet. The incidence of residues of antimicrobial in the milk can bring serious risks to the collective health, besides bringing damages to the industry of dairy products. They were analyzed 100 samples of UHT milk of 17 different marks and 100 samples of pasteurized milk of three different marks marketed in the principal retail establishments of the city of Itabuna-BA. It was realized the test of inhibition of bacterial growth with the test bacterias *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* sowed in Agar Mueller Hinton and the formation of halo of inhibition was observed around the filter papers plunged into the samples of milk. In the UHT milk, 34% positive samples were detected, being 8% for *Escherichia coli*, 7% for *Bacillus subtilis* and 19% for both of them. Already in the pasteurized milk, 27% positive samples were detected, being 7% for

¹ Entidade financiadora da pesquisa: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB

² Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz, - UESC

³ Docente do curso de Medicina Veterinária – Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais – UESC. Contato principal para correspondência

Escherichia coli, 11% for *Bacillus subtilis* and 9% for both. It was observed a high frequency of residue of antibiotic in the milk samples studied, being necessary to increase the inspection by the responsible organs and to carry out educative campaigns showing the risks caused by the presence of these residues in the consumed milk and, with that, to look how to improve the quality of the UHT milk and Pasteurized milk sold in the investigated region.

Keywords: antimicrobial, milk, quality, residue.

DETECCION DE RESIDUOS DE SUSTANCIAS CON ACCION ANTIMICROBIANA EN LA LECHE UAT Y PASTEURIZADA COMERCIALIZADAS EN LA CIUDAD DE ITABUNA-BAHIA

RESUMEN

La leche es un alimento rico en nutrientes y muy importante en la dieta. La casualidad de residuos de antimicrobianos en la leche puede traer los serios riesgos a la salud colectiva, además de traer los daños y perjuicios a la industria de producto lácteos. Se analizaron 100 muestras de leche UAT de 17 marcas diferentes y 100 muestras de leche pasteurizados de tres marcas diferentes comercializadas en las principales tiendas minoristas en la ciudad de Itabuna-BA. Se realizó la prueba de inhibición de crecimiento bacteriano con las bacterias testes *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* sembrados en el Agar Mueller Hinton y se observó la formación de halo de inhibición alrededor de los papeles de filtro sumergido en muestras de leche. En la leche UAT se detectaron 34% de las muestras positivas, mientras siendo 8% para *Escherichia coli*, 7% para *Bacillus subtilis* y 19% para ambos. Ya en la leche pasteurizada, se detectaron 27% de las muestras positivas, mientras siendo 7% para *Escherichia coli*, 11% para *Bacillus subtilis* y 9% para ambos. Se observó una alta frecuencia de residuo de antibiótico en las leches estudiadas, debe aumentar la supervisión de las agencias responsables y llevar a cabo campañas educativas que muestran los riesgos provocados por la presencia de estos residuos en la leche que se consumen y, con eso, mirar cómo mejorar la calidad de la leche UAT y leche Pasteurizada comercializada en la región estudiada.

Palabras clave: antimicrobiano, leche, calidad, residuo.

INTRODUÇÃO

O leite é o fluido secretado pelas glândulas mamárias de fêmeas mamíferas com a função de fornecer as necessidades nutricionais a seus filhotes (1). Comercialmente é denominado como leite sem nenhuma outra especificação o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (2).

É um alimento de consumo recomendado para todas as faixas etárias (3). É composto por cerca de 87% de água, 3,8% de gordura, 3,5% de proteínas, 4,9% de lactose e 0,8% de sais. Contém proteínas de alto valor biológico, boa digestibilidade das gorduras, é rico em cálcio e fósforo e possui notáveis quantidades de vitaminas A e B₂, além de exercer uma influência reguladora sobre a microbiota do trato intestinal tornando-se, assim, uma fonte importante de nutrientes para o homem (1,4). Além do valor nutritivo, o leite está entre os produtos mais importantes na agropecuária brasileira por sua participação na geração de renda e empregos (5).

