



Desenvolvimento de Protocolo para Identificação de Resíduos de Tulatromicina em Plasma e Leite em Vacas

Emylaine Pereira dos Santos¹, Larissa da Costa Rodrigues Bartolomeu², João Gabriel Poltre dos Santos³, José Eduardo Gonçalves⁴, Márcia Aparecida Andreazzi⁵, Fábio Luiz Bim Cavaliéri⁶

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UniCesumar. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/Fundação Araucária-ICETI). Emylainepereira4@gmail.com. ²Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas (PPGTL), Larissa.crbartolomeu@gmail.com.

³Acadêmico do Curso de Biomedicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UniCesumar. jgpoltre@hotmail.com. ⁴Co-Orientador, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas (PPGTL), Universidade Cesumar – UniCesumar. ⁴Pesquisador do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR. jose.goncalves@unicesumar.edu.br. ⁵Doutora em Zootecnia, Bolsista do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR.

Marcia.andreazzi@unicesumar.edu.br. ⁶Orientador, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas (PPGTL), Universidade Cesumar – UniCesumar. fabio.cavaliéri@unicesumar.edu.br

RESUMO

Introdução: A bovinocultura leiteira no Brasil é uma atividade vital para a economia, especialmente no Paraná, que é o segundo maior produtor nacional. O leite, um alimento essencial por suas qualidades nutricionais, enfrenta desafios devido ao uso de antibióticos como a tulatromicina, empregada no tratamento de doenças respiratórias em bovinos. Embora eficaz, esse antibiótico não é detectado nas análises de rotina do leite, apresentando riscos à saúde pública devido à presença de resíduos. Este estudo aborda a importância de desenvolver métodos eficazes para garantir a qualidade e a segurança do leite consumido. **Objetivo:** Definir um protocolo para a identificação e quantificação da tulatromicina e seus metabólitos no plasma e no leite de novilhas e vacas leiteiras da raça Holandês acometidas por doença respiratória bovina e tratadas com este antibiótico. **Metodologia:** O experimento foi conduzido na Fazenda Escola da Universidade Cesumar (UNICESUMAR), em Maringá, PR, entre 01/05/2023 e 01/11/2023, com aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (Nº 03.2/2023). Para a análise, foram utilizadas 7 vacas da raça Holandesa com idade entre 2 e 6 anos e peso médio de 350 kg, todas em boas condições corporais e sanitárias. Os animais foram tratados com tulatromicina (Draxxin®, Zoetis) via injeção subcutânea, com dose única de 2,5 mg/kg. Amostras de sangue e leite foram coletadas após a administração do antibiótico a cada 5 dias até o 30º dia e a cada 7 dias até o 58º dia, totalizando 77 amostras. As amostras de plasma e leite foram liofilizadas e extraídas no Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas (LIABQ). A extração foi realizada pelo método QuEChERS modificado, utilizando uma mistura de solventes (acetoneitrila e hexano), seguida de evaporação e ressuspensão com metanol. As análises foram analisadas por Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massa Tandem (LC-MS/MS) no Núcleo de Pesquisa Clínica e Bioequivalência (NPCBio) - HU/UEM. A identificação e quantificação da tulatromicina foi baseada em curvas de calibração pré-estabelecidas por diferentes concentrações a partir do padrão analítico de tulatromicina (Sigma-Aldrich). **Resultados:** A concentração da droga veterinária tulatromicina e de seus



metabólitos no plasma de vacas da raça Holandês tratadas para Doença Respiratória Bovina (DRB) apresentou um declínio contínuo do dia zero (D0) até o 58º dia após a aplicação. O valor máximo médio detectado no plasma foi de $25,22 \pm 2,85$ ng/mL no 5º dia, e o valor mínimo foi de $3,38 \pm 1,46$ ng/mL, observado 51 dias após a administração. Esse padrão de declínio sugere uma eliminação gradual da droga do plasma, o que é consistente com a farmacocinética esperada para antibióticos dessa classe. No leite, a concentração de tulatromicina apresentou um comportamento semelhante ao observado no plasma. Os níveis foram de 0,88 ng/mL e 1,32 ng/mL no 5º e 10º dia após a administração, respectivamente. A presença de tulatromicina no leite foi detectada até o 51º dia após a administração da droga. A proporção entre as concentrações de tulatromicina no leite e no plasma foi relativamente constante, em torno de 4%, indicando que a droga se distribui de maneira relativamente equilibrada entre o plasma e o leite. A análise das amostras revelou que, tanto no plasma quanto no leite, a tulatromicina e seus metabólitos mantiveram níveis detectáveis por um período prolongado, refletindo um padrão de farmacocinética que deve ser cuidadosamente considerado para garantir a segurança dos produtos derivados do leite. Esses dados são relevantes para a prática veterinária e para o controle de resíduos. A persistência da tulatromicina no leite por até 51 dias sugere a necessidade de um período de carência significativo para garantir a segurança do leite destinado ao consumo humano. Esse período de carência deve levar em consideração a taxa de eliminação da droga e garantir que os níveis de resíduo estejam abaixo dos limites seguros estabelecidos. Além disso, a detecção prolongada de resíduos de tulatromicina pode interferir na eficiência da produção de produtos lácteos, como queijos e iogurtes, e pode impactar as rotinas laboratoriais para a análise de leite. A presença de resíduos também destaca a importância de seguir as orientações de uso e de realizar um monitoramento rigoroso para evitar a contaminação dos produtos lácteos com níveis indesejados de antibióticos. **Considerações Finais:** Este estudo permitiu estabelecer um protocolo eficiente para a identificação e quantificação de resíduos de tulatromicina e seus metabólitos em plasma e leite de vacas leiteiras tratadas para Doença Respiratória Bovina (DRB). A utilização da análise por LC-MS/MS permitiu detectar níveis residuais da droga por até 51 dias após a administração, tanto no plasma quanto no leite, com uma proporção de aproximadamente 4% entre as concentrações no leite e no plasma. Os resultados indicam um padrão de eliminação gradual da tulatromicina, alinhado com a farmacocinética típica dos antibióticos macrolídeos, sugerindo que um período de carência mínimo de 51 dias é necessário para garantir a segurança do leite destinado ao consumo humano. A persistência prolongada de resíduos de tulatromicina no leite ressalta a importância de seguir rigorosamente as recomendações de uso e os períodos de carência estabelecidos para evitar a contaminação dos produtos lácteos. Além disso, os dados obtidos têm implicações diretas para a indústria de laticínios, pois a presença de resíduos pode afetar a produção de derivados lácteos como queijos e iogurtes. Dessa forma, recomenda-se a implementação de monitoramento rigoroso e análises específicas nos testes de qualidade do leite para assegurar a conformidade com os padrões de segurança alimentar.

Palavras-chave: Tulatromicina; Cromatografia Líquida; Espectrometria de Massas; Resíduos no Leite; Segurança Alimentar.