

ELÂNE RAFAELLA CORDEIRO NUNES

**AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE *in natura*
PROCEDENTE DO REBANHO BOVINO LEITEIRO DA MICRORREGIÃO DE
GARANHUNS, PERNAMBUCO**

GARANHUNS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE RUMINANTES

ELÂNE RAFAELLA CORDEIRO NUNES

AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE *in natura*
PROCEDENTE DO REBANHO BOVINO LEITEIRO DA MICRORREGIÃO DE
GARANHUNS, PERNAMBUCO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes.

Orientador: Profa. Dra. Keila Aparecida
Moreira

GARANHUNS

2013

Ficha Catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial UFRPE/UAG

N972a Nunes, Elâne Rafaela Cordeiro

Avaliação de antimicrobianos do leite *in natura*
procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião
de Garanhuns- Pernambucano / Elâne Rafaella Cordeiro
Nunes .- Garanhuns, 2013.

69f.

Orientador: Keila Aparecida Moreira

Monografia (Curso de Medicina veterinária)-
Universidade Federal Rural de Pernambuco-
Unidade Acadêmica de Garanhuns, 2013.

Inclui **anexo** e bibliografias

CDD: 637.1

1. Leite- controle de qualidade
2. Resistência bacteriana
3. Resíduos antimicrobianos
4. Antibióticos
5. Manejo sanitário
- I. Moreira, Keila Aparecida
- II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE RUMINANTES

AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE *in natura*
PROCEDENTE DO REBANHO BOVINO LEITEIRO DA MICRORREGIÃO DE
GARANHUNS, PERNAMBUCO

Dissertação elaborada por

ELÂNE RAFAELLA CORDEIRO NUNES

Aprovada em:...../...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Keila Aparecida Moreira

Presidente da Banca – Unidade Acadêmica de Garanhuns- Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Fábio Rocha Formiga

Campus Garanhuns - Universidade de Pernambuco

Prof.^a Dra. Lucilene Simões Mattos

Unidade Acadêmica de Garanhuns - Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior

Unidade Acadêmica de Garanhuns - Universidade Federal Rural de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais José Nunes e Tânia Cordeiro e, aos meus irmãos Thiago e Éder, pelo amor, carinho, compreensão, paciência e dedicação que tem comigo, por me acompanhar, apoiar e incentivar na realização dos meus sonhos e objetivos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pois sem a providência dele nada disso seria possível.

Aos meus pais e meus irmãos, pela ajuda na execução do meu trabalho, apoio, incentivo e compreensão nos momentos mais difíceis.

À minha orientadora Professora Keila Aparecida Moreira pela oportunidade, orientação e por depositar confiança no meu trabalho.

Aos proprietários das unidades leiteiras que gentilmente cederam parte de sua produção para execução da pesquisa e responderam algumas perguntas sobre o tema trabalho.

Aos balconistas, responsáveis técnicos e proprietários das farmácias humanas e veterinária que gentilmente responderam algumas perguntas sobre o tema trabalho.

Aos amigos da medicina veterinária Antonio, David, Murilo, Wisley, Neto e Nayara, por me guiarem até algumas propriedades para a realização das coletas das amostras de leite.

Ao técnico da empresa Perdigão, Gilson Dourado Costa, por me guiar até algumas propriedades e acompanhar na coleta de amostras de leite.

Ao gerente administrativo, Fernando, e ao gerente de produção, Marcio, da empresa de laticínios Rodeios por permitir e me acompanhar na coleta de amostras de leite em algumas propriedades leiteiras.

Aos carreteiros, Marcone e Josias, por me guiarem até algumas propriedades.

Ao Professor José Wilton e a professora Erika Valente pelo auxílio na análise estatística da pesquisa

Aos amigos da Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes pelos esclarecimentos, ajuda nos momentos de tensão e dificuldade e, principalmente, pelos momentos agradáveis que desfrutamos, em especial Francisco, Elizabete, Temístocles e Luciana.

RESUMO

O amplo uso de antimicrobianos na medicina veterinária e humana é a principal causa da seleção de bactérias resistentes a antimicrobianos. Monitorar o uso de antimicrobianos, a ocorrência de doenças e o perfil de resistência bacteriana a estes fármacos auxilia na formulação de políticas públicas e na elucidação de fatos relacionados a ecologia microbiana e das doenças. No rebanho leiteiro, a utilização desses fármacos pode resultar na presença de resíduos no leite, o que favorece a seleção de bactérias. As pesquisas elaboradas no intuito de detectar resíduos de antimicrobiano em leite *in natura* estão concentradas nas regiões Sudeste e Sul do país. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi pesquisar resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* produzido em propriedades rurais localizadas na microrregião de Garanhuns do Estado de Pernambuco. Foram analisadas 84 amostras de leite coletadas em tanques de expansão ou latões, procedentes de 84 propriedades localizadas em 19 municípios. Em cada propriedade foi aplicado um questionário sobre produção leiteira e manejo sanitário e uso de antimicrobiano. A pesquisa de antimicrobianos no leite foi realizada com o Kit Charm Cowside II[®]. Os resultados evidenciaram que 14,29% do leite *in natura* foram positivos para presença de resíduos de antimicrobianos no leite. A única variável de manejo que teve associação significativa com a presença de resíduos de antimicrobianos no leite foi o tipo de ordenha ($p=0,038$) com predominância de resultados positivos na técnica de ordenha mecânica ao pé. Os princípios ativos de antimicrobianos frequentemente utilizados no rebanho bovino leiteiro da microrregião pertencem à classe das tetraciclina, aminoglicosídeos e penicilinas. A presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* foi detectada em mais de 50% dos municípios da microrregião de Garanhuns, PE. A técnica de ordenha, assim como o manejo higiênico durante a ordenha pode favorecer a presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura*. Houve diferença nas classes de antimicrobianos utilizadas no rebanho leiteiro em 47,3% dos municípios. O diagnóstico sobre os antimicrobianos evidenciou alguns dos riscos sanitários e econômicos associados ao uso destes fármacos no rebanho bovino leiteiro da região. E conseqüentemente, a necessidade da implantação de estratégias de intervenção, visando controlar o uso irracional desses fármacos nos animais, e a elaboração de pesquisas relacionada à eficácia antimicrobiana na medicina humana e veterinária.

Palavras-chave: segurança alimentar, sanidade animal, resistência bacteriana

ABSTRACT

The widespread use of antimicrobials for veterinary and human medicine is the main cause of the selection of resistant bacteria. Monitoring antimicrobial use, the occurrence of disease and profile of bacterial resistance to antimicrobials assists in policy formulation and solution of public events related to ecological and microbial diseases. The use of these drugs for milking animals may result in residues in milk and favors the selection of bacteria. In the Southeast and South of Brazil there is more research on antimicrobial residues in raw milk. Thus, the objective of this study was to evaluate the frequency of antibiotic residues in raw milk produced in farms located in the microregion of Garanhuns of the state Pernambuco. Like, make a survey of active antimicrobials sold in pharmacies veterinary and human that region. We analyzed 84 samples of milk collected in expansion tanks or drums, coming from 84 herds in 19 counties. In each farm received a questionnaire on milk production, health management and use antimicrobial. The survey of antimicrobials in milk was performed with kit Charm Cowside II[®]. The results showed that 14.29% of fresh milk were positive for the presence of antimicrobial residues in milk. The only variable significantly associated with the presence of antimicrobial residues in milk was the type of milking ($p=0.038$) with a predominance of positive results in the technique of milking mechanics the foot. The active principle antimicrobials often used in dairy cattle herd are tetracyclines, aminoglycosides and penicillins. The presence of antimicrobial residues in fresh milk was detected in over 50% of the municipalities of the region of Garanhuns, PE. The milking technique as well as the hygienic milking may favor the presence of antimicrobial residues in fresh milk. There were differences in the classes of antimicrobials used in the dairy herd in 47.3% of the municipalities. The diagnosis of antimicrobials showed some of the health and economic risks associated with the use of these drugs in dairy cattle herd in the region. And hence the need to implement intervention strategies in order to control the irrational use of these drugs in animals, and the development of research related to antimicrobial efficacy in human and veterinary medicine.

Keywords food safety, animal health, bacterial resistance

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Antimicrobianos administrados em animais em diferentes países.	17
Capítulo 1	
Tabela 1. Frequência de resíduos de antimicrobianos no leite <i>in natura</i> procedente do rebanho bovino leiteiro de municípios localizados na microrregião de Garanhuns- PE, detectados por teste comercial de inibição microbiana, no período de setembro a dezembro de 2012.	39
Tabela 2. Análise da associação entre variáveis de manejo e teste comercial de inibição microbiana para presença de antimicrobianos no leite <i>in natura</i> procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns-PE, no período de setembro a dezembro de 2012.	40
Tabela 3. Análise da associação entre variáveis de classe de antimicrobianos e teste comercial de inibição microbiana para presença de antimicrobianos no leite <i>in natura</i> procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns-PE, no período de setembro a dezembro de 2012	41
Tabela 4. Análise de concordância entre os métodos de contagem bacteriana total, contagem de células somáticas e o teste comercial de inibição microbiana para presença de antimicrobianos no leite <i>in natura</i> procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns-PE, no período de setembro a dezembro de 2012.	41
Capítulo 2	
Tabela 1. Patologias que acometeram o rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco, durante o período de setembro a dezembro de 2012, e acarretaram uso de antimicrobianos nos animais.	50
Tabela 2. Princípios ativos dos antimicrobianos mais utilizados pelos produtores rurais no rebanho leiteiro da microrregião de Garanhuns, PE, 2012.	51
Tabela 3. Classes de antimicrobianos utilizadas pelos produtores rurais no rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, PE, 2012.	52
Tabela 4. Distribuição da classe dos antimicrobianos utilizados no rebanho leiteiro, por município da microrregião de Garanhuns-PE, durante o período de setembro a dezembro de 2012.	53

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	13
2.1. Geral	13
2.2. Específicos	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1. Sanidade Animal <i>versus</i> Qualidade do leite	14
3.2. Antimicrobianos <i>versus</i> Utilização na medicina veterinária e humana	15
3.3. Resistência bacteriana	17
3.4. Resíduos de antimicrobianos no leite	19
3.5. Legislação Brasileira sobre resíduos de antimicrobianos em alimentos	23
3.6. Métodos analíticos	24
4. REFERÊNCIAS	27
5. ARTIGOS CIENTÍFICOS	36
5.1. Capítulo 1	36
5.1.1. Artigo 1. Pesquisa de resíduos de antimicrobianos em leite <i>in natura</i> procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco	36
5.2. Capítulo 2	47
5.2.1. Artigo 2. Antimicrobianos utilizados no rebanho leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco	47
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
7. APENDICE A. Questionário sobre produção leiteira e uso de antimicrobiano.	59
8. APENDICE B. Termo de autorização de dados.	60
9. ANEXO A. Normas do periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia	61
10. ANEXO B. Normas do periódico Semina: Ciências Agrárias	66

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais fornecedores mundiais de alimentos de origem animal. Neste cenário, houve uma intensificação na criação de animais e na utilização de áreas cada vez menores. Essa redução de área têm tornado os animais mais vulneráveis a doenças e conseqüentemente a utilização de medicamentos veterinários, principalmente os antimicrobianos (COSTA; NETTO, 2012) para tratar infecções do sistema gastrointestinal, pulmonar, dermatológico e da glândula mamária dos animais (TEUBER, 2001). Estudos indicam que mais de 70% dos fármacos veterinários utilizados nas criações animais são antimicrobianos (THIELE-BRUHN, 2003).

Os fármacos veterinários incluem-se na categoria de contaminantes alimentares, pois são incluídos de forma não intencional nos alimentos, por meio da sua administração terapêutica em animais, tornando assim, a população humana exposta a baixas concentrações destes contaminantes (BIACCHI; JORGE; UENO, 2004). Na pecuária leiteira, a aplicação de fármacos nos animais pode resultar na presença de metabólicos tóxicos desses fármacos no leite (BRITO, 2000). Os resíduos detectados com frequência no leite se originam de fármacos antimicrobianos (KHANIKI, 2007).

No Brasil, tem sido frequente a detecção de resíduos de antimicrobianos no leite no país (MARTIN, 2011). No entanto, as pesquisas elaboradas no intuito de detectar resíduos de antimicrobiano em leite *in natura* e processado estão concentradas nas regiões Sudeste e Sul, no Estado do Rio de Janeiro (FOLLY; MACHADO, 2001; COSTA; LOBATO, 2009; SPISSO *et al.*, 2010), São Paulo (NASCIMENTO; MAESTRO; CAMPOS, 2001; NERO *et al.*, 2007), Paraná (NERO *et al.*, 2007; BECKER *et al.*, 2010), Minas Gerais (ALMEIDA *et al.*, 2003; NERO *et al.*, 2007) e Rio Grande do Sul (NERO *et al.*, 2007).

A presença e persistência desses resíduos no leite esta relacionada com o antimicrobiano utilizado, a dose aplicada, via de administração, excipiente utilizado, peso corpóreo do animal e intensidade do processo inflamatório (BRITO, 2000). Outros fatores relacionados à presença de resíduos de antimicrobianos no leite são prevalência de mastite e a sanidade da glândula mamária (RAIA *et al.*, 1999).

A possibilidade de estas substâncias estarem presentes no alimento representa potencial risco à saúde do consumidor (PASCHOAL *et al.*, 2008) e constitui um sério problema econômico para o país ocasionando perdas financeiras aos produtor e fabricante de produtos lácteos (PRADO; MACHINSKI-JUNIOR, 2011).

Os principais riscos a saúde do consumidor são o desencadeamento de fenômenos alérgicos e efeitos tóxicos, por carcinogênicos, e a seleção de bactérias resistentes (SOUSA *et al.*, 2010). As reações alérgicas estão relacionadas principalmente com as penicilinas (PAIVA-BRITO; LANGE, 2005). Estudos indicam que os nitrofuranos, sulfametazina e cloranfenicol tem atividade carcinogênica ou mutagênica (HEERSCHEN, 1993).

Um dos principais motivos que desencadeia a seleção de bactérias resistentes a antimicrobianos é o amplo uso destes fármacos na medicina veterinária e humana (TORRES; MORENO; ZARAZAGA, 2010). Alguns destes fármacos utilizados na veterinária têm resistência cruzada com os utilizados na medicina humana, o que pode contribuir com a aquisição de resistência de micro-organismos patógenos humanos (BIACCHI; JORGE; UENO, 2004). Estudos realizados nas diferentes espécies animais e no homem vêm registrando elevadas taxas de resistência bacteriana aos antimicrobianos (MOTA et al., 2005). Esta problemática é acentuada por no mínimo dois fatores: o primeiro relacionado com aos interesses econômicos do setor agropecuário e farmacêutico, que são voltados à produção em larga escala; o segundo se refere à falta de conhecimento do produtor e do consumidor quanto à constituição e os efeitos negativos destes fármacos à saúde humana quando mal utilizados (KORB et al., 2011).

Dentre os problemas econômicos ocasionados pela utilização de leite contendo resíduos de antimicrobianos estão as alterações na qualidade e na quantidade de alguns produtos derivados do leite fabricados nas indústrias de laticínios, pois os resíduos podem inibir culturas lácteas sensíveis presente nos fermentos utilizados para a fabricação de iogurtes, queijos e outros produtos fermentados (ALLISON, 1985; PAIVA-BRITO; LANGE, 2005).

No setor agropecuário nacional, o leite é considerado um dos mais nobres dos produtos de origem animal, pelo elevado valor nutricional e por ser fonte de renda para os diferentes segmentos da cadeia produtiva (RIBEIRO, 2008). A cadeia leiteira brasileira se destaca na região Sudeste, que representa 35% da produção nacional, seguidas pelas regiões Sul (31%), Centro-oeste (14%), Nordeste (13%) e da região Norte (5 %) (IBGE, 2010). Dessas regiões, na última década, a produção nos estados do Nordeste cresceu 69% (SEBRAE, 2010). Em Pernambuco, a produção de leite e derivados constitui um dos principais suportes econômicos nas microrregiões do Vale do Ipojuca, Vale do Ipanema e Garanhuns, localizadas na região do Agreste do Estado (SEBRAE, 2006). Nesta região, Monteiro et al. (2007) citaram que para avaliar a qualidade do leite produzido e contribuir para o estabelecimento de medidas e programas para a melhoria da qualidade da produção leiteira é necessário à elaboração de estudos que avaliem os aspectos microbiológicos, físico-químicos e resíduos de substâncias químicas, como os pesticidas e antimicrobianos.

O diagnóstico sobre os principais fatores que determinam os desvios da qualidade do leite produzido em uma região pode ser elaborado a partir da caracterização do perfil de uso de antimicrobianos nos animais (MARTIN, 2011; SOUSA et al., 2011). O monitoramento do uso de antimicrobianos, da ocorrência de doenças e do perfil de resistência bacteriana aos antimicrobianos auxilia na formulação de políticas públicas e na elucidação dos fatos relacionados à ecologia microbiana e das doenças (MILLER; MCNAMARA; SINGER, 2006).

