

DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM PRODUTOS LÁCTEOS

Eloísa Dos Santos Siviero¹, Isabele Picada Emanuelli², José Eduardo Gonçalves³, Fábio Luiz Bim⁴, Marcia Andreazzi⁵, Mariana Luiza Chiezi De Oliveira⁶

¹Acadêmica do Curso de Mestrado em Tecnologias Limpas, Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Bolsista CAPES/PROSUP. elosiviero@gmail.com.

²Orientadora, Doutora, Programa de Mestrado de Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Pesquisadora de Produtividade do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI. isabele.emanuelli@unicesumar.edu.br.

³Coorientador, Doutor, Programa de Mestrado de Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Pesquisadora de Produtividade do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI. jose.goncalves@unicesumar.edu.br

⁴Prof., Doutor, Programa de Mestrado de Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Pesquisadora de Produtividade do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI. fbim52@hotmail.com

⁵Profa., Doutora, Programa de Mestrado de Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Pesquisadora de Produtividade do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI. marcia.andreazzi@unicesumar.edu.br

⁶Profa., Mestre, UNICESUMAR. marianalcoliveira@hotmail.com

RESUMO

O uso indiscriminado e negligente de antimicrobianos, como os antibióticos em práticas veterinárias, pode favorecer a seleção de genes resistentes na cadeia alimentar humana, causando a resistência bacteriana. Dessa forma, este artigo apresenta uma revisão sistemática acerca das evidências disponíveis na literatura sobre estudos de triagem de antimicrobianos em leite animal e derivados, visando orientar futuras medidas de saúde pública e melhoria dos processos de produção. No presente estudo, coletamos dados de artigos publicados entre os anos de 2005 e 2021 sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite animal e seus derivados. Dentre os artigos selecionados (n=7), a grande maioria são de Países Europeus (n=4). Das espécies de animais estudadas nos artigos temos vaca e cabra, sendo leite cru (n=7), leite UHT (n=2), leite pasteurizado (n=1), colostro (n=1) e queijo (n=1) as amostras de produtos de leite animal e derivados analisadas. O método analítico mais empregado nas triagens foi o LC/MS (n=4), e do total de amostras de produtos analisados, 22,75% (n=491) testaram positivas para algum dos tipos de antibióticos. Foram identificados 18 tipos de antibióticos nos artigos, sendo as tetraciclinas e os betalactâmicos os mais presentes, configurando respectivamente, 17,24% e 13,29% dos produtos. O número de artigos encontrados indicou claramente haver uma escassez de estudos sobre triagem de antimicrobianos em leite animal e derivados. Os resultados do presente estudo destacam o risco desses agentes antimicrobianos em alimentos de origem animal para a saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: Agentes antimicrobianos; Contaminantes; Leite bovino; Segurança Alimentar.

1 INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado e negligente de antimicrobianos, como os antibióticos em práticas veterinárias, pode favorecer a seleção de genes resistentes na cadeia alimentar humana, causando a resistência bacteriana. Alguns estudos sugerem que a redução do uso de antibióticos na produção animal está associada a uma diminuição de bactérias resistentes a antibióticos em populações humanas (POUPAUD *et al.*, 2021).

A resistência antimicrobiana tornou-se uma grande ameaça à saúde pública em muitos países devido à demanda crescente por fontes de alimentos à base de proteínas, necessitando utilizar quantidades elevadas de antibióticos. Para a segurança da saúde pública, os limites máximos de resíduos (LMRs) foram implementados pela Organização para Alimentos e Agricultura (FAO - Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2018).

Os rebanhos são tratados frequentemente com antibióticos e promotores de crescimento sem acompanhamento veterinário ou especialistas em saúde pública (CHOWDHURY, R. *et al.*, 2009). Assim, a carne de animais de corte, ovo e leite podem conter resíduos de antimicrobianos aumentando a possibilidade de desenvolvimento de bactérias resistentes o que representa uma séria ameaça à saúde pública (SACHI *et al.*, 2019). É notório que os resíduos de antibióticos estão sendo transferidos para o leite assim

como para os produtos lácteos produzidos através dessa matéria prima (FONSECA; SANTOS, 2007). Logo, é essencial por parte dos agricultores o acompanhamento dos padrões de qualidade pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), seguir às bulas e respeitar os períodos determinados de carência dos antimicrobianos utilizados (NOVAES *et al.*, 2017).