O Leite fluido comercializado no Brasil é composto por leite pasteurizado e leite UAT (Ultra Alta Temperatura). Segundo o Centro de Inteligência do Leite - CILeite (6), em 2012, foram consumidos cerca de 10,9 bilhões de litros de leite no Brasil.

Entende-se por leite pasteurizado, o leite fluido elaborado a partir do leite cru, que tenha sofrido tratamento térmico com uma temperatura de 72° a 75°C por 15 a 20 segundos (2). E por leite UAT, o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura de 130°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (7).

O leite contaminado por substâncias químicas é considerado adulterado e impróprio para o consumo e a identificação de resíduos dessas substâncias no leite constitui um dos princípios fundamentais para a aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). (5).

A ocorrência de resíduos de antibióticos no leite é um assunto com cada vez mais destaque na mídia e com grande impacto aos consumidores. São detectados com frequência, tanto no Brasil como em outros países, resíduos destes no leite (3,8,9).

Os resíduos presentes no leite consumido podem provocar, a depender da quantidade, riscos para a saúde pública, provocando reações de hipersensibilidade em indivíduos sensíveis, efeitos tóxicos, atividade carcinogênica, alteração da microbiota intestinal, aumento da resistência aos agentes antimicrobianos, que pode provocar dificuldades no tratamento de infecções (3,9,10). Podem também interferir nas características organolépticas dos produtos lácteos industrializados (5).

A indústria de laticínios também pode sofrer grandes prejuízos, pois a presença de resíduos de antibióticos no leite interfere na fermentação onde se utilizam culturas ácido lácticas para produção de queijos, iogurtes e manteigas (5,9,10).

Os antimicrobianos podem ser encontrados no leite por introdução voluntária e fraudulenta para prolongar a sua durabilidade (10,11).

A mastite bovina é uma doença multifatorial, de etiologia complexa e variada, com grande parte das infecções causadas por bactérias e se encontra disseminada em todas as regiões produtoras de leite no país. Constitui a principal fonte de resíduos de antibióticos em leite devido ao manejo inadequado de drogas no controle dessa doença (8,12,13).

Tenta-se globalmente reduzir a necessidade da utilização de agentes antimicrobianos e controlar o seu uso indevido (3). No Brasil, o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) proíbe a adição de qualquer substância química no leite destinado à alimentação humana (14).

A Instrução Normativa (IN) nº 62 de 29 de dezembro de 2011 define que os estabelecimentos beneficiadores devem realizar análise do leite para resíduo de antibiótico pelo menos uma vez por mês e proíbe o envio de leite de animais que estejam sendo submetidos a tratamento com medicamentos de uso veterinário, passíveis de eliminação pelo mesmo, devendo ser afastadas da produção durante o período recomendado pelo fabricante (2).

O leite produzido no Brasil está longe da qualidade desejada, o que tem gerado desenvolvimento de políticas de incentivo à produção leiteira (1). Com o objetivo de tentar minimizar a quantidade de resíduos de produtos veterinários e agrotóxicos encontrados nos produtos de origem animal e vegetal, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) (15).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com o objetivo de avaliar e prevenir os riscos para a saúde, implantou no Brasil, em 2002, o programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal (PAMvet) que visa controlar resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos (16).

A detecção dos resíduos de antimicrobianos no leite pode ser feita por testes indiretos e diretos, sendo os métodos diretos os mais amplamente usados: testes de inibição microbiana, testes enzimáticos, aglutinação em látex, receptores microbianos, radio imunoensaio, eletroforese e cromatografia. Esses testes podem, também, ser classificados como testes de triagem e confirmatórios. O sistema de ensaio mais comum para a triagem tem sido o teste de inibição do crescimento bacteriano, qualitativamente muito eficiente (13,17).