Portanto, a elaboração de um estudo investigue a presença de resíduos de antimicrobianos no leite *in natura* produzido em uma região, e a utilização desses fármacos no rebanho bovino leiteiro é de grande importância para comunidade científica e o público em geral para estimar o grau de exposição da população humana aos resíduos de medicamentos veterinários e auxiliar na formulação e/ou implantação de campanhas educativas voltadas às boas práticas de utilização de produtos de uso veterinário no campo. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* produzidos em propriedades rurais localizadas na microrregião de Garanhuns do Estado de Pernambuco.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a prevalência de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco.

2.2. Específicos

- Caracterizar as propriedades rurais quanto à produção de leite e uso de antimicrobianos em animais.
- Avaliar a presença de resíduos de β -lactâmicos, sulfonamidas, tetraciclinas e aminoglicosídeos no leite.
- Identificar os fatores associados à presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* produzido em propriedades rurais localizadas na microrregião de Garanhuns, Pernambuco.
- Realizar um levantamento da utilização dos antimicrobianos no rebanho bovino leiteiro na região.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Sanidade Animal *versus* Qualidade do leite

A sanidade de um rebanho leiteiro permite produzir alimentos inócuos (MARTIN, 2011; VALENTE et al., 2012). Diante deste fato, o mercado internacional vem exigindo melhorias na produção de alimentos de origem animal, especialmente com relação à produção do leite, que estejam relacionadas ao gerenciamento da saúde dos rebanhos, como o conhecimento sobre a patogenia das infecções e a adoção de critérios para promoção da saúde dos rebanhos (BELTRANE; MACHINSKI-JÚNIOR, 2005).

Dentre as doenças infecciosas que acometem o rebanho leiteiro está a mastite, que é considerada o principal motivo para utilização de antibióticos na bovinocultura (KORB et al., 2011). A mastite acarreta em uma série de alterações fisiológicas no organismo animal (COSTA, 1996), como por exemplo, o pH do quarto mamário afetado tende a ficar mais próximo do pH sangue, o que reduz a difusão do fármaco para o interior da glândula mamária (FOLLY et al., 2008) e conseqüentemente resulta na presença de resíduos desses fármacos no leite (KITAZONO et al., 2012). Em São Paulo, uma pesquisa evidenciou que a alta ocorrência de mastite estava relacionada com a presença de resíduo de antimicrobiano no leite oriundo de tanque de expansão das propriedades leiteiras (COSTA et al., 1999). Nessa situação, de acordo com a legislação brasileira, há alteração na qualidade sanitária do leite e o leite deve ser imediatamente descartado (BRASIL, 2011).

Monteiro et al. (2007) afirmam que existe diferenças na qualidade do leite produzido nos diversos Estados brasileiros, que podem ser atribuída às condições encontradas em cada região, como perfil do produtor, acesso à assistência técnica, presença de órgãos extensionistas e programas regionais de controle sanitário de rebanhos. No Brasil, o leite é considerado um dos alimentos com grande impacto nutricional e socioeconômico pela carga de nutrientes que contém e por ser fonte de renda para diferentes segmentos da cadeia produtiva (BELTRANE; MACHINSKI-JÚNIOR, 2005). Assim, o aumento da qualidade do leite produzido em uma região proporciona maior geração de renda nos diferentes segmentos da cadeia produtiva e maior garantia de que o produto a ser consumido é seguro e livre de contaminantes (HOOGERHEIDE; MATTIODA, 2012).

As questões que envolvem a melhoria da qualidade do leite na produção são complexas e requerem o esforço conjunto de todos os setores relacionados, como serviços de inspeção, vigilância sanitária e campanhas periódicas de esclarecimentos visando principalmente os produtores (NASCIMENTO; MAESTRO; CAMPOS, 2001).

3.2. Antimicrobianos *versus* Utilização na medicina veterinária e humana

Os antimicrobianos são substâncias químicas usadas para combater micro-organismos, usados na prevenção e tratamento de infecções bacterianas em humanos e animais. Nos animais os antimicrobianos também podem ser utilizados como promotores de crescimento (MORLEY et al., 2005; HUR; JAWALE; LEE, 2012).

Os antimicrobianos são compostos naturais, sintéticos ou semi-sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de micro-organismos (MORLEY et al., 2005; PALERMO-NETO, 2007). De acordo como o modo de atuação os antimicrobianos podem ser classificados em inespecíficos ou específicos. Antimicrobianos inespecíficos, são substâncias químicas que atuam sobre micro-organismos de forma geral, quer sejam patogênicos ou não, e incluem os antissépticos e desinfetantes. Já antimicrobianos específicos atuam em micro-organismos que ocasionam doenças infecciosas, e incluem os quimioterápicos e os antibióticos (SPINOSA, 2006).

O mecanismo antimicrobiano de atuação desses fármacos pode ser agrupado em quatro categorias: inibição da parede celular; alteração da permeabilidade da membrana ou transporte ativo da membrana celular; inibição da síntese de proteína (inibição da tradução e transcrição do material genético) e inibição da síntese do ácido nucleico (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004).

Os fármacos pertencentes ao grupo dos β -lactâmicos, como as cefalosporinas e penicilinas, inibem a síntese da parede celular (MORLEY et al., 2005). Este grupo possui como característica o anel β -lactâmico (SPINOSA, 2006). As penicilinas possuem amplo espectro de atividade antibacteriana, eficácia clínica e excelente perfil de segurança, uma vez que atuam inibindo irreversivelmente a enzima transpeptidase, única em bactérias. A atividade desta enzima leva à formação de ligações cruzadas entre as cadeias peptídicas da estrutura peptidoglicana, que conferem à parede celular uma estrutura rígida importante para a proteção da célula bacteriana contra as variações osmóticas do meio (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Estima-se que mais de 10% das pessoas tratadas com doses terapêuticas de penicilinas exibem reações adversas a estas drogas (WEAVER, 2002).

O mecanismo de inibição da síntese de proteínas é o mecanismo utilizado pelo seguintes fármacos: tetraciclina, macrolídeos e aminoglicosídeos (MORLEY et al., 2005). As tetraciclina possuem um largo espectro de ação antibacteriana. Dentre as tetraciclina, a oxitetraciclina, a tetraciclina e a clortetraciclina são as mais utilizadas em medicina humana e animal (COUTO; MONTENEGRO; REIS, 2000). Esse grupo é o mais empregado no tratamento de vacas lactantes e o de maior frequência de resíduos no leite (KORB et al., 2011). Esses fármacos podem ligar-se ao cálcio acarretando em inibição do desenvolvimento dos dentes e do

crescimento ósseo (BOOTH, 1992). Os macrolídeos, eritromicina, espiramicina e tilosina, são agentes bacteriostáticos que inibem a síntese proteica por ligação reversível às subunidades ribossômicas 50 S de organismos sensíveis (SPINOSA, 2006).

Aminoglicosídeos são fármacos de amplo uso clínico, em função de sua eficácia contra bacilos Gram-negativos e de seu sinergismo positivo com outros antimicrobianos no tratamento de infecções por agentes Gram-positivos (OLIVEIRA; CIPULLO; BURDMANN, 2006), pertencem a este grupo gentamicina, lincomicina, neomicina e estreptomicina. Estes fármacos podem causar nefrotoxicidade e ototoxicidade, como efeitos colaterais (STOLKER; BRINKMAN, 2005).

As sulfonamidas são utilizadas extensivamente para tratamento de infecções bacterianas cuja etiologia seja micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos (SPINOSA, 2006). Esses fármacos pertencentes podem ser potencialmente carcinogênicas (MONTANARO, 1998).

A principal indicação para uso de antimicrobianos no rebanho leiteiro da Bélgica, durante o período de 2007 a 2009, foi o tratamento das doenças respiratórias (PARDON et al., 2012). Na Suíça, 35% dos antimicrobianos utilizados no ano de 2005 em 97 propriedades visaram tratar enfermidades relacionadas à glândula mamária (GONZÁLEZ, et al., 2010). No Brasil, uma pesquisa em um município de Santa Catarina indicou que a mastite foi o principal motivo pela utilização de antimicrobianos na bovinocultura leiteira, correspondendo a 40,4 % do total do consumo, e a anemia encontra-se em segundo, com a utilização em 38,3% dos casos, seguido dos casos de contusões, carbúnculo, intoxicações e diarreia (KORB et al., 2011).

A escolha do antimicrobiano a ser utilizado nos animais varia entre os países (GUARDABASSI; KRUSE, 2010), conforme pode ser visualizado na tabela 1. Esse fato está relacionado aos fatores como mudanças na demografia animal, situação epidemiológica, ao surgimento ou o desaparecimento dos produtos no mercado, o custo dos produtos, ações para o uso prudente de antimicrobianos (MOULIN et al., 2008).

Tabela 1. Antimicrobianos administrados em animais em diferentes países.

Países	Antimicrobianos	Referências
Suíça	Aminoglicosídeos, Cefalosporinas, Sulfonamidas e Tetraciclinas	González, et al., 2010 Regula et al., 2009
Alemanha	Sulfonamidas, Tetraciclinas e Trimetoprim	Merle et al., 2012
Bélgica	Macrolídeos, Penicilinas, Tetraciclinas	Pardon et al., 2012
Canadá	Cefalosporinas, Lincosaminas, Penicilinas, Sulfametoxazol, Sulfonamidas, Tetraciclinas	Saini et al., 2012
Brasil	β -lactâmicos, aminoglicosídeos e tetraciclinas	Lopes et al., 2002 Pontes-Netto et al., 2005 Korb et al., 2011

É importante citar que os antimicrobianos utilizados nos animais em geral são os mesmos ou estão estreitamente relacionados aos antimicrobianos usados em humanos (GUARDABASSI; KRUSE, 2010). Moulin et al. (2008) citam que na França, durante o período de 1999 a 2005, os mesmos princípios ativos eram utilizados pela medicina humana e veterinária, o que diferiu foi à quantidade utilizada. Na medicina humana os β -lactâmicos lideram as vendas, já na medicina veterinária foram às tetraciclinas seguidas pelas sulfonamidas, β -lactâmicos e os aminoglicosídeos. Tal situação se torna importante, uma vez que quando os antimicrobianos utilizados na saúde humana e animal possuem os mesmos princípios ativos, as bactérias que se tornarem resistentes em virtude do antibiótico utilizado no tratamento de animais poderão afetar a saúde humana (GUARDABASSI; KRUSE, 2010).

3.3. Resistência bacteriana

Resistência bacteriana é um fenômeno biológico natural, conduzido pelo princípio evolutivo da adaptação genética de organismos a mudanças no seu meio ambiente (SILVEIRA et al., 2006), que pode ser amplificado por uma série de fatores que aceleram a emergência e a propagação de micro-organismos resistentes, como a utilização inadequada de agentes antimicrobianos terapêuticos na medicina humana e veterinária, a utilização de agentes antimicrobianos para fins não terapêuticos, bem como a poluição do ambiente através dos agentes antimicrobianos (COMISSÃO EUROPEIA, 2011).

Na resistência, as bactérias desenvolvem diferentes mecanismos, origem natural ou adquirida, para neutralizar a ação dos agentes antimicrobianos. De forma natural ou intrínseca a resistência decorre de um fator inerente estrutural ou funcional, associado com espécie bacteriana ou gênero. Já a resistência adquirida surge de alterações genéticas no genoma bacteriano (GUARDABASSI; KRUSE, 2010).

A resistência bacteriana pode ser transmitida do animal para o homem por vários meios, incluindo suprimentos de alimentos e água, bem como contato direto com animais e fezes (GUARDABASSI; KRUSE, 2010), ou indireto por meio de vetores como insetos que auxiliam na transmissão da resistência ao longo do ecossistema (MCEWEN; FEDORKA-CRAY, 2002). A maior parte das investigações sobre transferência de resistência de bactérias de animais para bactérias do homem está relacionada com bactérias Gram-negativas causadoras de infecções alimentares, como *Salmonella sp.*, *Campylobacter sp.* e *Yersinia sp.* (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004).

A contaminação de alimentos de origem animal por bactérias resistentes e a subsequente veiculação destas, ou de genes de resistência destas bactérias para aquelas presentes na microbiota humana, são uma possibilidade concreta. Os antimicrobianos presentes na ração de animais, por exemplo, podem ao alcançar o intestino deles, inibir o crescimento ou destruir algumas bactérias como os *Streptococcus sp.*, *Stafilococcus sp.* e os *Enterococcus* a eles sensíveis, selecionando outras naturalmente resistentes. Estas, teriam melhores condições para proliferação, e poderiam alcançar o ser humano por meio de um alimento contaminado . (ANDREOTTI; NICODEMO, 2004).

Os genes de resistência e bactérias resistentes de um país podem se expandir para outros através das fronteiras geográficas pelo movimento de pessoas, animais e alimentação. A emergência e a disseminação dessa resistência associadas com as dificuldades encontradas na descoberta de novos agentes antimicrobianos têm resultado em maiores desafios médicos e graves problemas de saúde pública (GUARDABASSI; KRUSE, 2010), tanto devido à ocorrência de infecções que de outra forma não tenham ocorrido ou devido a falhas no tratamento e aumento da gravidade das infecções (AARESTRUP, 2005). Com essa adaptação genética alguns micro-organismos criam um novo cenário de desafio clínico para antibioticoterapia (ARIAS; MURRAY, 2009).

Na medicina humana, por exemplo, a adaptação gênica de *Staphylococcus aureus* tornou algumas cepas resistentes à penicilina e, mais tarde, à meticilina e a vancomicina (ARIAS; MURRAY, 2009). Na medicina veterinária, esse mesmo agente é um dos principais agentes infecciosos isolados de amostras de leite com suspeita de mastite, e vem apresentando resistência a diversos antibióticos (ZANETTE; SCAPIN; ROSSI, 2010).

Uma pesquisa realizada, em Santa Catarina, revelou que das 55 amostras de leite com suspeita de mastite, 39 amostras (70,9%) apresentaram crescimento de *Staphylococcus aureus*, destas 13,5 % foram resistentes a antimicrobianos Os fármacos menos eficazes foram penicilina, com 46,15% de resistência, tetraciclina, com 30,77% e clindamicina, com 20,51% (ZANETTE; SCAPIN; ROSSI, 2010). No Estado de São Paulo, um estudo semelhante, evidenciou que das 72 cepas de *S. aureus* isoladas em amostras de leite de vacas com mastite clínica e subclínica em 100% das cepas estudadas houve resistência a pelo menos dois antimicrobianos e que nenhum destes princípios ativos, agindo isoladamente, pode ser ativo contra qualquer das

cepas experimentadas (NADER-FILHO et al., 2007). Em Pernambuco, uma pesquisa revelou que de 59 cepas de estafilococos coagulase positivas isoladas de amostras de leite de vacas com mastite, em quatro municípios do Agreste do Estado de Pernambuco, houve resistência antimicrobiana em 28,5% das cepas. Com altos índices de resistência tanto para a penicilina quanto para a amoxicilina, 80 e 75%, respectivamente (FREITAS et al., 2005). Outro estudo realizado em Pernambuco, na região Metropolitana do Recife, Agreste e da Zona da Mata, indicou que de 291 isolados *Staphylococcus* spp em amostras de leite com mastite, 181 foram multirresistentes, sendo os demais (110), sensíveis a todos antibióticos ou resistentes a apenas um deles. Na Zona da Mata, 22 dos isolados foram resistentes a oito ou mais antibióticos, seguida pela região Agreste (nove isolados) e metropolitana do Recife, dois isolados (MEDEIROS et al., 2009).

Neste caso, conhecer o cenário de resistência bacteriana de *Staphylococcus aureus* é importante visto que este é o agente etiológico de várias infecções purulentas em humanos e animais, e algumas estirpes desse agente são capazes de produzir enterotoxinas, que podem causar intoxicação alimentar, choque tóxico e reações alérgicas (BALABAN; RASOOLY, 2000).

3.4. Resíduos de antimicrobianos no leite

Na pecuária leiteira, a administração de medicamentos, por qualquer via de aplicação, pode acarretar em resíduos destes fármacos no leite (FONSECA; SANTOS, 2001), ou seja, frações destas substâncias, de seus metabólitos, produtos de conversão ou reação, e impurezas que permanecem no alimento (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2008). No caso do leite, durante a produção láctea, esses resíduos presentes na corrente sanguínea são absorvidos pelas células de secreção do alvéolo da glândula mamária junto com os precursores lácteos e acarretando na produção de leite contaminado (FONSECA; SANTOS, 2001) que é considerado adulterado e impróprio para o consumo (SILVA; SILVA; RIBEIRO, 2012).

Os resíduos de fármacos encontrados com maior frequência no leite pertencem ao grupo dos antimicrobianos (KHANIKI, 2007). O aparecimento desses resíduos no leite geralmente ocorre após o tratamento de vacas em lactação com problemas de mastite, metrite ou outra doença infecciosa. O tratamento da mastite vem sendo considerado o principal responsável pela presença de resíduos no leite (PAIVA-BRITO; LANGE, 2005).

Considerando o impacto que estes fármacos causam na cadeia leiteira e principalmente a saúde pública, houve uma intensificação no número de pesquisas visando detectar a presença desses resíduos em diferentes partes do mundo. Há relatos de pesquisas em países dos diferentes continentes, como por exemplo, no Asiático

(LIU et al., 2011), no Europeu (BILANDZIC et al., 2011 ; PIOTROWSKA et al., 2011), na América (FAVA; PINTO, 2010; CAMACHO et al., 2010) e na África (ADDO et al., 2011).