Dentre os setores da pecuária, a cadeia produtiva de leite destaca-se pelos impactos sociais e ambientais, ocasionado pelo manejo sanitário inapropriado das drogas veterinárias do tipo antibióticos que interferem diretamente na qualidade e seguridade dos produtos lácteos (GARCIA; OSBURN; CULLOR, 2019). A interferência na qualidade do produto é ocasionada pela alteração nos processos fermentativos dos produtos como iogurte, queijo e manteiga. Lamentavelmente, os produtores e laticínios parecem estar mais preocupados com os impactos econômicos dos antibióticos nos produtos do que com os problemas ao meio ambiente e à saúde pública como seleção de cepas bacterianas resistentes, no ambiente e no consumidor (QUINTANILLA *et al.*, 2021).

O consumo de produtos alimentícios derivados da pecuária pelos seres humanos pode acarretar o desenvolvimento de resistência contra antimicrobianos específicos devido à introdução de resíduos antimicrobianos na cadeia alimentar humana (MARSHALL e LEVY, 2011). Para investigar a situação de resíduos de antimicrobianos em alimentos derivados de animais, consultamos relatórios anteriores (POUPAUD, M. *et al.*, 2021; Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2018; FONSECA e SANTOS, 2007; CHOWDHURY, R. *et al.*, 2009; SACHI *et al.*, 2019; NOVAES, S. F. *et al.*, 2017). Alguns estudos propuseram diferentes técnicas para a detecção de resíduos de antimicrobianos no leite, no entanto parece existir uma escassez de estudos de triagem de antibióticos nos produtos comercializados de leite e de derivados.

Diante do exposto, o presente artigo apresenta uma revisão sistemática acerca das evidências disponíveis na literatura sobre estudos de triagem de antimicrobianos em leite animal e derivados, visando orientar futuras medidas de saúde pública e melhoria dos processos de produção.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PROTOCOLO DE REVISÃO

A revisão seguiu os procedimentos de revisão sistemática padrão estabelecidos pelos Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises (PRISMA) (Liberati *et al.*, 2009). As diretrizes processuais apresentadas na Fig. 1 foram seguidas: (a) pesquisa de banco de dados para categorizar artigos potencialmente relevantes, (b) avaliação da relevância dos artigos, (c) avaliação da qualidade e (d) extração de dados.