Considerando os riscos para a saúde do consumidor causado pela ingestão de leite com resíduo de antibióticos e o risco para a saúde pública provocada por esses resíduos, objetivou-se com este trabalho detectar a presença de substâncias com ação antimicrobiana nos leites UAT e pasteurizado comercializados nos principais estabelecimentos varejistas do município de Itabuna-BA.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição das amostras

Inicialmente foi feito um levantamento das marcas mais vendidas nos principais estabelecimentos varejistas do município de Itabuna, Bahia, sendo selecionadas 17 marcas de leite UAT e três marcas de leite pasteurizado. Foram analisadas as condições gerais do produto como local correto de armazenagem, data de validade e lote. Adquiriu-se 100 amostras de leite UAT e 100 amostras de leite pasteurizado. As amostras de leite foram encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Microbiologia Veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), sendo o leite pasteurizado armazenado em bolsa isotérmica apropriada para efetuar o transporte.

Higienização da embalagem e do material

As embalagens, como são impermeáveis, foram lavadas com água e detergente neutro e desinfetadas com álcool 70°GL. Foi realizada a esterilização de todo o material a ser utilizado na abertura das embalagens em autoclave à 120°C com 1atm de pressão por 20min. As embalagens foram abertas próximo a chama azul do bico de Bunsen. Conforme descrito por Silva et al. (18).

Teste de Inibição do Crescimento Bacteriano

Foram inoculadas colônias isoladas em suspensão bacteriana em caldo TSB de *Escherichia coli* INCQS 00033 e *Bacillus subtilis* INCQS 00350 em placas de Petri com Ágar Mueller Hinton e espalhadas com auxílio da Alça de Drigalski. Retirou-se 2mL de cada amostra de leite e transferiu-se para frascos estéreis nos quais foram mergulhados 2 discos de papel filtro Whatman nº 3 com 6mm de diâmetro por 10 segundos com auxílio de pinça estéril. Os discos de papel foram transportados para as placas contendo *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. Em cada placa, foi feito o controle positivo com discos de papel mergulhados em penicilina e o controle negativo com discos de papel secos. Após esse procedimento, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica com a temperatura de 36°C por um período de 24h e posteriormente foi realizada a verificação da formação de halos de inibição de crescimento bacteriano. O teste foi baseado nas descrições de Pelayo et al. (19) e Biacchi et al. (20).

Análise estatística e interpretação dos resultados.

Foi realizada a análise estatística descritiva básica e os resultados foram interpretados segundo o RIISPOA (14) e a IN nº 62/2011 do MAPA (2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 100 amostras de leite UAT, 34 (34%) apresentaram halo de inibição de crescimento bacteriano, sendo oito (8%) para *Escherichia coli*, sete (7%) para *Bacillus subtilis* e 19 (19%) para ambos. Já no leite pasteurizado, das 100 amostras, 27 (27%) apresentaram halo de inibição de crescimento bacteriano, sendo sete (7%) para *Escherichia coli*, 11 (11%) para *Bacillus subtilis* e nove (9%) para ambos. Na Figura 1, é possível observar a forma como se apresentou o resultado do teste.

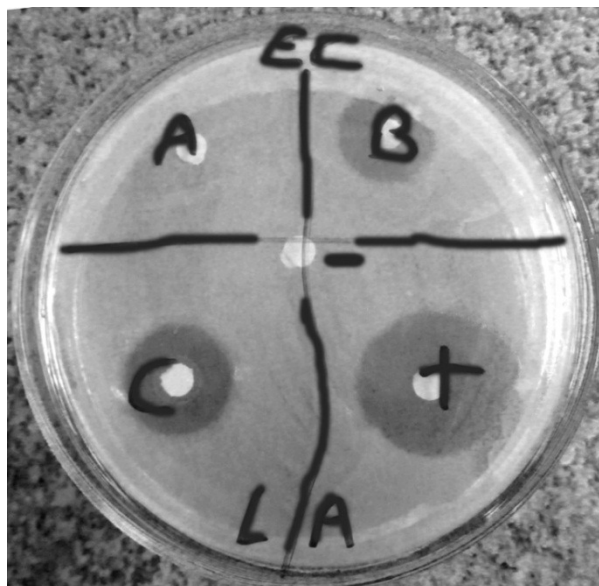


Figura 1. Na imagem, observam-se o controle negativo no centro da placa, o controle positivo no canto inferior direito, a amostra “A” no canto superior esquerdo com ausência de halo de inibição, sendo uma amostra negativa para presença de resíduo de antibióticos, e as amostras “B” e “C” no canto superior direito e inferior esquerdo, respectivamente, apresentam o halo de inibição de crescimento bacteriano, sendo amostras positivas para presença de resíduo de antibióticos.