Liu et al. (2011) avaliaram 40 amostras de leite coletadas em supermercados locais da China, em Pequim, quanto à presença de resíduos de antimicrobianos utilizando métodos cromatográficos. Os resultados mostraram 20% estavam contaminadas com resíduos de β -lactâmicos. Em Taiwan o resultado da análise de 17 amostras de leite comercializado em supermercados, utilizando métodos cromatográficos para detectar macrolídeos, β -lactâmicos e lincosamidas, indicou presença de resíduos de lincosamidas em apenas uma amostra (TANG et al., 2012).

Na Croácia, durante o período de 2008 a 2010, um estudo visando monitorar os medicamentos veterinários em 1259 amostras de leite *in natura*, utilizando métodos microbiológicos, de imunoenaios e cromatográficos, revelou baixa prevalência de amostras positivas (0,69%), o que sugere que neste país o produto seja seguro para o consumo humano (BILANDZIC et al., 2011). Já no México, Camacho et al. (2010) utilizando método microbiológico observaram que 24 (18,6%) das 129 amostras de leite analisadas eram positivas para resíduos de antibióticos. Em Gana, um estudo indicou que 3,1% das 224 amostras de leite *in natura* analisadas apresentaram resíduos desses fármacos (ADDO et al., 2011).

No cenário brasileiro, resíduos de antimicrobianos em leite já foram detectados em todas as regiões, entretanto não há registro em todos os Estados. Nas regiões Sudeste e Sul, houve a coleta de 326 amostras de leite UHT e leite em pó de 57 marcas diferentes, sendo 282 de leite UHT e 44 de leite em pó, para verificar se estas apresentavam resíduos de β -lactâmicos e tetraciclina. E os resultados indicaram presença de tetraciclina em seis amostras (1%) (ANVISA, 2005). Nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul, foram coletados 615 amostras de leite integral, sendo 475 de leite UHT e 140 de leite em pó. Os resultados indicaram presença de tetraciclina e clortetraciclina no leite UHT, e clortetraciclina, tetraciclina e oxitetraciclina no leite em pó (ANVISA, 2009).

Em Goiás, Borges et al. (2000) observaram que 53 das 533 amostras de leite integral e pasteurizado analisadas por métodos microbiológicos baseado na difusão de resíduos de antibióticos em ágar, tendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus stearothermophilus* como micro-organismos-testes, apresentaram resíduos de antimicrobianos, representando 9,95% das amostras analisadas. Folly e Machado (2001) analisaram 300 amostras de leite de 14 diferentes marcas comerciais de leite tipo “C” (130 amostras de seis marcas) e “Integral Fazenda” (170 amostras de oito marcas) coletadas aleatoriamente em estabelecimentos comerciais da Região Norte do Estado do Rio de Janeiro, utilizados os kits comerciais “Delvotest® P”, “ β L Snap Test®”, “Tetracycline Snap Test®” e “Cite Probe Gentamicin Test®”. Os resultados indicaram que 13 estavam com resíduos de antibiótico β -lactâmicos e tetraciclina, sendo seis amostras de leite tipo “C” e sete do leite “Integral Fazenda”. Nesse mesmo Estado, duas outras pesquisas foram realizadas. Uma avaliou a ocorrência de

tetraciclina em leite pasteurizado comercializado na área metropolitana do Rio de Janeiro e indicou que das 100 amostras analisadas 14% apresentaram resíduos de oxitetraciclina e uma apresentava simultaneamente oxitetraciclina e tetraciclina (SPISSO et al., 2010). A outra pesquisa evidenciou que de 175 amostras de leite UHT investigadas, duas apresentaram-se positivas no teste comercial microbiológico (Delvotest®SP-NT) de detecção de resíduos de antimicrobianos (COSTA; LOBATO, 2009).

A ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado também foi avaliada através de ensaios microbiológicos no Estado de São Paulo, em Piracicaba, onde 50% das 96 amostras foram positivas (NASCIMENTO; MAESTRO; CAMPOS, 2001).

Vieira et al. (2012) estudando a presença de resíduos de antimicrobianos em leite pasteurizado comercializado no Estado do Paraná, constataram que 15 amostras analisadas (19%) havia presença de resíduos, deste total 6/15 (40%) estavam contaminadas por cloranfenicol, 3/15 (20%) por tetraciclina, 1/15 (6,7%) por gentamicina, 3/15 (20%) por estreptomicina e 2/15 (13,3%) por β -lactâmicos. Outra pesquisa realizada nesse Estado evidenciou que nenhuma das 20 amostras de leite (5 leite UHT integral, 5 leite pasteurizado integral, 4 leite em pó integral e 6 leite *in natura*) analisadas por teste microbiológico comercial (Delvotest®SP-NT) apresentaram resíduos de antibióticos (BECKER et al., 2010).

No Nordeste, Sousa et al. (2010) verificaram a ocorrência de resíduos de antibióticos em 23 (76,67%) das 30 amostras de leite pasteurizados “tipo C” comercializados no Ceará, analisadas pelo teste comercial de inibição de crescimento microbiano (kits ECLIPSE®50). Nesse mesmo Estado, na região do Cariri, utilizando esse mesmo teste comercial, foram analisadas 30 amostras de leite pasteurizados “tipo C” e destas apenas quatro apresentaram resíduos de antibiótico, representando 13,3% das amostras analisadas (SOUSA et al., 2012). Já em Salvador, os resultados de uma pesquisa mostram que 38,5% das amostras de leite pasteurizado tipo C continham resíduos de antibióticos (BARROS; JESUS; SILVA, 2001).

Em leite *in natura*, Nero et al. (2007), utilizando um teste comercial de inibição microbiana (kit Charm-test™) na análise de 210 amostras de leite *in natura* coletadas em propriedades leiteiras de quatro Estados do Brasil (47 propriedades na região de Viçosa-MG, 50 propriedades na região de Pelotas-RS, 63 propriedades na região de Londrina-PR, 50 propriedades na região de Botucatu-SP) verificaram que houve resíduos em 24 amostras, 13 (20,6%) na região de Londrina-PR, quatro (8%) na região de Botucatu-SP, quatro (8,5%) em região de Viçosa-MG, e três (6,0%) na região de Pelotas-RS. Em Curitiba-PR, foram detectado resíduos de antimicrobianos no leite em 75% das 80 amostras coletadas nas propriedades rurais da região metropolitana. Na análise dessas amostras utilizou um teste comercial Charm Farm Test-VIAL®, que se baseia na inibição de crescimento bacteriano (LOPES et al., 2002)

Outro estudo, utilizando um teste enzimático SNAP® β -lactâmico constatou que quatro (8,5%) de 47 amostras de leite *in natura*, coletadas em diferentes propriedades da região de Viçosa, Minas Gerais,

apresentaram detecção de resíduos de β -lactâmicos, sulfonamidas, gentamicina e tilosina (ALMEIDA et al., 2003).

Na região Norte do país, uma pesquisa realizada no Pará, realizado Macedo e Freitas (2009) utilizando dois testes enzimáticos, BL Snap Test e Charm SL Test, analisaram 103 amostras de leite, 28 de leite *in natura* procedente de propriedades rurais, 16 de leite *in natura* destinado ao beneficiamento e 59 de leite comercializado no varejo, constataram que em 11 (10,68%) amostras de leite havia resíduos de antimicrobianos. O leite procedente de propriedades leiteiras apresentou uma frequência de 1,94%, o leite procedente de usinas de beneficiamento apresentou frequência de 0,97%, e o leite de venda a varejo frequência de 7,77%. Em Pernambuco, Mattos et al. (2010) observaram que de 53 amostras de leite coletadas em propriedades rurais, localizadas nos municípios de Saloá, Águas Belas, São Bento do Una e Bom Conselho, houve presença de antibióticos β -lactâmicos em apenas uma (1,89%) amostra.

Os principais fatores associados à presença de resíduos de antimicrobianos no leite são intervalo de tempo entre o tratamento e a ordenha (COSTA et al., 1999; SAVILLE; WITTUM; SMITH, 2000; SILVA; SILVA; RIBEIRO, 2012), o tipo de antimicrobiano e veículo utilizado, a via de administração utilizada, a dose administrada (COSTA et al., 1999) e práticas insuficientes de manejo, onde o leite de animais medicados não são descartados sendo misturados com o leite produzido pelos animais saudáveis (RIZZO; SALTER, 2001).

Em Curitiba, um estudo evidenciou que de 80 produtores que administravam antimicrobianos no rebanho leiteiro da região metropolitana 16,8% não respeitam o período de carência, 45,6% administram uma superdosagem e 30,1% utilizam medicamentos não autorizados para vacas lactantes (LOPES, et al., 2002). Monteiro et al. (2007) citaram que 16 produtores da região Agreste do Estado de Pernambuco que utilizaram fármacos em animais em lactação no tratamento de mastite, 6,3% não descartavam o leite, 56,3% descartavam apenas o leite dos quartos em tratamento e 37,5% descartavam todo o leite. Tan et al. (2009) realizaram estudo para investigar a persistência de gentamicina em leite após tratamento intramamário em 34 vacas holandesas com mastite e observaram que a persistência de resíduos de gentamicina variaram de acordo com a dose (0,3 a 0,8 g/dose) e número de infusão (duas a seis) e tende a aumentar quando o tratamento é prolongado.

Há diversas razões que levam a preocupação com resíduos desses fármacos no leite. As principais estão relacionadas às consequências à saúde humana e a industrialização (PAIVA-BRITO; LANGE, 2005). No aspecto tecnológico, a presença de resíduos no leite pode ocasionar a inibição de bactérias responsáveis pela acidificação e coagulação do leite como o *Streptococcus cremoris* e *Lactobacillus bulgaricus*, que estão presentes nos fermentos lácticos. Com a inibição dessas bactérias a coagulação (ALBUQUERQUE; MELO; MARTINS, 1996) e capacidade de acidificação do leite são prejudicadas e há interferência na produção e qualidade de derivados lácteos (TORNADIJO et al., 1998), principalmente queijos, manteiga e leites fermentados, uma vez que as principais características desses produtos são reguladas pela fermentação láctica

(BARROS; JESUS; SILVA, 2001). A inibição dessas bactérias também favorece a formação de odores desagradáveis na manteiga e no creme (PAIVA-BRITO; LANGE, 2005).

Outros fatores importantes são que o processo de pasteurização não degrada esses resíduos (VIEIRA et al., 2012) e o consumo de produtos contendo esses resíduos são extremamente delicados em algumas situações, como exemplo, o consumo de leite contendo resíduos de tetraciclinas por gestantes torna-as mais vulneráveis as alterações no desenvolvimento ósseo fetal (COSTA, 1996).

É de fundamental importância prevenir a presença de resíduos de antimicrobianos no leite (COSTA; LOBATO, 2009) minimizando a utilização de antimicrobianos por animais, através da prevenção das doenças (GUARDABASSI; KRUSE, 2010).

3.5. Legislação Brasileira sobre resíduos de antimicrobianos em alimentos

As responsabilidades referentes aos riscos de agravo à saúde decorrente da exposição humana a resíduos de medicamentos veterinários no país são do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Secretaria de Defesa Agropecuária, e o Ministério da Saúde (MS), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009). O MAPA é responsável pelo registro e a fiscalização de produtos de uso veterinário e dos estabelecimentos que os fabriquem e/ou comercializem quaisquer desses produtos. A avaliação e fiscalização da qualidade dos alimentos de origem animal é atribuição dividida entre a ANVISA e o MAPA (FUSCO; OLIVEIRA; PEPE, 2010).

A preocupação com os resíduos de medicamentos veterinárias em alimentos de origem animal foi originada desde 1952, com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, que relata a proibição do emprego de produtos químicos para a conservação do leite e determinam que as fêmeas que estão em tratamento ou que sejam portadoras de doenças infecto-contagiosas ou com qualquer outro sintoma patológico devam ser afastadas da produção (GOMES, 2005). E essa preocupação vem sendo avaliada e monitorada por alguns planos e/ou programas criados pelo MAPA e ANVISA. Os programas de monitoramento instituído pela ANVISA são o Programa Nacional de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo, PAMVet, o Programa Nacional de Monitoramento e Controle de Resistência Microbiana em Alimentos de Origem Animal Expostos ao Consumo (PNCRMV) e o Programa Nacional de Monitoramento e Controle de Resistência Bacteriana em Alimentos de Origem Animal Expostos ao Consumo, PNMCRB. O PAMVet é uma estratégia complementar às ações de controle oficial exercidas na produção primárias por outras instâncias governamentais, em especial pelo MAPA (ANVISA,

2005), que tem como objetivo principal avaliar o potencial de exposição do consumidor a resíduos de medicamentos veterinários pela ingestão de alimentos de origem animal adquiridos no comércio (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009).

O monitoramento realizado pelo MAPA engloba diferentes leis, instruções normativas (IN) e portarias. Como por exemplo, a Portaria Nº 193, de 12 de maio de 1998, que proíbe o uso de antimicrobianos como cloranfenicol, penicilinas, tetraciclina, e sulfonamidas sistêmicas em aditivos alimentares, promotores de crescimento ou como conservantes de alimentos; e a IN Nº 42, de 20 de dezembro de 1999, que trata do Plano Nacional de Controle de Resíduos (PNCR) em Produtos de Origem Animal, o qual cita que o estabelecimento de Limites Máximos de Resíduos (LMR) é da competência do Ministério da Saúde, sendo utilizados os valores internalizados no MERCOSUL, os recomendados pelo *Codex Alimentarius*, os constantes das Diretivas da União Europeia e os utilizados pelo *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos (FDA/EUA) nos casos de não estarem estabelecidos ainda no Brasil (FUSCO; OLIVEIRA; PEPE, 2010).

O Limite Máximo de Resíduos é a concentração máxima de resíduos resultante da utilização de um medicamento veterinário que se pode aceitar no alimento. Este limite baseia-se no tipo e quantidade de resíduos que não apresentam risco de toxicidade para a saúde humana, levando-se em consideração a ingestão diária aceitável (ANVISA, 2009). O estabelecimento do LMR para antimicrobianos viabiliza o monitoramento desses fármacos e cria exigências relativas ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação dos resultados (SAMANIDOU; NISYRIOU, 2008).

A efetividade das ações no monitoramento e fiscalização de produtos de origem animal só será alcançada mediante entrosamento e ação conjunta de todas as organizações governamentais e segmentos sociais envolvidos na cadeia produtiva de alimentos, com compartilhamento das responsabilidades das autoridades federais, estaduais e municipais. Através dessa articulação será possível criar uma estrutura adequada e eficaz para identificar, prevenir e eliminar ou minimizar os riscos à saúde humana provenientes do uso de medicamentos veterinários em animais de produção (SPISSO; NÓBREGA; MARQUES, 2009).

3.6. Métodos analíticos

Métodos analíticos têm sido desenvolvidos para determinar se há ou não resíduos de contaminantes em alimentos e assegurar que esses alimentos estão enquadrados nas determinações legais (PASCHOAL et al.,

2008). Existem diferentes métodos visando detectar resíduos de medicamentos veterinários em alimentos como os métodos microbiológicos, imunológicos, enzimáticos e os cromatográficos (KANG; KONDO, 2001).

Dentre esses métodos existem os confirmatórios e os de triagem. Os testes classificados como testes de triagem, incluem os imunológicos e de inibição microbiológicos (MAMANI; REYES; RATH, 2009). Estes testes utilizam análises qualitativas ou semiquantitativas detectando a presença de grupos de antimicrobianos (SANTOS; DUARTE; POZZI, 2011) em concentração igual ou inferior ao LMR em uma matriz de interesse. No entanto, quando há um resultado positivo ou suspeito deve-se analisar a amostra utilizando métodos confirmatórios (BRASIL, 1999). Os métodos confirmatórios incluem técnicas sensíveis e específicas para a identificação e quantificação de resíduos de antimicrobianos no leite, como a cromatografia (MAMANI; REYES; RATH, 2009).

A maioria dos testes comerciais disponíveis no mercado são testes de triagem (SANTOS, 2003), esses métodos devem ser rápidos, específicos e sensíveis (MAFFEI; NOGUEIRA; BRONDI, 2009). Os testes comerciais microbiológicos utilizam métodos qualitativos ou semiquantitativo, com base em uma reação específica entre um organismo suscetível, geralmente bactérias, e o antimicrobiano presente na amostra. A maior parte destes testes detectam diferentes antimicrobianos que estão em concentração perto do limite máximo de resíduos (CHAFER-PERICAS; MAQUIEIRA; PUCHADES, 2010).

Os ensaios microbiológicos utilizados pelos testes comerciais geralmente se apresentam de duas formas, em ampolas (monoteste) ou sob a forma de placas (multi testes). Ambos, contém micro tubos com meio de cultura em um determinado valor de pH, semeado com uma bactéria sensível. A presença de uma substância antimicrobiana em uma amostra é confirmada pela ausência da alteração de cor desse meio, devido ao crescimento reduzido da bactéria do teste. A estirpe bacteriana comumente utilizada nesses testes é *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*, por possuir rápido crescimento a uma temperatura elevada, permitindo a obtenção do resultado da análise dentro de algumas horas. Dentre esses testes disponíveis no mercado para a análise de leite, pode-se citar Charm Cowside II[®] (Charm Sciences Inc.), Delvotest[®] (DSM), Eclipse (Zeus-Immunotech), entre outros (PIKKEMAAT et al., 2009).