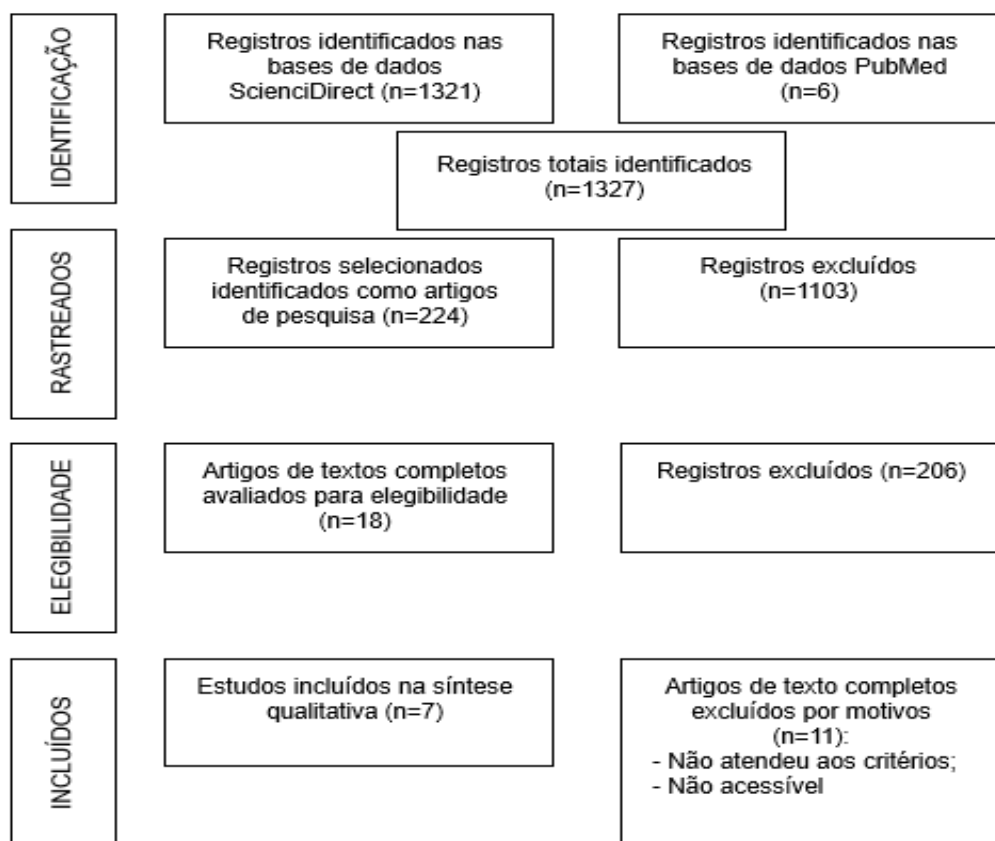


Figura 1: Fluxograma dos Itens de Relatórios Preferenciais para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (PRISMA).

A Figura 1 mostra a estratégia de pesquisa e processo seletivo para artigos de pesquisa publicados entre os anos de 2005 e 2021. Com base nos critérios de pesquisa, foram identificados 1327 artigos publicados em língua inglesa e foram ainda refinados em 7 artigos descritos no fluxograma PRISMA.

a. ESTRATÉGIA DE PESQUISA

Uma abordagem estruturada de busca de literatura foi utilizada para identificar estudos publicados relatando a presença de resíduos de antibióticos em leite de animais e seus derivados. As bases de dados científicas Science Direct e PubMed foram pesquisadas por estudos relevantes publicados entre os anos de 2005 e 2021. Eles foram pesquisados usando os seguintes termos de busca: métodos de triagem, antibiótico, leite, resíduos, produtos lácteos (screening methods, milk, antibiotic, Waste, dairy products). Não houve duplicata de artigo entre as bases pesquisadas. Foram retirados estudos que não atendiam aos critérios de inclusão predeterminados.

Quadro 1: Detecção, fontes e prevalência de resíduos de antimicrobianos entre 2005 e 2021.

A no	Região do estudo	Período do estudo	Origem da coleta	Espécie animal	tipo de Amostra	Método analítico aplicado	Antibióticos detectados	Amostras positivas (n)	Amostras totais analisadas (n)	Referências
2021	Turquia / Província de	2020 - 2021	Coletadas aleatoriamente	Vaca e cabra	colostro, leite cru e leite UHT	LC/MS e ionização por eletrospray	Tetraciclina, 4-epitetracycline, 4-epioxytetracy	72	130	https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108147

Burdur							cline, 4-epichlorotetracycline e ciprofloxacina			
2020	Itália / Região Norte	2019 - 2020	Fazendas leiteiras	Vaca	leite cru e queijo	LC-HRMS	Lincomicina, oxitetraciclina, cefapirina, espiramicina	35	254	https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109783
2011	Cróacia	2008 - 2010	Fazendas, produtores e laticínios	Vaca	Leite cru	HPLC-DAD	Clororamfenicol, penicilinas, cefalosporinas, tetraciclina, sulfonamidas, beta-lactams, quinolonas, aminoglicosídeos e macrolídeos	37	1259	https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.05.007
2019	China	2016	Mercados	Vaca	Leite UHT e Leite pasteurizado	Imunoabsorvente ligado a enzima técnica de chip de microarray	Tetraciclina, quinolonas, lincomicina e estreptomicina	123	198	https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.01.005
2018	EUA / Califórnia	2016 - 2017	Fazendas leiteiras	Vaca	Leite cru	LC/MS	Antibióticos	15	25	https://doi.org/10.3168/jds.2018-14398
2014	Reino Unido / Inglaterra e País de Gales	2011	Fazendas leiteiras	Vaca	Leite cru	LC/MS	β -lactâmicos e tetraciclina	66	103	https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.10.009
2014	EUA / Centro de NY	2013	Fazendas leiteiras	Vaca	Leite cru	LC/MS	β -lactâmicos, penicilinas e cefalosporinas	143	189	10.3168 / jds.2013-7421

Cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS); Método multiclasa da Espectrometria de Alta Resolução da Cromatografia Líquida tandem Mass (LC-HRMS); Cromatografia líquida com arranjo de diodos (HPLC - DAD).

b. TRIAGEM DE DADOS

Os textos completos dos artigos publicados recuperados foram selecionados para inclusão. Foram selecionados estudos para avaliação se atenderam aos seguintes critérios de inclusão:

- Qualquer artigo de pesquisa publicado entre os anos de 2005 e 2021 que relatava resíduos de antibióticos em leite e produtos lácteos.
- Qualquer artigo de pesquisa que relatasse a prevalência, investigação, incidência, ocorrência, levantamento, caracterização e identificação de resíduos de antibióticos.
- Os dados foram extraídos e registrados para localização do estudo, citação, primeiro autor, tempo de estudo, ano de publicação, tipo de amostra, tamanho amostral, número de amostras positivas, presença ou ausência de resíduo antimicrobiano, sensibilidade ou percentual de nível de resíduos de antibióticos e métodos utilizados para detecção.

Todos os estudos que se enquadravam nos critérios de exclusão, foram descartados da pesquisa. Os critérios de exclusão utilizados foram:

- Qualquer estudo que não seja artigo de pesquisa, como artigo de revisão, estudo de caso, capítulo de livro e validação metodológica.

Os artigos elegíveis foram recuperados em formato de texto completo e avaliados usando as definições de caso especificadas pelos respectivos estudos (Quadro 1).

c. ANÁLISE DE DADOS

Todos os dados extraídos das diferentes publicações foram classificados no Microsoft Excel® e analisados por estatística descritiva. Os resultados do estudo desses artigos foram classificados de acordo com a categoria da amostra e método de detecção e foram dispostos em tabelas com os antimicrobianos identificados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 AQUISIÇÃO DE DADOS

A busca preliminar identificou como registros totais 1327 artigos. A pesquisa manual não identificou artigos adicionais e não houve duplicação de artigos nas bases de dados pesquisadas. Destes artigos foram selecionados 224 registros identificados como artigo de pesquisa. A aplicação dos critérios de exclusão e inclusão resultou em 7 artigos que foram identificados como elegíveis para extração de dados e análise qualitativa (Quadro 1). A maioria dos artigos selecionados (217) foram excluídos por se tratar de desenvolvimento de métodos analíticos de detecção ou por ser estudos experimentais com grupos tratamentos e não triagem de antibióticos em produtos alimentícios de origem animal.

3.2 REGIÃO DE ESTUDO

Dentre os artigos selecionados, as regiões de estudo consistem em Países Europeus, EUA e China, contendo um total de artigos por região de 57,14% (n=4), 28,57% (n=2) e 14,29% (n=1) respectivamente. Esta análise indicou claramente haver uma escassez de estudos sobre triagem de antimicrobianos em leite animal e derivados, principalmente na América do Sul. Mesmo sendo utilizadas palavras de busca em português nas pesquisas da base de dados, não foram encontrados artigos sobre o tema em questão na América do Sul, expondo a importância de enfoque sobre esses estudos nessa região.

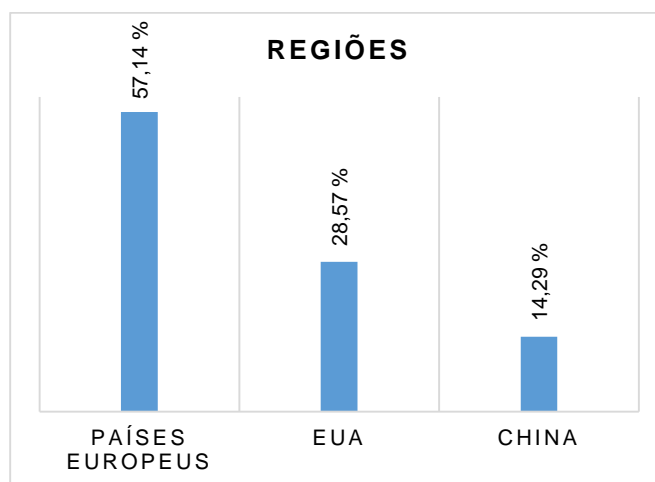


Gráfico 1: Regiões onde foram realizados os estudos dos respectivos artigos.