Nascimento et al. (12) também pesquisando leite pasteurizado e UAT com metodologia semelhante em Piracicaba-SP encontraram 50% de amostras positivas, valores um pouco acima dos encontrados no presente estudo. Fonseca et al. (21) pesquisando resíduos de produtos com ação antimicrobiana em leite UAT em diferentes regiões do Brasil acharam 4% de amostras positivas. Barros et al. (4), Sousa et al. (22), Borges et al. (11) e Vieira et al. (23) analisando leite pasteurizado encontraram respectivamente 38,5%, 76,6%, 9,98% e 19% de amostras positivas. Pelayo et al. (19), em Londrina-PR, pelo método de inibição de crescimento bacteriano usando como bactéria teste o *Bacillus stearothermophilus*, encontraram 5,11% e 3,85% de amostras positivas em leite cru e pasteurizado, respectivamente. Nero et al. (8), pesquisando leite cru em várias regiões do país, encontraram 11,4% de amostras positivas. Esses dados diferem de Carvalho et al. (24) que, pesquisando leite cru no interior do estado do Maranhão, não encontraram resíduos nas amostras analisadas. A discrepância dos resultados encontrados nos diferentes trabalhos pode ser explicada pelas diferentes regiões geográficas e diferentes tipos de leite analisados. (17).

A presença de resíduos de substâncias com ação antimicrobiana encontrada no leite, nessa pesquisa, pode ser explicada devido ao uso indiscriminado de medicamentos veterinários sem respeitar o período de carência recomendado nas propriedades leiteiras antes de serem encaminhadas para o processamento do leite. Contudo, não se deve descartar a possibilidade de adição proposital de antimicrobianos no leite na tentativa de conter a proliferação de bactérias aumentando consequentemente a sua durabilidade.

O uso de saneantes em quantidade elevada ou falha no processo de higienização pode deixar resíduos desses agentes com ação antimicrobiana. Existem também inibidores naturais no leite que tem ação microbiana como a lactoperoxidase, aglutinas, lactoferrinas e bacteriófagos presentes em vacas com mastite (11-13).

Deve-se considerar também que o teste analisado se limita a detectar apenas substâncias para as quais as bactérias teste são sensíveis, podendo, assim, apresentar amostras falso-negativas e provavelmente uma frequência mais elevada do que a encontrada nessa pesquisa. Além disso, esse tipo de teste é apenas qualitativo, não podendo se analisar com ele a quantidade de resíduo presente nas amostras estudadas.

A pesquisa revela que o leite UAT e pasteurizado comercializados no município de Itabuna possuem resíduos de substâncias com ação antimicrobiana em uma frequência elevada, podendo trazer sérios riscos à saúde do consumidor e sérios problemas para a saúde pública.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que a presença de resíduos de substâncias com ação antimicrobiana em leite UAT e pasteurizado comercializados no município de Itabuna pode ser considerada preocupante. Deve-se aumentar a fiscalização por parte dos órgãos responsáveis e pelos laticínios na recepção do leite. É necessário, também, realizar campanhas educativas para os produtores, laticínios e consumidores enfatizando os prejuízos causados pela presença desses resíduos no leite para a saúde do consumidor e, dessa forma, tentar melhorar a qualidade do leite comercializado na região estudada.

REFERÊNCIAS

1. Martins PF, Andrade HV. Identificação de resíduos de antibióticos na recepção de leite cru pré-beneficiado como perigo potencial para implantação do plano APPCC em laticínios. FAZU Rev. 2011;8:108-14
2. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite cru refrigerado, do leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Brasília: Diário Oficial da União. 2011 Dec 30;Seq.1: 6.
3. Marques AMOLP. Avaliação de resultados da implementação de um programa de auto-controle de resíduos de antibióticos em explorações leiteiras do norte de Portugal entre 2002 e 2005, 2011 [dissertação] Porto: Faculdade de Medicina, Universidade de Porto; 2011.
4. Barros GMS, Jesus NM, Silva MH. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C, comercializado na cidade de Salvador. Rev Bras Saúde Prod. 2001;2(3):69-73.