O Charm Cowside II[®] detecta resíduos de aminoglicosídeos, β -lactâmicos, tetraciclínas, sulfonamidas e macrolídeos, através da reação do *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* semeado em meio de cultura contendo indicador de pH e os resíduos desses antibióticos presente na amostra. Quando há resíduos na amostra ocorre retardo ou inibição da multiplicação bacteriana, logo não há acidificação do meio e nem mudança de cor original do meio. Na ausência de resíduos, ocorre multiplicação bacteriana, produção de ácido e consequentemente alteração da cor original do meio (LAGE, 2010).

O teste é o Charm Cowside II[®] é qualitativo estabelecendo apenas se há ou não antimicrobianos no leite testado, não informando qual o composto detectado e qual a sua concentração quando utilizados para

monitoramento de leite. Assim, um resultado positivo não significa necessariamente violação da lei ou risco para o consumidor. Da mesma forma, um resultado negativo não indica ausência completa de resíduos, uma vez que o leite pode conter antimicrobianos não detectáveis por esse teste. O ideal é que amostras positivas sejam submetidas a métodos de confirmação, capazes de quantificar os resíduos presentes nas amostras testadas. No entanto, é importante citar que este teste é capaz de detectar a presença da maioria dos antimicrobianos nas concentrações mínimas declaradas pelo fabricante e na concentração permitida pela legislação brasileira (LAGE, 2010).

4. REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, F.M. Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 96, p. 271-281, 2005.
- ADDO, K. K. ; MENSAH, G. I.; ANING, K. G.; NARTEY, N.; NIPAH, G.H.; BONSU, C.; AKYEH, M. L.; SMITS, H. L. Microbiological quality and antibiotic residues in informally marketed raw cow milk within the coastal savannah zone of Ghana. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v.16, n. 2, p.227-232, 2011.
- ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M.; MARTINS, S. C. S. Investigação sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 41, p. 29-32, 1996.
- ALLISON, J.R.D. Antibiotics residues in milk. **British Veterinary Journal**, London, v. 141, n. 1, p. 9-16, 1985.
- ALMEIDA; L. P.; VIEIRA, R. L.; ROSSI, D. A; CARNEIRO, A. L.; ROCHA, M. L. Resíduos de antibióticos em leites de propriedades rurais da região de Uberlândia-MG. **Journal of Biosciences**, Uberlândia, v. 19, n. 3, p. 83-87, set./dec. 2003.
- ANDREOTTI, R.; NICODEMO, M.L.F. **Uso de antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento de resistência**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, Campo Grande, 2004.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal - PAMVet - Relatório 2002/2003 - **Monitoramento de resíduos em leite exposto ao consumo (1º e 2º anos de atividades)**. ANVISA, 2005.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal - PAMVet - Relatório 2006/20073 - **Monitoramento de resíduos em leite exposto ao consumo (5º e 6º anos de atividades)**. ANVISA, 2009.
- ARIAS, C.A.; MURRAY, B.E. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century. A clinical super-challenge. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 360, n. 5, p. 439-443, 2009.
- BALABAN, N.; RASOOL, Y. A. Review: Staphylococcal enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.61, p.1-10, 2000.
- BARROS, G. M. S.; JESUS, N. M. de; SILVA, M. H.. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo c, comercializado na cidade de Salvador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 2, n.3, p.69-73, 2001.
- BECKER, T. A.; NEGRELO, I. F.; RACOULTE, F.; DRUNKLER, D. A. Avaliação da qualidade sanitária de leite integral informal, pasteurizado, UHT e em pó comercializados na cidade de Medianeira e Serranópolis do Iguazu – Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 707-716, jul./set., 2010.

BELTRANE, M. A.; MACHINSKI-JUNIOR, M. Principais riscos químicos no leite: um problema de saúde pública. **Arquivo Ciências Saúde Unipar**, Umuarama, v. 9, n.2, mai./ago., 2005.

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

BILANDZIC, N. ; KOLANOVI, B. S.; VARNINA, I.; SCORTIGHINI, G.; ANNUNZIATA, L.; BRSTILO, M.; RUDAN, N. Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. **Food Control**, Guildford, v. 22, p. 1941-1948, 2011.

BOOTH, D. M. Principles of antimicrobial therapy. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 36, p.1003-1047, 2006.

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**, Goiânia, v.1, n.1, p.59-63, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999**. Alterar o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal e os Programas de Controle de Resíduos em Carne, Mel, Leite, e Pescado. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 22 dez. 1999, p. 213, Seção 1.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 31 dez. 2011, p. 6, Seção 1.

BRITO, M. A. V. P. Resíduos de antimicrobianos no leite. **Circula técnico** [da] Embrapa Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, n. 60, 2000. 20 p.

CAMACHO, L. M. D.; CIPRIANO, M. S.; CRUZ, B. L.; GUTIÉRREZ, I. S.; HERNÁNDEZ, P. E. R.; PEÑALOZA, I. C.; NAMBO, O. M. Resíduos de antibióticos en leche cruda comercializada en la región Tierra Caliente, de Guerrero, México. **Revista electrónica de Veterinária**, Andalucía, v.11, n. 2, p. 1-11, 2010.

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

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Procedural Manual**. 8. Ed. Food Standards Programme, Roma, 2008. Disponível em: < www.codexalimentarius.net>. Acesso em: 20 mai. 2012.

COMISSÃO EUROPEIA. **Comunicação da Comissão ao Parlamento Europeu e ao Conselho**. Plano de acção contra a ameaça crescente da resistência antimicrobiana. Bruxelas, 2011.

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

COSTA, E. O.; RAIÁ, 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 do Núcleo de Pesquisa em Glândula Mamária e Qualidade do Leite**, São Paulo, v. 2, n.1, p.10-13, 1999.

COSTA, A. S.; LOBATO, V. Avaliação da presença de resíduos de antimicrobianos em leite e bebida láctea UHT por Teste de inibição microbiana comercial. **Revista Instituto Laticínios "Cândido Tostes"**, Juiz de Fora, v. 64, n. 367/368, p. 72-76, mar./jun., 2009.

COSTA, F.M.; NETTO, A.D.P. Desenvolvimento e aplicação de métodos para a determinação de ivermectina em medicamentos de uso veterinário. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n.3, p. 616-622, 2012.

COUTO, C. M. C. M.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M.; REIS, S. Complexação da tetraciclina, da oxitetraciclina e da clortetraciclina com o cátion cobre: estudo potenciométrico. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 457-460, 2000.

FAVA, L.W.; PINTO, A.T. Ocorrência de leite ácido e de resíduos de antimicrobianos no leite cru entregue em laticínio na região do Vale do Taquari, RS, Brasil. **Acta Scientiae veterinariae**, Porto Alegre, v. 38, n.4, p. 419-423, 2010.

FOLLY, M. M.; MACHADO, S. C.A. Determinação de resíduos de antibióticos, utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imunoenaios no leite pasteurizado comercializado na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.95-98, 2001.

FOLLY, M. M.; UEBE, P. M.; TEIXEIRA, G. N.; LESSA, S. S. A.; LAMANAR, A. C.; MARTINS, M. L. L. Determinação de resíduos do antibiótico cloxacilina em leite de vacas com elevada contagem de células somáticas. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 13-24, 2008.

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

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO-JÚNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M. ; RABELO, S.S. A ; SILVA, D. R.; SILVEIRA-FILHO, V. M.; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2, p.171-177, abr./jun., 2005.

FUSCO, M. A.; OLIVEIRA, C. V. S.; PEPE, V. L. E. Farmacovigilância veterinária e a saúde humana: uma revisão dos programas selecionados de notificação de eventos adversos a medicamentos veterinários. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.15, n.1, p.49-61, 2010.

GOMES, M.F. **Avaliação da eficiência de "kits" destinados à detecção de resíduos de antimicrobianos em leite de vacas tratadas com Ivermectina e Abamectina**. 2005. 39 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2005.

GONZÁLEZ, S. M.; AGUILERA-LUIZ, M. M.; PLAZA-BOLANOS, P.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M. Antimicrobial use in Swiss dairy farms: Quantification and evaluation of data quality. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 95, p. 50-63, 2010.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, E. H. **Princípios da utilização prudente e racional de antimicrobianos em animais**. In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L.B.; KRUSE, H. Guia de Antimicrobianos em Veterinária. Rio Grande do Sul: Artmed, 2010. 268p.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. da S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HEERSCHEN, W. H. Residues of antibiotics and sulfonamides in milk: significance and toxicological evaluation, legal situation within the European Community (EEC), and method-related activities of the International Dairy Federation (IDF). **Bulletin of International Dairy Federation**, Bruxelles, n.283, p.3, 1993.

HOOGERHEIDE, S. L.; MATTIODA, F. Qualidade bacteriológica do leite cru refrigerado em propriedades rurais do estado do Paraná. **Revista Instituto Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 67, n. 385, mar./abr., p.58-63, 2012.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of salmonella isolated from food animals: a review. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 819-830, 2012.

IBGE. **Banco de Dados Agregados**. Sistema IBGE de recuperação automática. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/default.shtm>>. Acesso em: 18 abr. 2012.

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

KHANIKI, J. Chemical contaminants in milk and public health Concerns: A Review. **International Journal of Dairy Science**, Estados Unidos, v. 2, p. 104-115, 2007.

KITAZONO, Y.; IHARA, I.; YOSHIDA, G.; TOYODA, K.; UMETSU, K. Selective degradation of tetracycline antibiotics present in raw milk by electrochemical method. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 243, p. 112-116, 2012.

KORB, A.; BRAMBILLA, D. K.; TEIXEIRA, D.C.; RODRIGUES, R. M. Riscos para a saúde humana do uso de antibióticos na cadeia produtiva leiteira. **Revista Saúde Pública**, Santa Catarina, v. 4, n. 1, p. 21-36, jul./dez. 2011.

LAGE, A. D. **Avaliação do charm® cow side II test e charm® blue yellow II test para a detecção de resíduos de antimicrobianos em leite**. 2010. 44 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2010.

LIU, C.; WNAG, H.; JIANG, Y.; DU, Z. Rapid and simultaneous determination of amoxicillin, penicillin G, and their major metabolites in bovine milk by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 879, p. 533-540, 2011.

LOPES, M. O.; CARRARO, C. N. M.; VEIGA, D. R.; CANDIDO, L. M. B.; FURTADO, F. J. Levantamento do uso e detecção de resíduos de antimicrobianos no leite produzido na região metropolitana de Curitiba-PR. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 57, n. 327, jul./ago., 2002.

MACEDO, L.C.S.; FREITAS, J.A. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos em leite. **Revista Ciências Agrárias**, Belém. n. 52, p. 147-157, jul./dez. 2009.

MAFFEI, D. F.; NOGUEIRA, A. R. A.; BRONDI, S. H. G. Determinação de resíduos de pesticidas em plasma bovino por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1713-1716, 2009.

MAMANI, M. C.V.; REYES, F. G. R.; RATH, S. Multiresidue determination of tetracyclines, sulphonamides and chloramphenicol in bovine milk using HPLC-DAD. **Food Chemistry**, London, v. 117, p. 545-552, 2009.

MARTIN, J. G. P. Resíduos de antimicrobianos em leite – uma revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 80-87, 2011.

MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; MAGNANI, D. F.; NERO, L. A.; BARROS, M. A. F.; PIRES, E. M. F.; PAQUEREAU, B. P. D. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 173-182, jan./mar. 2010.

MCEWEN, S. A.; FEDORKA-CRAY, P.J. Antimicrobial use and resistance in animals. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.34, p. 93-106, 2002. (Suppl 3).

MEDEIROS, E. S.; MOTA, R. A.; SANTOS, M. V.; FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO- JÚNIOR, J. W.; TELES, J. A. A. Perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* de linhagens de *Staphylococcus spp.* isoladas de vacas com mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n.7, p. 569-574, jul., 2009.

MERLE, R.; HAJEK, P.; KÄSBOHRER, A.; HEGGER-GRAVENHORST, C.; MOLLENHAUER, Y.; ROBANUS, M; UNGEMACH, F.; KREIENBROCK, L. Monitoring of antibiotic consumption in livestock: A German feasibility study. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 104, p. 34-43, 2012.

MILLER, G. Y; MCNAMARA, P. E.; SINGER, R. S. Stakeholder position paper: eEconomist's perspectives on antibiotic use in animals. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.73, n. 2/3, p. 162-168, feb., 2006.

MONTANARO, A. Sulphonamide allergy. **Immunology and allergy clinics of North America**, Philadelphia v.18, p.843-850, 1998.

MONTEIRO, A. A.; TAMANINI, R.; SILVA, L. C.C.; MATTOS, M. R.; MAGNANI, D. F.; D'OVIDIO, L.; NERO, L. A.; BARROS, M. A. F.; PIRES, E. M. F.; PAQUEREAU, B. P. D. ; BELOTI, V. Características da produção leiteira da região do agreste do estado de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 665-674, out./dez. 2007.

MORLEY, P. S., APLEY, M. D.; BESSER, T. E.; BURNEY, D. P.; FEDORKA-CRAY, P. J.; PAPICH, M. G.; TRAUB-DARGATZ, J. L.; WEESE, J. S. Antimicrobial drug use in veterinary medicine. **Journal of veterinary internal medicine**, Lawrence, v. 19, p. 617-629, 2005.

MOTA, R. N.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian journal of veterinary research and animal science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

MOULIN, G.; CAVALIE, P. PELLANNE, I.; CHEVANCE, A.; LAVAL, A.; MILLEMANN, Y; COLIN, P.; CHAUVIN, C. A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 62, p. 617-625, 2008.

NADER-FILHO, A.; FERREIRA, L. M.; AMARAL, L. A.; ROSSI-JUNIOR, O. D.; OLIVEIRA, R. P. Sensibilidade antimicrobiana dos *Staphylococcus Aureus* isolados no leite de vacas com mastite. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.1, p.1-4, jan./mar., 2007.

NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista Nutrição**, Campinas, v.14, n.2, p.119-124, maio/ago., 2001.

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 Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 27, n.2, p. 391-393, 2007.

OLIVEIRA, J.F.P.; CIPULLO, J.P.; BURDMANN, E.A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. **Revista brasileira de cirurgia cardiovascular**, São Paulo, v., 21, n. 4., p. 444-452, 2006.

PAIVA-BRITO; M. A. V.; LANGE, C. C. Resíduos de antibióticos no leite. **Comunicado técnico** [da] Embrapa Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, n. 44, dez., 2005.

PALERMO-NETO, J. O problema do uso inadequado de antibióticos na produção de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, p.199-208, 2007. (Supl.)

PARDON, B.; CATRY, B. ; DEWULF, J.; PERSONS, D.; HOSTENS, M.; BLEECKER, K.; DEPREZ, P. . Prospective study on quantitative and qualitative antimicrobial and anti-inflammatory drug use in white veal calves. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 67, n. 4, p. 1027-1038, 2012.

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLDI, F.P.S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p.1190-1198, 2008.

PIKKEMAAT; M. G.; RAPALLINI, M. L. B. A.; DIJK, S. O. V.; ELFERINK, J. W. A. Comparison of three microbial screening methods for antibiotics using routine monitoring samples. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 394, n. 4, p. 298-304, 2009.

PIOTROWSKA J.; MITUNIEWICZ, T.; SOWINSKA, J.; GONKIEWICZ, B.; SOBCZAK, J.; WOLOSUIK, R. Antibiotic residues in animal-derived food in the Warmia and Mazury region in the years 2005-2009. **Medycyna Weterynaryjna**, Warszawa, v. 67, n. 5, maio, p. 318-321, 2011.

PONTES-NETTO, D. P.; LOPES, M. O.; OLIVEIRA, M. C. S.; NUNES, M. P.; MACHINSKI-JUNIOR, M.; BOSQUIROLI, S. L.; BENATTO, A.; BENINI, A.; BOMBARDELLI, A. L. C.; VEDOVELLO-FILHO, D.; MACHADO, E.; BELMONTE, I. L.; ALBERTON, M.; PEDROSO, P. P.; SCUCATO, E. S. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences. Maringá, v. 27, n. 1, p. 145-151, jan./mar., 2005.

PRADO, C. K.; MACHINSKI-JUNIOR, M. Metodologia analítica para determinação de resíduos de tetraciclina em leite: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 448-456, 2011.

RAIA, R. B., COSTA, E. O., GARINO JÚNIOR, F., WATANABE, E. T. *et al.* Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Rev. Revista do Núcleo de Pesquisa em Glândula Mamária e Qualidade do Leite**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 4 - 8, 1999.

REGULA, G.; TORRIANI, K.; GASSNER, B.; STUCKI, F.; MUNTENER, C. R. Prescription patterns of antimicrobials in veterinary practices in Switzerland. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 63, p. 805-811, 2009.

RIBEIRO, M. G. **Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia**. In: Andrade S.F. (Ed.), Manual de Terapêutica Veterinária. 3ª ed. Roca, São Paulo. 936 p., 2008.