3.3 ESPÉCIE ANIMAL E TIPO DE AMOSTRAS

As espécies animais estudadas nos artigos foram vaca (n=7) e cabra (n=1). Foram analisadas nos artigos estudados 5 amostras distintas de produtos de leite animal e derivados, destas 58,33% (n=7) foram leite cru, 16,67% (n=2) leite UHT e 8,33% (n=1) consequentemente leite pasteurizado, colostro e queijo. Dentre os estudos realizados para detecção de agentes antimicrobianos em produtos alimentícios, os artigos mais apresentados na literatura são de produtos cárneos (BRISTY *et al.*, 2019; FERDOUS *et al.*, 2019). Produtos como o leite e seus respectivos derivados são pouco retratados na literatura. Um levantamento bibliográfico realizado em 2015 revelou apenas dois estudos que realizaram triagem de antibióticos em amostras de leite (CHOWDHURY *et al.*, 2015; SACHI *et al.*, 2019).

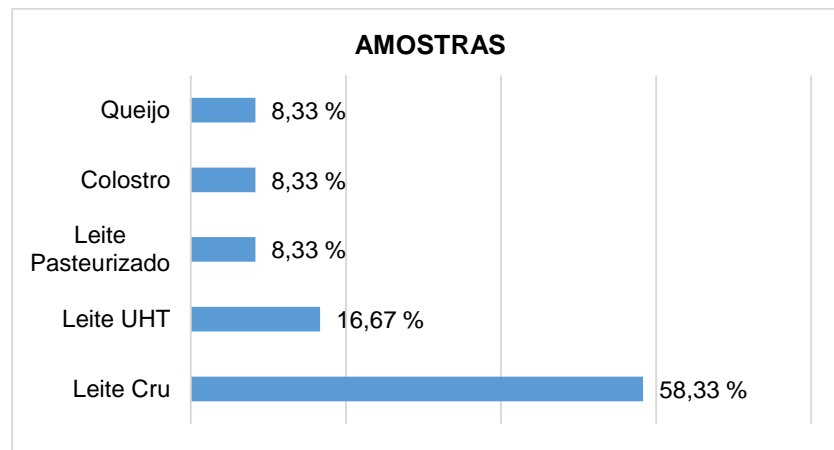


Gráfico 2: Tipos de amostras analisadas nos artigos estudados.

3.4 MÉTODO ANALÍTICO

Majoritariamente o método analítico mais empregado nas triagens dos estudos para a detecção dos antimicrobianos foi o LC/MS, configurando um total de 57,14% (n=4) dos artigos estudados. Outros métodos analíticos de detecção como LC/MS e ionização por eletrospray, LC-HRMS, HPLC-DAD e Imunoabsorvente ligado a enzima técnica de chip de microarray também foram utilizados nas triagens dos estudos. Estes métodos confirmam com o fato apresentado na literatura sobre a utilização da Cromatografia, especialmente o método cromatográfico HPLC, TLC e LC para detecção de antimicrobianos como traciclina, amoxicilina e ciprofloxacina no leite (CHOWDHURY *et al.*, 2015; FERDOUS *et al.*, 2019).

3.5 AGENTES ANTIMICROBIANOS RESIDUAIS NAS AMOSTRAS

Os estudos analisados avaliaram um total de 2178 amostras de produtos, sendo que destas 22,75% (n=491) testaram positivas para algum dos tipos de antibióticos. Foram identificados nos artigos 18 tipos de antibióticos (Quadro 1), sendo as tetraciclina e os β -lactâmicos os mais presentes caracterizando 17,24% e 13,29%, respectivamente (Gráfico 3). Estes achados corroboram com o fato apresentado na literatura de que dentre os principais antimicrobianos administrados ao rebanho leiteiro, encontram-se os β -lactâmicos e as tetraciclina.

A literatura aponta o grupo dos β -lactâmicos como o mais difundido entre os antibióticos utilizados no tratamento de infecções em vacas leiteiras, representando em média 38,22% do total de antibióticos, seguido das tetraciclina com 15,41% (SANI; NIKPOOYAN; MOSHIRI, 2010). Essa pesquisa desenvolvida por SANI e

colaboradores (2010) é um estudo comparativo entre regiões leiteiras da Espanha, Irã e do Brasil. A triagem realizada na região de Castilla, detectou a presença de β -lactâmicos em 29,8% das amostras; no Irã índices superiores (40,8%); já no Brasil, 11,4% das amostras de leite, provenientes de quatro regiões leiteiras, apresentaram este antibiótico.