5. Silva MVM, Sarmiento AMC, França AP. Resíduos de antibióticos no leite e seus efeitos na saúde pública: uma preocupação constante. In: Anais do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 2008 Out 19-22; Gramado, Brasil. Gramado: COMBRAVET; 2008. CDRom.
6. Centro de Inteligência do Leite. CILeite. Panorama do Leite: o consumo do leite em números [Internet]. São Paulo: CIL; 2013 [cited 2013 Jun 3]. Available from: <http://www.cileite.com.br>.
7. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária (MAARA). Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Diário Oficial da União. 1996 Mar 11;Seç.1: 3977-886.
8. Nero LA, Mattos MR, Beloti V, Barros MAF, Franco BDGM. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. Ciênc Tecnol Aliment. 2007;27:391-3.
9. Coradin MA, Andrade UVC, Hartmann W. Resíduos de medicamentos veterinários e contaminantes em leite exposto para consumo. In: Anais do 14º Seminário de Pesquisa; 2010; Curitiba, Brasil. Curitiba: Universidade Tuiuti do Paraná; 2010. CDRom.
10. Almeida LP, Vieira RL, Rossi DA, Carneiro AL, Rocha ML. Resíduos de antibióticos em leite de propriedades rurais da região de Uberlândia-MG. Biosc J. 2003;19:83-7.
11. Borges GT, Santana AP, Mesquita AJ, Mesquita SQP, Silva LAF, Nunes VQ. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no estado de Goiás. Ciênc Anim Bras. 2000;1:59-63.
12. Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. Rev Nutr. 2001;14:119-24.
13. Santos AFS, Duarte KMR, Pozzi CR. Detecção de resíduos de antimicrobianos no leite. Cient Ciênc Biol Saúde. 2011;13:205-12.
14. Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691 de 29.03.52, alterado pelo decreto nº 2.244 de 04.06.1997. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). 1950. 165p. Brasília: Diário Oficial da União. 1997 Jun 5;Seç. I: 11555-8.
15. Ministério da Agricultura. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa Nº 42 de 20 de dezembro de 1999. Diário Oficial da União. 1999 Dez 12;Seç. 1: 213.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal – PAMVet. Relatório 2006/2007 - Monitoramento de resíduos em leite exposto ao consumo. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
17. Macedo LCS, Freitas JA. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite. Rev Ciênc Agrár. 2009;52:147-57.

18. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela; 1997.
19. Pelayo JS, Saridakis HO, Antunes LAF, Falcão DP. Detecção de resíduos antimicrobianos no leite cru e pasteurizado tipo C, comercializado na região de Londrina-Paraná Brasil. *Semina*. 1991;11:89-91.
20. Biacchi NC, Jorge AOC, Ueno M. Detecção de resíduos antibióticos em leite bovino na região do Vale do Paraíba, São Paulo. *Rev Biocienc*. 2004;10(1-2):47-9.
21. Fonseca GP, Cruz AG, Faria JAF, Silva R, Moura MRL, Carvalho LMJ. Antibiotic residues in Brazilian UHT milk: a screening study. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2009;29:451-3.
22. Sousa FC, Oliveira ENA, Santos DC, Silva EFM. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leites pasteurizados comercializados no estado do Ceará - Brasil. *Rev Verde*. 2010;5:10-4.
23. Vieira TSWJ, Ribeiro MR, Nunes MP, Machinski Jr M, Netto DP. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciên Agrár*. 2012;33:791-6.
24. Carvalho APC, Castro FM, Kawabata CY, Tenório TGS, Vieira EL. Pesquisa de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru no município de Araióses-MA. *Rev Tróp Ciênc Agrár Biol*. 2012;6:22-6.

Recebido em: 21/06/2013

Aceito em: 24/04/2015