RIZZO, J. Q.; SALTER, R. S. A history of antibiotic test screening regulations in the US, test kit approval protocol, US testing database from 1998-2001, and comparison to other antibiotic control programs of other countries. **Journal Association Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 84, n. 1, 2001.

SAINI, V.; MCCLURE, J. T.; LÉGER, D.; DUFOUR, S.; SHELDON, A. G.; SCHOLL, D. T.; BARKEMA, H. W. Antimicrobial use on Canadian dairy farms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 3, p.1209-1221, mar., 2012.

SAMANIDOU, V.; NISYRIOU, S. Multi-residue methods for confirmatory determination of antibiotics in milk. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 31, n. 11, p. 2068-2090, 2008.

SANTOS, A. F. S.; DUARTE, K. M. R. ; POZZI, C. R. Detecção de Resíduos de Antimicrobianos no Leite. **UNOPAR científica**. Ciências biológicas e da saúde, Londrina, v. 13, n. 3, p. 205-212, 2011.

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

SAVILLE, 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, Shaumburg**, v. 217, n. 4, 2000. p. 541-545.

SEBRAE. Perfil econômico e principais oportunidades de negócios em Pernambuco. v.2, n.5, 2006. 34p.

_____. Conhecer SEBRAE Leite e Derivados: Perspectivas e tendências da agricultura familiar, n.17, dez., 2010.

SILVA, R.M.; SILVA, R.C.; RIBEIRO, A.B. Resíduos de antibióticos em leite. **SaBios: Revista da Saúde e Biologia**, Campo Mourão, Paraná, v.7, n.1, p.30-44, jan./abr., 2012.

SILVEIRA, G. P.; NOME, F.; GESSER, J. C.; SÁ, M. M.; TERENCEZI, H. Estratégias utilizadas no combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SOUSA, F. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. .C; SILVA, E. F. M . Ocorrência de resíduos de antibióticos em leites Pasteurizados comercializados no estado do Ceará, Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v.5, n.4, p. 10-14, out./dez., 2010.

SOUSA, M. R. P.; RISTOW, A. M.; NOGUEIRA, E. B.; TORRES-FILHO, R.; CORTEZ, M. A. S. Caracterização de pequenas unidades produtoras de leite na região Centro e Noroeste do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, Niterói, v. 18, n. 2/3, p. 79-84, maio/dez. 2011

SOUSA, F. C.; SILVA, L. M. M.; SILVA, J. A.N.; CRUZ, C. S. A.; SOUSA, E. P. Resíduos de antibiótico em amostras de leite pasteurizado tipo c comercializado na região cariense. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 7, n. 2, p.21-24, abr./jun., 2012.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARD, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. Cap. 26, p. 269-278.

SPISSO, B. F.; MONTEIRO, M. A.; PEREIRA, M. U.; FERREIRA, R. G.; COSTA, R. P.; CRUZ, T. A.; NÓBREGA, A. W. Pilot survey of commercial pasteurized milk consumed in the metropolitan area of Rio de Janeiro, Brazil, for tetracyclines residues, including the 4-epimers of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline, **Food Additives and Contaminants: Part B: Surveillance**, London, v. 3, n. 4, p. 220-227, 2010.

SPISSO, B. F.; NÓBREGA, A. W.; MARQUES, M. A. S. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.14, n.6, p.2091-2106, 2009.

STOLKER, A.A.M.; BRINKMAN, U.A.Th. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals—a review **Journal Chromatography A**, Amsterdam, v.1067, p. 15–53, 2005.

TAN, X.; JIANG, Y.; HUANG, Y.; HU, S.H. Persistence of gentamicin residues in milk after the intramammary treatment of lactating cows for mastitis. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B**, Zheda Road, v.10, n.4. p. 280-284, 2009.

TANG, Y.-Y.; LU, H.-F.; LIN, H.-Y.; SHIH, Y.-C.; HWANG, D.-F. Multiclass analysis of 23 veterinary drugs in milk by ultraperformance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, n. 881/882, p. 12-19, 2012.

TEUBER, M. Veterinary use and antibiotic resistance. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 4, p.493-499, 2001.

THIELE-BRUHN, S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Temuco, v. 166, p.145-167, 2003.

TORNADIJO, M.E.; MARA, A. I.; GARCIA-FORTAN, M.C.; CARBALHO, J. La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso: calidad química. **Ciencia e Tecnología Alimentaria**, Galicia, v.2, n.2, p.79-91, 1998.

TORRES, C.; MORENO, M. A.; ZARAZAGA, M. Prudent use of antimicrobial agents: not just for humans. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Barcelona, v. 28, n. 10, p. 669-671, 2010.

VALENTE, L. C. M.; SOUZA, E. C.; VALE, S. M. L. R.; BRAGA, M. J. Relação entre gastos preventivos e com tratamento: levantamento da situação em fazendas produtoras de leite de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.41, n.1, p. 212-220, 2012.

VIEIRA, T. S. W. J.; RIBEIRO, M. R. R; MACHINKI-JUNIOR, M.; PONTES-NETTO, D. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 791-796, abr., 2012.

WEAVER, L. D. Antibiotic residues in milk and meat: perceptions and realities. **Veterinary Medicine**, Oxford, v.87, n.12, p.1222-1228, 1992.

ZANETTE, E.; SCAPIN, D.; ROSSI, E. M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. **Unoesc & Ciência – ACBS**, Joaçaba, v. 1, n. 1, p. 65-70, jan./jun., 2010.

5. ARTIGOS CIENTÍFICOS

5.1. Capítulo 1

Pesquisa de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco¹

Research of antimicrobial residues in fresh milk arising of dairy cattle herd of microregion of Garanhuns, Pernambuco

Elane Rafaella Cordeiro Nunes^{1*}, José Wilton Pinheiro Júnior^{II}, Erika Valente de Medeiros^{II}, Keila Aparecida de Moreira^{II}

^I Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, elane.rafaela@hotmail.com

^{II} Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns,

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar a frequência de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* produzido em propriedades rurais localizadas na microrregião de Garanhuns, Pernambuco, e se houve associação do manejo sanitário com a presença desses resíduos. Foram analisadas 84 amostras coletadas em tanques de expansão ou latões, procedentes de 84 propriedades localizadas em 19 municípios. Em cada propriedade foi aplicado um questionário. A pesquisa de antimicrobianos no leite foi realizada com o Kit Charm Cowside II[®]. Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva. Verificou-se que 12 (14,29%) amostras de leite oriundas de 10 municípios foram positivas. A única variável de manejo que teve associação significativa com a presença de resíduos de antimicrobianos no leite foi o tipo de ordenha ($p=0,038$) com predominância de resultados positivos na técnica de ordenha mecânica ao pé. Conclui-se que a presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* foi detectada em mais de 50% dos municípios da microrregião de Garanhuns. E que a técnica de ordenha e o manejo higiênico durante a ordenha implantados nas propriedades pode favorecer a presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura*.

Palavras-chave: Leite, antimicrobiano, qualidade alimentar, rebanho leiteiro

¹ Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the prevalence of antimicrobial residues in raw milk produced in farms located in microregion of Garanhuns, Pernambuco. We analyzed 84 samples collected in expansion tanks or drums, coming from 84 herds in 19 counties. In each farm received a questionnaire. The survey of antimicrobials in milk was performed with Charm Cowside Kit II ®. Data were analyzed using descriptive statistics. It was found that 12 (14.29%) milk samples from 10 municipalities were positive. The only variable significantly associated with the presence of antimicrobial residues in milk was the type of milking ($p=0.038$) with a predominance of positive results in the technique of milking the foot. We conclude that the presence of antimicrobial residues in raw milk was detected in over 50% of the municipalities of the region of Garanhuns. The hygiene during automatic milking deployed in properties may favor the presence of antimicrobial residues in raw milk.

Key words: Milk, antimicrobial, food quality, dairy herd

INTRODUÇÃO

A pecuária de leite representa um importante segmento do agronegócio na economia brasileira (Rodrigues et al., 2011). No Estado de Pernambuco, por exemplo, a cadeia produtiva leiteira constitui um dos principais suportes econômicos nas microrregiões do Vale do Ipojuca, Vale do Ipanema e Garanhuns, localizadas na região do Agreste do Estado (Sebrae, 2006). Nesta região, Monteiro et al. (2007) citaram que para avaliar a qualidade do leite produzido e contribuir para o estabelecimento de medidas e programas para a melhoria da qualidade da produção é necessário à elaboração de estudos que avaliem os aspectos microbiológicos, físico-químicos e resíduos de substâncias químicas, como os pesticidas e antimicrobianos.

A presença de resíduos de fármacos com atividade antimicrobiana no leite constitui um sério problema de saúde pública e econômico para o país, considerando o valor nutricional do produto, o prejuízo à saúde humana e as perdas financeiras para o produtor e o fabricante de produtos lácteos (Prado e Machinski-Junior, 2011). O consumo de produtos contendo esses resíduos pela população humana pode desencadear fenômenos alérgicos, efeitos tóxicos e a seleção de bactérias resistentes (Sousa et al., 2010). Na indústria a utilização deste leite inibe culturas lácteas sensíveis presentes nos fermentos utilizados para fabricação de derivados lácteos (Albuquerque et al., 1996) interferindo na produção e qualidade desses produtos (Tornadijo et al., 1998).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi pesquisar resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* procedente de rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns do Estado de Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de setembro a dezembro de 2012, foram analisadas 84 amostras de leite de *in natura*, procedentes de 84 propriedades rurais distribuídas em 19 municípios da microrregião de Garanhuns, Pernambuco. Para cálculo do tamanho amostral, utilizou-se 5% de prevalência baseada na média da prevalência obtida em estudo elaborado por Nero et al. (2007), Macedo e Freitas (2009) e Mattos et al. (2010). A metodologia utilizada foi a de Correa (2006), considerando população infinita, nível de confiança de 95% e erro tolerável de amostragem de 5%. O tamanho da amostra foi 74 amostras, a este número, foram adicionados 10% para eventuais perdas totalizando assim 84 amostras. O número de amostras por municípios foi determinado por amostragem estratificada, baseada na proporção das propriedades produtoras de leite dos municípios na microrregião de Garanhuns, Pernambuco. A seleção das propriedades rurais foi realizada de forma aleatória, e nestas foi aplicado um questionário contendo questões objetivas relacionadas à produção leiteira e manejo sanitário. Os dados foram protocolados para posterior análise.

As amostras foram coletadas diretamente nas propriedades, após a ordenha, em tanques de expansão ou latões, dependendo da tecnificação das propriedades. De cada propriedade foram coletados 180 mL de leite, sendo que uma alíquota de 100 mL foi armazenada em frasco estéril para análise de resíduos de antimicrobianos. Duas alíquotas com 40 mL foram acondicionadas em frascos contendo os conservantes azidiol para análise de contagem bacteriana total (CBT) e bronopol para análises de contagem de células somáticas (CSS). Os frascos possuíam tampa rosqueável e foram previamente identificados. Após a coleta as amostras foram acondicionadas à temperatura de refrigeração em caixa isotérmica, contendo gelo reciclável e encaminhado ao Centro Laboratorial de Apoio à Pesquisa da Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Em seguida, amostras utilizadas na análise de resíduos foram congeladas a - 20°C até a realização das análises. As outras amostras foram mantidas sob refrigeração e encaminhados ao laboratório do Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Para a realização da pesquisa de antimicrobianos no leite utilizou-se o teste qualitativo Kit *Charm Cowside II*® (CHARM, Estados Unidos), que se baseia na inibição do crescimento bacteriano (*Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*) para detectar resíduos de aminoglicosídeos, β -lactâmicos, tetraciclinas, sulfonamidas e macrolídeos. Os resultados desse teste são apresentados como positivo, atenção ou negativo. A CCS e CBT foram determinadas pelo método de citometria de fluxo em equipamentos automatizados (Bentley Combi 2300 e IBC Bentley).

Foi utilizada a análise estatística descritiva para cálculos das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste comercial de inibição de crescimento bacteriano. As amostras que indicaram atenção pelo Kit Charm Cowside II® (CHARM, Estados Unidos) foram consideradas negativas na análise estatística. A CCS e CBT foram consideradas aceitáveis ou não de acordo com o limite permitido pela Instrução Normativa N°62 de 29 de dezembro do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2011). Para identificar a associação entre as variáveis de manejo e teste de inibição de crescimento bacteriano, foi realizada uma análise univariada das variáveis de interesse pelo teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário. O programa Epi Info, versão 3.5.1 - *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos. Para o

107 estudo de concordância entre os testes utilizou-se o coeficiente de Kappa (K) e a interpretação convencional dos
 108 valores K adotadas foram: 0,00 - 0,20 = concordância fraca; 0,21 - 0,40 = regular; 0,41 - 0,60 = moderada; 0,61 - 0,80
 109 = boa; 0,81- 1,00 = muito boa, valores negativos são interpretados como equivalentes a 0,00 (Landis; Koch, 1977).
 110 Para o cálculo de concordância utilizou-se o programa computacional *Bioestat* versão 5.0.

111

112

RESULTADOS

113

114 A frequência de amostras positivas para presença de antimicrobianos no leite foi de 14,3% (12/84) (I.C. 6,8% -
 115 22,5%). Em relação à distribuição por município observou-se que 52,6% (10/19) apresentaram amostras com presença
 116 de antimicrobianos. As amostras positivas foram procedentes de dez municípios: Brejão, Canhotinho, Garanhuns,
 117 Jucati, Jurema, Lajedo, Paranatama, Saloá, São João e Teresinha (Tab. 1).

118

119 **Tabela 1.** Frequência de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* procedente do rebanho bovino leiteiro de municípios
 120 localizados na microrregião de Garanhuns- PE, detectados por teste comercial de inibição microbiana, no período de setembro a
 121 dezembro de 2012.

Município	Amostra (n)	Positiva		Negativa	
		N	%	n	%
Angelim	2	0	0,0	2	100,0
Bom Conselho	11	0	0,0	11	100,0
Brejão	2	2	100,0	0	0,0
Caetés	7	0	0,0	7	100,0
Calçados	4	0	0,0	4	100,0
Canhotinho	4	1	25,0	3	75,0
Correntes	7	0	0,0	7	100,0
Garanhuns	6	1	16,6	5	83,3
Iati	6	0	0,0	6	100,0
Jucati	4	2	50,0	2	50,0
Jupi	3	0	0,0	3	100,0
Jurema	4	1	25,0	3	75,0
Lagoa do Ouro	4	0	0,0	4	100,0
Lajedo	3	1	33,3	2	66,7
Palmerina	2	0	0,0	2	100,0
Paranatama	5	1	20,0	4	80,0
Saloa	5	1	20,0	4	80,0
São João	3	1	33,3	2	66,7
Teresinha	2	1	50,0	1	50,0
Total	84	12	14,29	72	85,71

122

123 A análise da associação entre as variáveis de manejo e o teste comercial de inibição microbiana, para presença
 124 de antimicrobianos está disposta na Tab. 2 e 3. A única variável com associação significativa com ocorrência de
 125 amostras positivas para resíduos de antimicrobianos foi o tipo de ordenha ($p=0,038$) com predominância de resultados
 126 positivos na técnica de ordenha mecânica ao pé. No entanto, houve uma tendência epidemiológica para presença de

127 resíduos de antimicrobianos nas amostras procedentes de propriedades que utilizavam antimicrobianos, que a
 128 recomendação de uso era do próprio proprietário, que administravam duas ou três doses do fármaco, que utilizaram β -
 129 lactâmicos, aminoglicosídeos e macrolídeos.

130

131 **Tabela 2.** Análise da associação entre variáveis de manejo e teste comercial de inibição microbiana para presença de
 132 antimicrobianos no leite *in natura* procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns-PE, no
 133 período de setembro a dezembro de 2012.