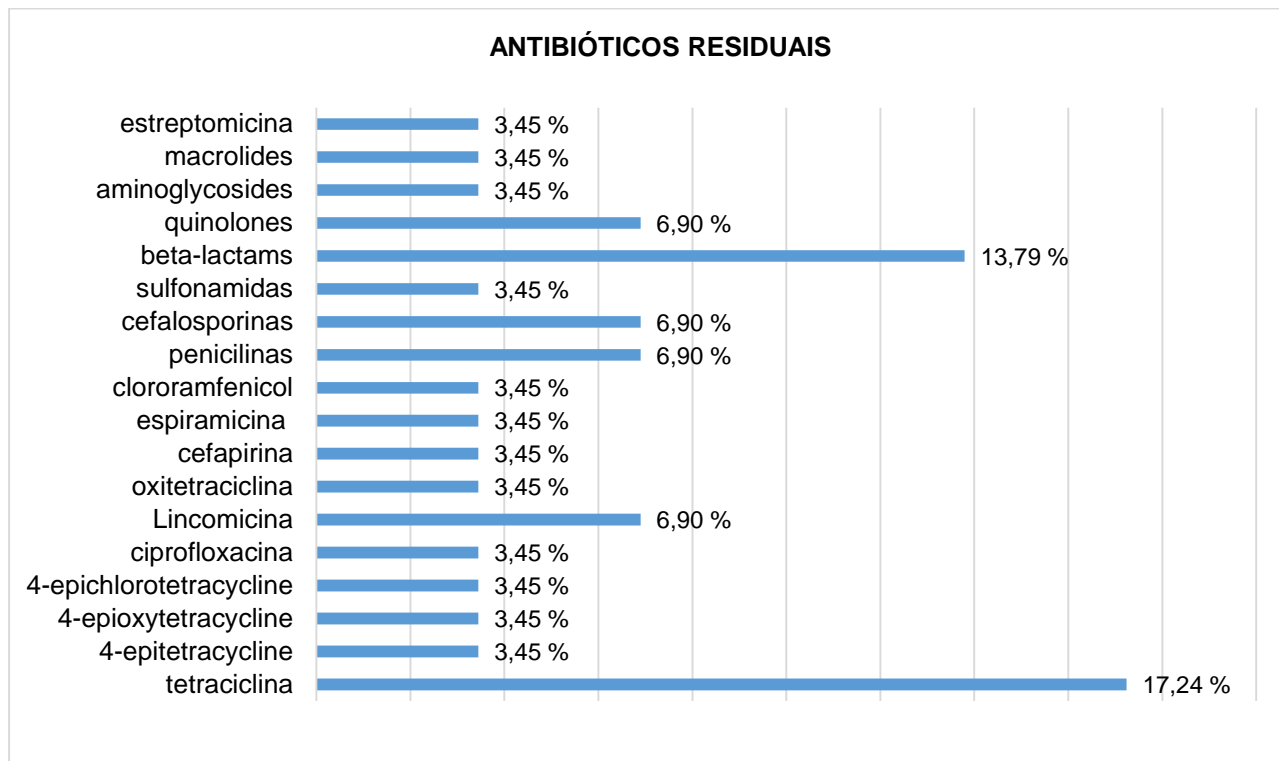


Gráfico 3: Agentes antimicrobianos identificados nas amostras de leite animal e derivados analisados nos artigos.

3.6 PUBLICAÇÕES

No Quadro 2 temos os respectivos locais onde os artigos estudados foram publicados, bem como o número de artigos encontrados nesses locais, o fator de impacto de cada meio de publicação e sua qualificação Qualis/Capes. Os artigos foram publicados em revistas com fator de impacto alto, evidenciando a importância dessa problemática para os periódicos. E, em relação a qualificação Qualis/Capes, os artigos classificados obtiveram os indicadores mais elevados (A1 e A2), que contemplam periódicos de excelência internacional. Alguns periódicos ainda não foram classificados pelo qualis, por não ter publicações cadastradas na CAPES por pesquisadores brasileiros.

Quadro 2: Publicações, fator de impacto e Qualis/Capes dos artigos estudados por periódicos.

Locais publicados	Números de artigos	Fator de impacto	Qualis/Capes	
			Ciências de alimentos	Ciências Ambientais
Food Control	3	5.548	A1	A1
LWT - Food Science and Technology	1	4.952	NC	NC
Journal of Dairy Science	1	3.333	A2	A1
Research in Veterinary	1	2.534	-	A2
American Dairy Science	1	4.034	-	-

NC = não classificado; A1 e A2 = contemplam periódicos de excelência internacional.