Variável	Teste comercial de inibição microbiana				Total		Valor de p
	Positivo		Negativo		F.A.	F.R. (%)	
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)			
Local de coleta							
Latão	9	15,3	50	84,7		100,0	0,494 ^b
Tanque de expansão	3	12,0	22	88,0		100,0	
Vacas em lactação							
Até 25 animais	8	15,1	45	84,9	52	100,0	0,921 ^a
Até 50 animais	3	12,0	22	88,0	25	100,0	
Mais de 50 animais	1	16,7	5	83,3	6	100,0	
Produção diária							
Até 129 litros	7	14,6	41	85,4	48	100,0	0,995 ^a
Até 435 litros	4	13,8	25	86,2	29	100,0	
Acima de 435 litros	1	14,3	6	85,7	7	100,0	
Número de ordenhas							
1	5	12,8	34	87,2	39	100,0	0,484 ^b
2	7	15,6	38	84,4	45	100,0	
Ordenha							
Manual	8	11,4	62	88,6	70	100,0	0,038 ^{a*}
Mecânica (ao pé)	4	40,0	6	60,0	10	100,0	
Mecânica (sala de ordenha)	0	0,0	4	100,0	4	100,0	
Uso de antimicrobianos							
Sim	12	14,5	71	85,5	83	100,0	0,857 ^b
Não	0	0,0	1	100,0	1	100,0	
Recomendação do uso de antimicrobianos							
Por conta própria	11	15,5	60	84,5	71	100,0	0,577 ^a
Veterinário	0	0,0	6	100,0	6	100,0	
Lojista	1	16,7	5	83,3	6	100,0	
Número de administração de antimicrobiano							
1 vez	3	20,0	12	80,0	15	100,0	0,257 ^a
2 a 3 vezes	9	16,1	47	83,9	47	100,0	
4 a 5 vezes	0	0,0	13	100,0	13	100,0	
Descarta o leite de todos os quartos mamário							
Sim	5	14,3	30	85,7	35	100,0	0,618 ^b
Não	7	14,3	42	85,7	49	100,0	
Tempo de descarte							
Até 3 dias	5	14,7	29	85,3	34	100,0	0,703 ^b
4 a 5 dias	0	0,0	4	100,0	4	100,0	
Não descarta	7	15,2	39	84,8	46	100,0	
Separa animal em tratamento							
Sim	5	14,3	30	85,7	35	100,0	0,618 ^b
Não	7	14,3	42	85,7	49	100,0	

134 *Associação significativa a 5%; ^a Qui-quadrado; ^b Exato de Fisher; F.A.: Frequência Absoluta; F.R. (%):Frequência Relativa

135

136

137

138 **Tabela 3.** Análise de associação entre variáveis de classe de antimicrobianos e teste comercial de inibição microbiana para
 139 presença de antimicrobianos no leite *in natura* procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns-PE,
 140 no período de setembro a dezembro de 2012.
 141

Classe de antimicrobianos	Teste comercial de inibição microbiana				Total		Valor de p
	Positivo		Negativo		F.A.	F.R. (%)	
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)			
Sulfa							
Sim	1	5,9	16	94,1	17	100,0	0,246 ^a
Não	11	16,4	56	83,6	67	100,0	
Aminoglicosídeos							
Sim	6	22,2	21	77,8	27	100,0	0,137 ^a
Não	6	10,5	51	89,5	57	100,0	
Beta-lactâmico							
Sim	4	25,0	12	75,0	16	100,0	0,165 ^a
Não	8	11,8	60	88,2	68	100,0	
Macrolídeos							
Sim	1	20,0	4	80,0	5	100,0	0,546 ^a
Não	11	13,9	68	86,1	79	100,0	
Tetraciclina							
Sim	11	14,9	63	85,1	74	100,0	0,564 ^a
Não	1	10,0	9	90,0	10	100,0	

142 ^aExato de Fisher; F.A.: Frequência Absoluta; F.R. (%): Frequência Relativa
 143
 144

145 Das amostras consideradas positivas para presença de resíduos de antimicrobianos 16,4% e 12,2% foram
 146 consideradas aceitáveis pelo padrão estabelecidos, pela Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011 do
 147 Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, para CBT e CSS, respectivamente, conforme apresentado na Tab.
 148 4.

149 **Tabela 4.** Análise de concordância entre os métodos de contagem bacteriana total, contagem de células somáticas e o teste
 150 comercial de inibição microbiana para presença de antimicrobianos no leite *in natura* procedente do rebanho bovino leiteiro
 151 da microrregião de Garanhuns-PE, no período de setembro a dezembro de 2012.
 152
 153

Métodos	Teste comercial de inibição microbiana				Valor de P	Kappa
	Positivo		Negativo			
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)		
CBT						
Aceitável	11	16,4	56	83,6	0,133 ^a	0,047
Não aceitável	1	5,9	16	94,1		
CCS						
Aceitável	9	12,2	65	87,8	0,065 ^a	0,065
Não aceitável	3	30,0	7	70,0		

154 ^aExato de Fisher; F.A.: Frequência Absoluta; F.R. (%): Frequência Relativa, CBT:Contagem
 155 Bacteriana Total, CCS:Contagem de Células Somáticas
 156
 157

158 DISCUSSÃO

159 No Brasil, já houve detecção desses resíduos em leite *in natura*, utilizando testes comerciais microbiológico,
 160 em 8,5% das 47 amostras de Minas Gerais, 6% das 50 amostras do Rio Grande do Sul, 20,6 % das 63 amostras do
 161 Paraná, 8% das 50 amostras de São Paulo (Nero et al., 2007), 1,94% de 103 amostras do Pará (Macedo e Freitas,
 162

163 2009), em 75% das 80 amostras coletadas na região metropolitana de Curitiba (Lopes et al., 2002) e em 1,89% das 53
164 amostras coletadas em Pernambuco (Mattos et al., 2010). Outro estudo utilizando um teste comercial enzimático
165 detectou resíduos em 1,89 % das 168 amostras de leite *in natura* coletadas em Minas Gerais (Almeida et al., 2003). A
166 diferença de prevalência observada no presente estudo e nos diferentes resultados acima citados pode está relacionado,
167 principalmente, com o número de amostras analisadas por estudo e a especificidade e sensibilidade dos testes
168 utilizados.

169 Neste estudo, o tipo de ordenha teve associação significativa ($p=0,038$) com a ocorrência de amostras positivas
170 para resíduos de antimicrobianos com predominância de resultados positivos na técnica de ordenha mecânica ao pé.
171 Esse fato pode está relacionado a falhas de manejo durante a ordenha mecânica, que favoreceu o desenvolvimento
172 mastite e conseqüentemente ao uso de antimicrobianos. Os principais fatores de risco associados à mastite estão
173 relacionados ao manejo higiênico-sanitário ao qual o rebanho é submetido (Oliveira et al., 2012). A mastite é
174 considerada o principal motivo pela utilização de antibióticos na bovinocultura leiteira (Korb et al., 2011). A
175 prevalência de mastite esta relacionada com o aumento de resíduos de antibióticos no leite (Raia et al., 1999).
176 Rasmussen e Justesen (2003) comparando o sistema de ordenha mecânico e manual observaram que houve maior
177 detecção de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite oriundo de animais ordenhados mecanicamente.

178 Nesse estudo, observou-se uma tendência epidemiológica para amostras positivas oriundas de propriedades em
179 que a escolha do tipo de antimicrobiano a ser utilizado era realizada pelo próprio proprietário ou pelo lojista. Esse fato
180 evidencia que a administração desses fármacos no rebanho bovino leiteiro sem a recomendação de um profissional
181 qualificado favorece a presença de resíduos de antimicrobianos no leite. A presença de resíduos de antimicrobianos no
182 leite está relacionado como o tipo de antimicrobiano utilizado, a via de administração e a dose utilizada (Costa et al.,
183 1999) e as práticas insuficientes de manejo, onde o leite produzido por animais medicados é misturado com o
184 produzido pelos animais saudáveis (Rizzo e Salter, 2001).

185 Korb et al. (2011) citam que em Santa Catarina os produtores geralmente compram o medicamento
186 veterinário diretamente da farmácia veterinária, sem prescrição de um profissional, e destinam o leite do animal em
187 tratamento para à alimentação de outros animais, produção de queijo ou descarte no ambiente. No presente estudo, o
188 destino do leite dos animais em tratamento descartado pelos produtores foi fornecimento a outros animais ($n=19$),
189 queijaria ($n=9$), consumo familiar ($n=6$) e descarte no ambiente ($n=1$). Ou seja, parte dos produtores que afirmaram
190 descartar o leite não realiza essa prática de forma correta, o que expõe a população ao consumo de um produto
191 contaminado, e contraria a legislação brasileira, onde determina que o leite oriundo de animais com alteração no
192 estado de saúde capaz de modificar a qualidade sanitária do leite, deve ser condenado imediatamente não sendo
193 utilizado para o consumo humano (Brasil, 2011).

194 A associação entre a variável classe de antimicrobianos e o teste comercial de inibição microbiana para
195 presença de resíduos de antimicrobianos evidenciou uma tendência para o uso de β -lactâmicos, aminoglicosídeos e
196 macrolídeos, e a detecção de resíduos de antimicrobianos no leite. Os antimicrobianos β -lactâmicos, aminoglicosídeos
197 e tetraciclinas são frequentemente utilizados no rebanho leiteiro de alguns estado do Brasil como Santa Catarina (Korb
198 et al., 2011) e Paraná (Lopes et al., 2002; Pontes-Netto et al., 2005). Korb et al. (2011) citam que fármacos

199 pertencentes as tetraciclinas são os mais empregados no tratamento de vacas lactantes e o de maior prevalência de
200 resíduos de antimicrobianos no leite.

201 A presença de resíduo de antibióticos no leite também esta relacionada com o valor de CCS. Níveis elevados
202 de CSS indicam alta prevalência de mastite subclínica no rebanho e está relacionado com o aumento no uso de
203 tratamentos com antibióticos intramamários (Gonzalo et al., 2010). Na legislação brasileira o limite máximo de CCS
204 na região Nordeste é no máximo de 600.000 mil células somáticas a cada um mL de leite (Brasil, 2011). Os resultados
205 deste estudo indicaram que em 30% (3/10) das amostras que apresentaram um valor de CCS superior ao permitido
206 pela legislação houve detecção de resíduos de antimicrobianos, o que pode estar relacionado à prevalência de mastite e
207 ao uso de fármacos com atividade antimicrobiana.

208 Em relação à CBT, das 67 amostras consideradas aceitáveis para os requisitos microbiológicos exigidos pela
209 legislação brasileira, 16,4% foram consideradas positivas pelo teste comercial microbiológico para resíduos de
210 antimicrobianos, neste trabalho. A legislação brasileira cita que a pesquisa de resíduos de antibióticos e a contagem
211 bacteriana devem ser realizadas pelo menos uma vez ao mês nos laticínios para o controle de qualidade da matéria-
212 prima (Brasil, 2011). Considerando que nesse estudo 16,4% do leite produzido em 67 propriedades apesar de ser
213 considerado aceitável para o consumo humano pela legislação brasileira, em relação à contagem bacteriana, não se
214 enquadrou no quesito resíduo químico, por apresentarem resíduos de antimicrobianos no leite, é necessário que haja
215 uma maior intensificação no controle bacteriológico e químico do leite utilizado nas indústrias de laticínios.

216 Os resultados obtidos nesse trabalho são considerados instrumentos iniciais para a elaboração um diagnóstico
217 da qualidade sanitária do leite produzido nessa região e serve, de alerta para o estabelecimento e/ou reformulação de
218 políticas públicas na área de saúde humana e animal visando o controle desses resíduos no leite. Nero et al. (2007)
219 citam que estudos complementares que determinem quais são as princípios ativos de antimicrobianos e sua
220 concentração no leite são de grande importância para o controle desses resíduos em leite e derivados.

221

222

CONCLUSÕES

223

224 A presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* foi detectada em mais de 50% dos municípios da
225 microrregião de Garanhuns e esteve associado com o tipo de ordenha implantado na propriedade. O manejo higiênico
226 realizado durante a ordenha mecânica dos bovinos leiteiros pode favorecer o desenvolvimento de mastite e
227 consequentemente a presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura*.

228

229

230

REFERÊNCIAS

231

232 ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M.; MARTINS, S. C. S. Investigação sobre a presença de resíduos de
233 antibióticos em leite comercializado em Fortaleza. *Hig. Aliment.*, v. 10, n. 41, p. 29-32, 1996.

234

235 ALMEIDA; L. P.; VIEIRA, R. L.; ROSSI, D. A. et al. Resíduos de antibióticos em leites de propriedades rurais da
236 região de Uberlândia-MG. *J. biosci.*, v. 19, n. 3, p. 83-87, set.-dec. 2003.

- 237 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de
238 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico
239 de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite
240 Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial*
241 *[da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 31 dez. 2011, p. 6, Seção 1.
242
- 243 CORREA, S. M. B. B. *Probabilidade e estatística*. 2.ed. Belo Horizonte: PUC Minas Virtual, 2006.
244
- 245 COSTA, E. O.; RAIÁ, R. B.; GARINO-JÚNIOR, F. et al. Presença de resíduos de antibióticos no leite de pequena
246 mistura de propriedades leiteiras. *RAPGAMA*, v. 2, n.1, p.10-13, 1999.
247
- 248 GONZALO, C.; CARRIEDO, J. A.; GARCÍA-JIMENO, M C. et al. Factors influencing variation of bulk milk
249 antibiotic residue occurrence, somatic cell count, and total bacterial count in dairy sheep flocks. *J. dairy sci.*, v. 93,
250 p.1587-1595, 2010.
251
- 252 KORB, A.; BRAMBILLA, D. K; TEIXEIRA, D.C.; RODRIGUES, R. M. Riscos para a saúde humana do uso de
253 antibióticos na cadeia produtiva leiteira. *Rev. Saude Pub.*, v. 4, n. 1, jul.-dez. 2011.
254
- 255 LANDIS, J.R.; KOCH, G.G. The measurement of obser ver agreement for categorical data. *Biometrics*, v.33, n.1, p.
256 159-174, 1977.
257
- 258 LOPES, M. O.; CARRARO, C. N. M., VEIGA, D. R. et al. Levantamento do uso e detecção de resíduos de
259 antimicrobianos no leite produzido na região metropolitana de Curitiba-PR. *Rev. Inst. Laticionios Candido Tostes*, v.
260 57, n. 327, jul./ago., 2002.
261
- 262 MACEDO, L. C. S.; FREITAS, J. A. Ocorrência de Resíduos de Antimicrobianos em Leite. *Rev. Ciênc, Agrar.*, n. 52,
263 p. 147-157, jul.-dez. 2009.
264
- 265 MATTOS, M, R.; BELOTI, V.; TAMANINI, R. et al. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de
266 Pernambuco, Brasil. *Semin., Cienc. agrar.*, v. 31, n. 1, p. 173-182, jan.-mar. 2010.
267
- 268 MONTEIRO, A. A.; TAMANINI, R.; SILVA, L. C. C. et al. Características da produção leiteira da região do agreste
269 do estado de Pernambuco, Brasil. *Semin., Cienc. agrar.*, v. 28, n. 4, p. 665-674, out.-dez. 2007.
270
- 271 NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V. et al. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no
272 Brasil. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 27, n.2, p. 391-393, 2007.
273
- 274 OLIVEIRA, J. M. B.; VANDERLEI, D. R.; MORAES, W. S. et al. Fatores de risco associados à mastite bovina na
275 microrregião Garanhuns, Pernambuco. *Pesqui. Vet. Bras.*, v. 32, n.5, p. 391-395, maio, 2012.
276
- 277 PONTES-NETTO, D. P.; LOPES, M. O.; OLIVEIRA, M. C. S. et al. Levantamento dos principais fármacos utilizados
278 no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. *Acta Sci., Anim. Sci.*, v. 27, n. 1, p. 145-151, jan./mar., 2005.
279
- 280 PRADO, C. K.; MACHINSKI-JUNIOR, M. Metodologia analítica para determinação de resíduos de tetraciclinas em
281 leite: uma revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, v. 70, n. 4, p. 448-456, 2011.
282
- 283 RAIÁ, R. B.; COSTA, E. O.; GARINO JÚNIOR, F. et al. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de
284 antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. *RAPGAMA*, v. 2, n. 1, p. 4-8, 1999.
285
- 286 RASMUSSEN, M. D.; JUSTESEN, P. The frequency of antibiotics in milk from herds with automatic milking
287 systems. *Ital. j. anim. sci.*, v.2, p. 318, 2003.
288

- 289 RIZZO, J. Q.; SALTER, R. S. A history of antibiotic test screening regulations in the US, test kit approval protocol,
290 US testing database from 1998-2001, and comparison to other antibiotic control programs of other countries. *J. assoc.*
291 *off. Anal. chem.*, v. 84, n. 1, 2001.
292
- 293 RODRIGUES, M. H. S.; SOUZA, M. P.; RODRÍGUEZ, T. D. M. et al. Análise de eficiência dos produtores de leite
294 do município de Rolim de Moura, no estado de Rondônia. *G&R*, v. 27, n.79, jan./abr, 2011.
295
- 296 SEBRAE. Perfil econômico e principais oportunidades de negócios em Pernambuco. Cartilha Feira do Empreendedor
297 [do] Serviço Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas, Recife, v.2, n.5, 2006. 34p.
298
- 299 SOUSA, F. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. .C; SILVA, E. F. M . Ocorrência de resíduos de antibióticos em
300 leites Pasteurizados comercializados no estado do Ceará, Brasil. *RVADS*, v.5, n.4, p. 10-14, out-dez, 2010.
301
- 302 TORNADIJO, M. E.; MARA, A. I.; GARCIA-FORTAN, M.C.; CARBALHO, J. La calidade de la leche destinada a
303 la fabricación de queso: calidade química. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.2, n.2, p.79-91, 1998.

5.2. Capítulo 2

Antimicrobianos utilizados no rebanho leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco

Antimicrobials used in the dairy herd of microrregion of Garanhuns, Pernambuco

Elane Rafaella Cordeiro Nunes^{I*}, Erika Valente de Medeiros^{II}, Keila Aparecida de Moreira^{II}

^I Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, elane.rafaela@hotmail.com

^{II} Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns,

Resumo:

O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento dos princípios ativos de antimicrobianos utilizados no rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco, assim como das patologias responsáveis pela administração desses fármacos. Esse estudo é do tipo descritivo transversal. Foram visitadas de forma aleatória 84 propriedades rurais, nestas, foram realizadas entrevistas com os produtores e/ou vaqueiros sobre o tema. Na análise dos dados utilizou-se estatística descritiva. Em mais de 50% dos casos a administração de antimicrobianos esteve relacionada ao tratamento de anemia e mastite. Os princípios ativos mais utilizados foram o cloridrato de oxitetraciclina, oxiciclina e gentamicina. Fármacos pertencentes à classe farmacológica das tetraciclina, aminoglicosídeos e penicilinas foram citados em 100, 68,4 e 47,3% dos municípios. A distribuição dos antimicrobianos diferiu em 47,3% dos municípios. Fármacos pertencentes às classes das tetraciclina, aminoglicosídeos e penicilinas são frequentemente utilizados no tratamento e/ou prevenção de enfermidades infecto-contagiosas que acometem o rebanho bovino leiteiro em diferentes regiões geográficas.