3.7 TRIAGEM DE DADOS

O Quadro 3 traz as bases de dados aplicadas no estudo, assim como os termos de busca utilizados em cada uma e respectivamente o número de artigos encontrados. Esta análise indicou claramente haver uma escassez de estudos sobre triagem de antimicrobianos em leite animal e derivados. Mesmo sendo utilizadas palavras de busca em português na pesquisa da base de dados Scielo, não foram encontrados artigos sobre o tema em questão, mostrando o quão importante seria dar enfoque em estudos sobre triagem antimicrobianos em leite animal e derivados.

Quadro 3: Bases de dados e termos de buscas utilizados na pesquisa.

Base de dados	Termos de busca	Número de artigos
Science Direct	<i>screening methods, milk, antibiotic, waste, dairy products</i>	6
PubMed	<i>screening methods, milk, antibiotic, Waste, dairy products.</i>	1
Scielo	<i>screening methods, milk, antibiotic, Waste, dairy products</i> métodos de triagem, antibiótico, leite, resíduos, produtos lácteos	-

4 CONCLUSÃO

Em suma, os agentes antimicrobianos residuais em produtos alimentícios de origem animal, no caso o leite e seus derivados representam o risco de induzir o desenvolvimento de resistência antimicrobiana. O uso indiscriminado de antimicrobianos e/ou desrespeito quanto ao período de carência, podem ser fatores responsáveis pelas altas concentrações de resíduos encontradas nos produtos.

Os agentes antimicrobianos residuais podem desenvolver potencial de resistência antimicrobiana quando transferidos para a cadeia alimentar humana. Logo, os pecuaristas precisam condescender às orientações dos profissionais de saúde, incluindo orientações sobre o uso prudente e respeitando os períodos de carência de cada antimicrobiano. E, dessa forma, limitar a presença de resíduos antimicrobianos em produtos alimentícios de origem animal e o desenvolvimento de resistência antimicrobiana, reduzindo o risco para a saúde pública.

REFERÊNCIAS

BRISTY, S. *et al.* **Colistin residue in broiler**: detection in different growth stages Asian-Australasian Journal of Food Safety and Security, 3 (2019), pp. 43-47.

CHOWDHURY, R. *et al.* A review on antibiotics in an animal feed. **Bangladesh Journal of Animal Science**, v. 38, n. 1-2, p. 22-32, 2009.

FERDOUS, J. *et al.* Antimicrobial residues in chicken and fish, chittagong, Bangladesh, **EcoHealth**, 16 (2019), pp. 429-440.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Estratégias para controle de mastites e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, v. 1, 2007.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods.** [http://www.fao.org/fao-whoodealimentary/shroxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXM%2B2%252FMRL2e.pdf\(2018\)](http://www.fao.org/fao-whoodealimentary/shroxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXM%2B2%252FMRL2e.pdf(2018)).

GARCIA, S. N.; OSBURN, B. I.; CULLOR, J. S. A one health perspective on dairy production and dairy food safety. **One Health**, [s. l.], v. 7, p.100086-00095, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.onehlt.2019.100086>.

HASSAN, Mohammad Mahmudul *et al.* Residual antimicrobial agents in food originating from animals. **Trends in Food Science & Technology**, 2021.

QUINTANILLA, P. *et al.* Enrofloxacin treatment on dairy goats: presence of antibiotic in milk and impact of residue on technological process and characteristics of mature cheese. **Food Control**, v. 123, p. 107762, 2021.

MARSHALL, Bonnie M.; LEVY, Stuart B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.

NOVAES, S. F. *et al.* Residues of veterinary drugs in milk in Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 8, p. 1-7, 2017.

POUPAUD, M. *et al.* Compreender a cadeia de suprimento de antibióticos veterinários para abordar a resistência antimicrobiana na RDP do Laos: Funções e interações das partes interessadas envolvidas. **Acta Tropica**, v. 220, p. 105943, 2021.

SACHI, Sabhya *et al.* Antibiotic residues in milk: past, present, and future. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 6, n. 3, p. 315, 2019.

SANI, A. Mohamadi; NIKPOOYAN, H.; MOSHIRI, R. Aflatoxin M1 contamination and antibiotic residue in milk in Khorasan province, Iran. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8-9, p. 2130-2132, 2010.