Palavras-chave: manejo sanitário, resistência bacteriana, perfil de antimicrobiano

Abstract

The aim of this study was to conduct a survey of the principle active antimicrobial use in dairy cattle of the microregion of Garanhuns, Pernambuco, as well as the pathologies responsible for the administration of these drugs. This study is a descriptive cross. Were randomly visited 84 farms. In each institution received a questionnaire. We used descriptive statistics. In over 50% of cases of antibiotic administration was related to the treatment of anemia and mastitis. The most frequently used were oxytetracycline, hydrochloride oxytetracycline and gentamicin. Pharmacological drugs belonging to the class of tetracyclines, aminoglycosides and penicillins were cited in 100, 68.4 and 47.3% of the municipalities. The distribution of antimicrobials differed in 47.3% of the municipalities. Drugs

belonging to the class of tetracyclines, aminoglycosides and penicillins are often used the treatment and / or prevention of infectious diseases that affect dairy cattle in different geographical regions.

Key words: sanitary management, bacterial resistance, antimicrobial profile

Introdução

O Brasil é um dos principais fornecedores mundiais de alimentos de origem animal (COSTA; NETTO, 2012). Dentre esses alimentos, o leite é considerado um dos mais nobres dos produtos de origem animal, pelo elevado valor nutricional e por ser fonte de renda para os diferentes segmentos da cadeia produtiva (RIBEIRO, 2008). No país a produção leiteira se destaca na região Sudeste, que representa 35% da produção nacional, seguidas pelas regiões Sul (31%), Centro-Oeste (14%), Nordeste (13%) e da região Norte (5%) (IBGE, 2010).

Nessas regiões a qualidade do leite produzido se diferencia por Estado, devido às condições encontradas em cada localidade, como perfil do produtor, acesso à assistência técnica, presença de órgãos extensionistas e programas regionais de controle sanitário de rebanhos (MONTEIRO et al., 2007). Tal situação revela a necessidade do monitoramento da qualidade do leite produzido em uma região (PICININ et al., 2013).

O manejo sanitário que o rebanho leiteiro é submetido pode interferir na qualidade do leite produzido (VALENTE et al., 2012). A administração de fármacos nesses animais, por exemplo, pode resultar na presença de resíduos de seus metabólicos no leite (BRITO, 2000), alterando a qualidade sanitária do leite (BRASIL, 2011) e o tornando impróprio para o consumo (SILVA; SILVA; RIBEIRO, 2012). Os resíduos encontrados com maior frequência no leite se originam de fármacos antimicrobianos (KHANIKI, 2007), os quais vêm sendo amplamente utilizados no rebanho leiteiro para tratar, controlar e/ou prevenir doenças (HUR; JAWALE; LEE, 2012).

A possibilidade de estas substâncias estarem presentes no alimento representa potencial risco à saúde do consumidor (PASCHOAL et al., 2008) e constitui um sério problema econômico para o país ocasionando perdas financeiras aos produtores e fabricantes de produtos lácteos (PRADO; MACHINSKI-JUNIOR, 2011). Os principais riscos a saúde do consumidor são o desencadeamento de fenômenos alérgicos e efeitos tóxicos, e a seleção de bactérias resistentes (SOUSA et al., 2010).

A emergência e a disseminação dessa resistência associadas com as dificuldades encontradas na descoberta de novos agentes antimicrobianos têm resultado em maiores desafios médicos e graves problemas de saúde pública (GUARDABASSI; KRUSE, 2010), tanto devido à ocorrência de infecções que de outra forma não tenham ocorrido ou devido as falhas no tratamento e aumento da gravidade das infecções (AARESTRUP, 2005). Por isso, que o monitoramento do uso de antimicrobianos, da ocorrência de doenças e do perfil de resistência bacteriana aos antimicrobianos auxilia na formulação de políticas públicas e na elucidação dos fatos relacionados à ecologia microbiana e das doenças (MILLER; MCNAMARA; SINGER, 2006). Além disso, a caracterização do perfil de uso desses fármacos nos animais também auxilia na elaboração do diagnóstico sobre os principais fatores que determinam os desvios da qualidade do leite produzido em uma região (MARTIN, 2011; SOUSA et al., 2011).

Apesar da importância da bovinocultura leiteira para o agronegócio brasileiro, com ênfase no aspecto financeiro e nutritivo que o leite representa para a população, estudo sobre o perfil de uso de antimicrobianos pelo rebanho bovino leiteiro no país só existe na região Sul, no Estado do Paraná (PONTES-NETTO et al., 2005) e em Santa Catarina (KORB et al., 2011). Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento dos princípios ativos de antimicrobianos utilizados no rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco, assim como das patologias responsáveis pela administração desses fármacos.

Material e Métodos

Esse estudo é do tipo descritivo transversal sobre o perfil de utilização dos antimicrobianos em animais leiteiros. Foram visitadas de forma aleatória 84 propriedades rurais localizadas em 19 municípios da microrregião de Garanhuns, localizada na região Agreste do Estado de Pernambuco, no período de setembro a dezembro de 2012.

Em cada estabelecimento como instrumento de pesquisa foi realizada uma entrevista com os produtores e /ou vaqueiros das propriedades rurais, utilizando um questionário contendo uma lista dos princípios ativos de antimicrobianos utilizados na medicina veterinária e das patologias que frequentemente acometem o rebanho bovino leiteiro. Nos casos em que os entrevistados não sabiam identificar quais eram os princípios ativos utilizados, estes mencionaram o nome comercial do medicamento. Para cada medicamento citado, foi obtida informações do rótulo e da bula sobre os princípios ativos presente na fórmula. Todos os princípios ativos inclusos nas formulações dos medicamentos foram considerados na tabulação dos dados.

Os antimicrobianos mencionados foram agrupados em classes farmacológicas. A caracterização do perfil de uso destes fármacos e das patologias que acometeram o rebanho leiteiro foi calculada por estatística descritiva para análise de frequência absoluta e relativa das respostas obtidas pelo questionário aplicado.

Resultado e Discussão

Neste estudo, a administração de antimicrobianos no rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns esteve relacionada ao tratamento das seguintes patologias: anemia (40,6%), mastite (30,8%), intoxicação (11,3%), diarreia (8,3%), carrapatos (7,5%) e afecções podais (1,5%) (Tabela 1). Situação semelhante à observada neste trabalho ocorreu em Santa Catarina onde a mastite e anemia foram consideradas o principal motivo pela utilização destes fármacos na bovinocultura leiteira, correspondendo a 40,4 e 38,3%, respectivamente, do total do consumo de antimicrobianos (KORB et al., 2011).

Tabela 1. Patologias que acometeram o rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns-PE, durante o período de setembro a dezembro de 2012, e acarretaram uso de antimicrobianos nos animais.

Patologias do rebanho leiteiro	Citações	
	FA	FR
Anemia	54	40,6
Mastite	41	30,8
Intoxicação	15	11,3
Diarreia	11	8,3
Carrapatos	10	7,5
Afecções podais	2	1,5
Total	133	100,0

F.A.: Frequência Absoluta; F.R. (%):Frequência Relativa

A utilização de antimicrobianos para o tratamento de anemia e carrapatos provavelmente está relacionado ao tratamento da Tristeza Parasitária Bovina (TPB). Nessa microrregião, grande parte dos produtores associa essa sintomatologia clínica à presença dessa enfermidade e utilizam no tratamento fármacos pertencentes às tetraciclinas. A TPB compreende duas enfermidades a babesiose, causada pelos protozoários *Babesia bovis* e *B. bigemina*, e a anaplasmosose causada pela rickettsia *Anaplasma marginale* (ALMEIDA et al., 2006). A sintomatologia clínica dessa enfermidade se manifesta através de febre, anemia, hemoglobinúria, icterícia, inapetência, pêlos arrepiados e prostração (BRITO et al., 2007). O tratamento convencional é a administração de diaceturato de diminazeno para babesioses (VIAL; GORENFLOT, 2006) e oxitetraciclina de longa ação para anaplasmosose (FACURY-FILHO et al., 2012).

Dentre as doenças infecciosas que acometem o rebanho leiteiro a mastite que é considerada o principal motivo para utilização de antimicrobianos na bovinocultura (KORB et al., 2011) e está relacionada com o aumento no uso de tratamentos com antimicrobianos intramamários (GONZALO et al., 2010) e de resíduos desses fármacos no leite (RAIA et al., 1999).

Foram citados 18 princípios ativos de antimicrobianos (Tabela 2). Os princípios ativos mais utilizados foram o cloridrato de oxitetraciclina (24,8%), oxitetraciclina (21,8%), gentamicina (11,5%) e sulfadiazina (7,8%). No Brasil já houve detecção de resíduos de cloridrato de oxitetraciclina em leite em pó (ANVISA, 2005) e leite pasteurizado (FOLLY; MACHADO, 2001; ANVISA, 2005; SPISSO et al., 2010; VIEIRA et al., 2012). E resíduos de gentamicina em leite pasteurizado no Estado do Paraná (VIEIRA et. al., 2012).

Há diversas razões quem levam a preocupação com resíduos desses fármacos no leite. As principais estão relacionadas às consequências a saúde humana e a industrialização (PAIVA-BRITO; LANGE, 2005). O consumo desses produtos pelos humanos é extremamente delicado em algumas situações, como exemplo, no período gestacional o consumo de leite contendo resíduos de tetraciclinas torna as gestantes mais vulneráveis às alterações no desenvolvimento ósseo fetal (COSTA, 1996). No aspecto tecnológico, a presença de resíduos no leite pode ocasionar a inibição de bactérias responsáveis pela acidificação e coagulação do leite como o *Streptococcus cremoris* e

Lactobacillus bulgaricus, presentes nos fermentos lácticos, o que interfere na produção e qualidade de derivados lácteos (ALBUQUERQUE; MELO; MARTINS, 1996; TORNADIJO et. al., 1998).

Tabela 2. Princípios ativos dos antimicrobianos mais utilizados pelos produtores rurais no rebanho leiteiro da microrregião de Garanhuns, PE, 2012.

Princípios ativos	Citações	
	FA	FR
Cloridrato de oxitetraciclina	41	24,8
Oxitetraciclina	36	21,8
Gentamicina	19	11,5
Sulfadiazina	13	7,9
Benzilpenicilina procaína	11	6,7
Diidroestreptomicina	7	4,2
Trimetropim	8	4,8
Espiramicina	4	2,4
Estreptomicina	4	2,4
Neomicina	5	3,0
Benzilpenicilina benzatina	4	2,4
Benzilpenicilina potássica	4	2,4
Cefoperazone	3	1,8
Sulfametoxazol	2	1,2
Doxiciclina	1	0,6
Rifamicina	1	0,6
Eritromicina	1	0,6
Tilosina	1	0,6
Total	165	100,0

F.A.: Frequência Absoluta; F.R. (%):Frequência Relativa

Os fármacos pertencentes à classe farmacológica das tetraciclina apresentaram uma maior frequência de citações (Tabela 3), representado 47,3% (78/165) do total, seguidas dos aminoglicosídeos 21,2% (35/165), penicilinas 11,5% (19/165). Essas classes também são frequentemente utilizadas no rebanho bovino leiteiro do Estado do Paraná (PONTES-NETTO et al., 2005) e de Santa Catarina (KORB et al., 2011). Assim como são utilizados em outros países como Pensilvânia (SAWANT; SORDILLO; JAYARAO, 2005), França (MOULIN et. al., 2008), Suíça (GONZÁLEZ et al, 2010), Alemanha (MERLE et al., 2012) e Canadá (SAINI et al., 2012).

Tabela 3. Classes de antimicrobianos utilizadas pelos produtores rurais no rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, PE, 2012.

Classe dos antimicrobianos	Citações	
	FA	FR
Tetraciclina	78	47,3
Aminoglicosídeos	35	21,2
Penicilinas	19	11,5
Sulfas	15	9,1
Trimetopim	8	4,8
Macrolídeos	6	3,6
Cefalosporinas	3	1,8
Rifamicinas	1	0,6
Total	165	100,0

F.A.: Frequência Absoluta; F.R. (%):Frequência Relativa

Analisando a distribuição das classes farmacológicas por município observou-se que as tetraciclina foram citadas em 100% dos municípios (Tabela 4). Fármacos pertencem às tetraciclina são frequentemente empregados no tratamento de vacas lactantes e detectados no leite (KORB et al., 2011). A ampla utilização desses fármacos no rebanho bovino leiteiro brasileiro favorece a resistência bacteriana aos antimicrobianos em diferentes regiões do país. Em Santa Catarina, uma pesquisa revelou que de 39 amostras de leite suspeitas de mastite que apresentaram crescimento de *Staphylococcus aureus*, 30,7% foram resistentes à tetraciclina (ZANETTE; SCAPIN; ROSSI, 2010).

No Agreste pernambucano, as tetraciclina, gentamicinas e penicilinas vêm apresentando resistência bacteriana aos antimicrobianos a cepas de estafilococos coagulase positivo e *Staphylococcus aureus* isoladas de amostras de leite de vacas com mastite (FREITAS et al., 2005; SILVA et al., 2012). No caso das penicilinas, um estudo indicou que os animais acometidos por mastite cronicamente infectados são reservatórios de *S. aureus* penicilinas resistente e disseminam essas cepas resistentes para outros animais, o que indica um risco potencial à saúde de consumidores, uma vez que o leite e derivados podem veicular resíduos de antimicrobianos e/ou cepas de *S. aureus* resistentes (SILVA et al., 2012). No presente estudo observou-se que em 47,3% (9/19) dos municípios da microrregião de Garanhuns houve utilização de fármacos pertencentes às penicilinas na bovinocultura leiteira. Resíduos desses fármacos já foram detectados em leite cru dessa região (MATTOS et al., 2010). Essas informações sugere afirmar que há uma maior probabilidade das bactérias que acometem os bovinos leiteiros desenvolverem resistência bacteriana aos antimicrobianos pertencentes à classe das penicilinas em 47,3% dos municípios da microrregião de Garanhuns, Pernambuco.

Tabela 4. Distribuição da classe dos antimicrobianos utilizados no rebanho leiteiro, por município da microrregião de Garanhuns-PE, durante o período de setembro a dezembro de 2012.

Municípios	Classe dos antimicrobianos utilizados no rebanho leiteiro						
	Aminoglicosídeos	Cefalosporina	Macrolídeos	Penicilinas	Rifamicina	Sulfas	Tetraciclina
Angelim						X	X
Bom Conselho	X	X	X	X			X
Brejão	X	X		X	X		X
Caetés							X
Calçados	X		X			X	X
Canhotinho	X					X	X
Correntes	X					X	X
Garanhuns	X		X			X	X
Iati	X					X	X
Jucati	X			X			X
Jupi	X			X		X	X
Jurema	X					X	X
Lagoa do Ouro							X
Lajedo				X			X
Palmerina							X
Paranatama				X			X
Saloá	X		X	X		X	X
São João	X		X	X			X
Terezinha	X	X		X			X

Os aminoglicosídeos foram administrados no rebanho bovino leiteiro em 68,4% dos municípios. Dentre esses municípios, já houve registro de resistência à gentamicina, que é um dos fármacos pertencente a esta classe, a cepas de estafilococos coagulase positivo isoladas de amostras de leite de vacas com mastite no município de Correntes (FREITAS et al., 2005) e a *S. aureus* no município de Garanhuns (SILVA et al., 2012)

Conforme apresentado na tabela 4, observamos que houve diferença em 47,3% (9/19) dos municípios na utilização das classes de antimicrobianos no rebanho bovino leiteiro. Esse fato pode estar relacionada aos fatores como mudanças na densidade populacional animal por propriedade, situação epidemiológica das enfermidades, a aparência ou o desaparecimento dos produtos no mercado, o custo dos produtos, ações para o uso prudente de antimicrobianos (MOULIN et al., 2008).

Conclusão

A distribuição dos antimicrobianos utilizados no rebanho bovino leiteiro diferiu em alguns municípios da microrregião de Garanhuns, Pernambuco, no entanto houve predominância na utilização de fármacos pertencentes às tetraciclinas, amiglicosídeos e penicilinas. O que possibilita afirmar que fármacos pertencentes a estas classes são frequentemente utilizados no tratamento e/ou prevenção de enfermidades infecto-contagiosas que acometem o rebanho bovino leiteiro em diferentes regiões geográficas.

Agradecimentos

Aos proprietários e vaqueiros das propriedades rurais que gentilmente responderam o questionário.

Referências

AARESTRUP, F.M. Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, Copenhagen, v. 96, p. 271-281, 2005.

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

ALMEIDA, M. B.; TORTELLI, F.P.; RIET-CORREA, B., FERREIRA, J. L. M.; SOARES, M. P.; FARIAS, N. A. R.; RIET-CORREAS, F.. SCHIL, A. L.. Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 26, n.4, p.237-242, out./dez. 2006

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal - PAMVet - Relatório 2002/2003 - *Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo (1º e 2º anos de atividades)*. ANVISA, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 31 dez. 2011, p. 6, Seção 1.

BRITO, L. G.; OLIVEIRA, M. C. S.; NETTO, F. G. S.; CAVALCANTE, F. A. Estratégias de prevenção e controle da tristeza parasitária bovina (TPB) a partir da avaliação molecular da infecção em rebanhos criados em diferentes regiões fisiográficas dos estados de Rondônia e Acre. *Circula técnico [da] Embrapa Rondônia: Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia*, Rondônia, n. 329, 2007. 6 p.

BRITO, M. A. V. P. Resíduos de antimicrobianos no leite. *Circula técnico [da] Embrapa Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite*, Minas Gerais, n. 60, 2000. 20 p.

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

COSTA, F.M.; NETTO, A.D.P. Desenvolvimento e aplicação de métodos para a determinação de ivermectina em medicamentos de uso veterinário. *Química Nova*, São Paulo, v. 35, n.3, p. 616-622, 2012.

FACURY-FILHO, E.J.; CARVALHO, A.U.; FERREIRA, P.M.; MOURA, M; F; APOLINÁRIO, B. C.; SANTOS, L.P.H.; RIBEIRO, M.F. Effectiveness of enrofloxacin for the treatment of experimentally induced bovine anaplasmosis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v.21, n.1, p.32-36, 2012.

FOLLY, M. M.; MACHADO, S. C.A. Determinação de resíduos de antibióticos, utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imunoenaios no leite pasteurizado comercializado na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.1, p.95-98, 2001.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO-JÚNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M. ; RABELO, S. S. A ; SILVA, D. R.; SILVEIRA-FILHO, V. M.; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in

vitro de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v.72, n.2, p.171-177, abr./jun., 2005.

GONZÁLEZ, S. M.; AGUILERA-LUIZ, M. M.; PLAZA-BOLANOS, P.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M. Antimicrobial use in Swiss dairy farms: Quantification and evaluation of data quality. *Preventive Veterinary Medicine*, Amsterdam, Holanda, v. 95, p. 50-63, 2010.

GONZALO, C.; CARRIEDO, J. A.; GARCÍA-JIMENO, M. C.; PÉREZ-BILBAO, M.; FUENTE, L. F. Factors influencing variation of bulk milk antibiotic residue occurrence, somatic cell count, and total bacterial count in dairy sheep flocks. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 93, p.1587-1595, 2010.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, E. H. *Princípios da Utilização Prudente e Racional de Antimicrobianos em Animais*. In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L.B.; KRUSE, H. Guia de Antimicrobianos em Veterinária. Rio Grande do Sul: Artmed, 2010. 268p.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from food animals: a review. *Food Research International*, Barking, v. 45, p. 819-830, 2012.

IBGE. *Banco de Dados Agregados*. Sistema IBGE de recuperação automática. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/default.shtm>>. Acesso em: 18 abr. 2012.

KHANIKI, J. Chemical Contaminants in Milk and Public Health Concerns: A Review. *International Journal of Dairy Science*, Estados Unidos, v. 2, p. 104-115, 2007.

KORB, A.; BRAMBILLA, D. K.; TEIXEIRA, D.C.; RODRIGUES, R. M. Riscos para a saúde humana do uso de antibióticos na cadeia produtiva leiteira. *Revista Saúde Pública*, Florianópolis, v. 4, n. 1, p. 21-36, jul./dez. 2011.

MARTIN, J. G. P. Resíduos de antimicrobianos em leite – uma revisão. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, v. 18, n. 2, p. 80-87, 2011.

MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; MAGNANI, D. F.; NERO, L. A.; BARROS, M.; PIRES, E. M. F.; PAQUEREAU, B. P. D. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 1, p. 173-182, jan./mar. 2010.

MERLE, R.; HAJEK, P.; KÄSBOHRER, A.; HEGGER-GRAVENHORST, C.; MOLLENHAUER, Y.; ROBANUS, M.; UNGEMACHA, F-R.; KREIENBROCK, L. Monitoring of antibiotic consumption in livestock: A German feasibility study. *Preventive Veterinary Medicine*, Amsterdam, Holanda, v. 104, p. 34-43, 2012.

MILLER, G. Y; MCNAMARA, P. E.; SINGER, R. S. Stakeholder position paper: Economist's perspectives on antibiotic use in animals. *Preventive Veterinary Medicine*, Amsterdam, v.73, n. 2/3, p. 162-168, feb., 2006.

MONTEIRO, A. A.; TAMANINI, R.; SILVA, L. C.C.; MATTOS, M. R.; MAGNANI, D. F.; D'OIDIO, L.; NETO, L. A.; BARROS, M. A. F.; PIRES, E. M. F.; PAQUEREAU, B. P. D.; BELOTU, V. Características da produção leiteira da região do agreste do estado de Pernambuco, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 28, n. 4, p. 665-674, out.-dez. 2007.

MOULIN, G.; CAVALIE, P. PELLANNE, I.; CHEVANCE, A.; LAVAL, A.; MILLEMANN, Y; COLIN, P.; CHAUVIN, C. A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, London, Grã Betânia, v. 62, p. 617-625, 2008.

PAIVA-BRITO; M. A. V.; LANGE, C. C. Resíduos de antibióticos no leite. *Comunicado técnico* [da] Embrapa Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, Minas Gerais, n. 44, dez., 2005.

- PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLDI, F.P.S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. *Química Nova*, São Paulo, v. 31, n. 5, p.1190-1198, 2008.
- PICININ, L. C. A.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; VARGAS, P. A.; LANA, A. M. Q.; TOALDO, I .M.; BORDIGNON-LUIZ , M. T. Influence of climate conditions on aflatoxin M1 contamination in raw milk from Minas Gerais State, Brazil. *Food Control*, Guildford, Inglaterra, v. 31, p. 419-424, 2013.
- PONTES-NETTO, D. P.; LOPES, M. O.; OLIVEIRA, M. C. S.; NUNES, M. P.; MACHINSKI-JUNIOR, M.; BOSQUIROLI, S. L.; BENATTO, A.; BENINI, A.; BOMBARDELLI, A. L. C.; VEDOVELHO-FILHO, D.; MACHADO, E.; BELMONTE, I. L.; ALBERTON, M.; PEDROSO, P. P.; SCUCATO, E. S. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. Maringá, v. 27, n. 1, p. 145-151, jan./mar., 2005.
- PRADO, C. K.; MACHINSKI-JUNIOR, M. Metodologia analítica para determinação de resíduos de tetraciclina em leite: uma revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 448-456, 2011.
- RAIA, R. B., COSTA, E. O., GARINO JÚNIOR, F., WATANABE, E. T.; THIERS, F. O.; GROFF, M. R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. *Rev. Revista do Núcleo de Pesquisa em Glândula Mamária e Qualidade do Leite*, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 4-8, 1999.
- RIBEIRO, M. G. *Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia*. In: Andrade S.F. (Ed.), Manual de Terapêutica Veterinária. 3ª ed. Roca, São Paulo. 936 p., 2008.
- SAINI, V.; MCCLURE, J. T.; LÉGER, D.; DUFOUR, S.; SHELDON, A. G.; SCHOLL, D. T.; BAKEMA, H. W. Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, Champaign, Estados Unidos, v. 95, n. 3 , p.1209-1221, mar., 2012.
- SAWANT, A.A., SORDILLO, L.M., JAYARAO, B.M. A survey on antibiotic usage in dairy herds in Pennsylvania. *Journal of Dairy Science* , Champaign, Estados Unidos, v. 88, n. 8, p. 2991-2999, Aug., 2005.
- SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Journal of veterinary research*, Indore, India,, v. 32, p. 201-225, 2001.
- SILVA, E.R.; PEREIRA, A.M.G. MORAES, W.S.; SANTORO, K.R.; SILVA, T.R.M. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus aureus* isolado de mastite subclínica bovina *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v.13, n.3, p.701-711 jul./set., 2012.
- SILVA, R.M.; SILVA, R.C.; RIBEIRO, A.B. Resíduos de Antibióticos em Leite. *SaBios: Revista da Saúde e Biologia*, Campo Mourão, Paraná, v.7, n.1, p.30-44, jan./abr., 2012.
- SOUSA, F. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C.; SILVA, E. F. M. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leites Pasteurizados comercializados no estado do Ceará, Brasil. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Mossoró, v.5, n.4, p. 10-14, out./dez., 2010.
- SOUSA, M. R. P.; RISTOW, A. M.; NOGUEIRA, E. B.; TORRES-FILHO, R.; CORTEZ, M. A. S. Caracterização de pequenas unidades produtoras de leite na região Centro e Noroeste do estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, Niterói, Rio de Janeiro, v. 18, n. 2/3, p. 79-84, maio/dez. 2011
- SPISSO, B. F.; MONTEIRO, M. A.; PEREIRA, M. U.; FERREIRA, R. G.; COSTA, R. P.; CRUZ, T. A.; NOBREGA, A. W. Pilot survey of commercial pasteurized milk consumed in the metropolitan area of Rio de Janeiro, Brazil, for tetracyclines residues, including the 4-epimers of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline, *Food Additives and Contaminants: Part B: Surveillance*, London, Grã Betânia, v. 3, n. 4, p. 220-227, 2010.

TORNADIJO, M.E.; MARA, A. I.; GARCIA-FORTAN, M.C.; CARBALHO, J. La calidad de la leche destinada a la fabricación de queso: calidade química. *Ciencia e Tecnología Alimentaria*, Galicia, v.2, n.2, p.79-91, 1998.

VALENTE, L. C. M.; SOUZA, E. C.; VALE, S. M. L. R.; BRAGA, M. J. Relação entre gastos preventivos e com tratamento: levantamento da situação em fazendas produtoras de leite de Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.41, n.1, p. 212-220, 2012.

VIAL, H.J.; GORENFLOT, A. Chemotherapy against babesiosis. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.138, n.1/2, P.147-160, 2006.

VIEIRA, T. S. W. J.; RIBEIRO, M. R. R; MACHINKI-JUNIOR, M.; PONTES-NETTO, D. Detecção de resíduos de antibióticos em amostras de leite pasteurizado do Estado do Paraná, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 2, p. 791-796, abr., 2012

ZANETTE, E.; SCAPIN, D.; ROSSI, E. M. Suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de bovinos com suspeita de mastite. *Unoesc & Ciência – ACBS*, Joaçaba, v. 1, n. 1, p. 65-70, jan./jun., 2010

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de substâncias químicas capazes de interferir na renda per capita dos produtores e na saúde da população preocupa diferentes setores da sociedade, como por exemplos resíduos de fármacos veterinários com atividade antimicrobiana. Um dos alicerces do agronegócio do agreste pernambucano é a produção de leite nos diferentes municípios da microrregião de Garanhuns.

O perfil de uso de fármacos antimicrobianos no rebanho leiteiro dessa microrregião revelou que houve predominância na utilização de tetraciclínas, amiglicosídeos e penicilinas. O que possibilita afirmar que fármacos pertencentes a estas classes são frequentemente utilizados no tratamento e/ou prevenção de enfermidades infecto-contagiosas que acometem o rebanho bovino leiteiro em diferentes regiões geográficas do Estado de Pernambuco. Dentre as doenças que acometem o rebanho bovino leiteiro dessa região e requerem a administração de antimicrobianos no tratamento está a mastite. Tal enfermidade pode ser transmitida de um animal para outro, devido falhas no manejo durante a ordenha mecânica. Neste estudo houve associação significativa entre o tipo de técnica de ordenha mecânica com a presença de resíduos de antimicrobianos na microrregião de Garanhuns.

Resíduos de antimicrobianos foram detectados em mais de 50% (12/19) dos municípios, nestes municípios, os fármacos mais utilizados no rebanho leiteiro pertencem às classes das tetraciclínas e penicilinas. O diagnóstico desse cenário evidenciou alguns dos riscos sanitários e econômicos associados ao uso destes fármacos no rebanho bovino leiteiro da região e permitiu identificar as possíveis tendências de resistência bacterianas relacionadas à transmissão dessa resistência do animal para o homem por alimentos de origem animal, como o leite. E serve, de alerta para o estabelecimento e/ou reformulação de políticas públicas na área de saúde humana e animal visando o controle desses resíduos no leite e a elaboração de pesquisas relacionada à eficácia antimicrobiana na medicina humana e veterinária.

7. APENDICE A. Questionário sobre produção leiteira e uso de antimicrobiano.

01-Identificação:

Município: _____ Região: _____ UF: ____
 Proprietário: _____ Apelido: _____
 Propriedade: _____
 Código de cadastro no serviço de defesa: _____
 Coordenada geográfica: _____

Número da amostra:

Data da visita:

____/____/____

02- Caracterização da propriedade

- 1 -Tipo da Exploração: () corte () leite () mista
 2- Tipo de Criação: () intensivo () semi-intensivo () extensivo
 3- Nº de ordenhas por dia: () 1 ordenha () 2 ou 3 ordenhas
 4- Tipo de Ordenha: () manual () mecânica ao pé () mecânica em sala de ordenha
 5- Raça predominante - Bovinos: () zebu () europeu de leite () europeu de corte () mestiço () outras raças
 6- Bovinos existentes
- | Machos Castrados | Machos inteiros (meses) | | | | Fêmeas (meses) | | | | |
|------------------|-------------------------|-----|------|-------|----------------|-----|------|-------|------|
| | Total | 0-6 | 6-12 | 12-24 | > 24 | 0-6 | 6-12 | 12-24 | > 24 |
| | | | | | | | | | |

7- Produção de leite:

- a) Nº de vacas em lactação: _____
 b) Produção diária de leite na fazenda: _____ litros
 8 Assistência Veterinária () sim () não
 9 - Frequência da assistência () semanal () quinzenal () mensal () trimestral () semestral
 10 -Tipo de instalações () chão batido () ripado () cimentado () pedras
 11- É realizada limpeza das instalações? () sim () não
 12- Frequência da limpeza das instalações: () Diariamente () 1 vez por semana () 2-3 vezes na semana () ≥ 4 vezes na semana

03 Caracterização da uso de medicamento veterinário

- 1-Utiliza antibiótico no rebanho leiteiro? () sim () não
 2- Quem recomendou o uso do medicamento?
 () conta própria () Tratador () Veterinário () lojista
 3- Qual o critério para utilizar antibiótico?
 () Apresenta algum quadro clínico () Entrada e saída das águas.
 () Entrada e saídas das águas e na seca () Secagem das vacas
 () Somente na seca () Não utiliza () Outro _____
 4- Para o tratamento de quais doenças o(a) senhor(a) utiliza antibiótico?
 () mastite () Anemia () carbúnculo () intoxicações () diarreia () Carrapatos () Outra (s) _____
 5- Qual(is) o(s) princípio(s) ativo utilizado(s)?
- | | | | | |
|-----------------|--------------------|----------------------|------------------|------------------|
| Cefazolina () | Neomicina () | Tetraciclina () | Eritromicina () | Sulfadiazina () |
| Cefalexina () | Gentamicina () | Oxitetraclina () | Tilosina () | |
| Cefiquinona () | Sulfato de | Clortetraciclina () | | Outro: _____ |
| Oxacilina () | estreptomicina () | | | |
- Dicloxacilina sódica ()
 Cloxacilina ()
 6- Quantas vezes esse (s) fármaco(s) é (são) administrado(s), por animal?
 () 1 () 2-3 () 4-5 () >5
 7- Separa o animal que está em tratamento? () sim () não
 8- Descarta o leite do animal em tratamento? () sim () não
 9- Descarta o leite de todos os quartos () sim () não
 10- Descarta o leite apenas do quarto afetado () sim () não
 11- Qual o tempo de descarte? () 1 dia () 2 dias () 3 dias () > 4 dias () outro _____
 12- Qual o destino do leite produzido durante o tratamento com antibióticos?
 () produz queijo, coalhada etc... () fornece a um laticínio
 () fornece a outros animais () joga fora

8. APENDICE B. Termo de autorização de dados.**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS****TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DADOS**

Eu _____, CPF _____, proprietário da _____, após o conhecimento e entendimento dos objetivos, procedimentos metodológicos, riscos e benefícios da pesquisa, bem como de estar ciente da necessidade do uso dos dados fornecidos por mim, **AUTORIZO**, através do presente termo, os pesquisadores: **Elâne Rafaella Cordeiro Nunes, Keila Aparecida Moreira** do projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação da prevalência de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* procedente do rebanho bovino leiteiro da microrregião de Garanhuns, Pernambuco**” desenvolvido pela Unidade Acadêmica de Garanhuns da UFRPE a obter minhas informações sem quaisquer ônus financeiros a nenhuma das partes.

Ao mesmo tempo, libero a utilização de dados obtidos para fins científicos e de estudos, em favor dos pesquisadores, acima especificados.

_____, ___ de _____ de 20__.

Local e Data

Pesquisador responsável pelo projeto

Proprietário Responsável

9. ANEXO A. Normas do periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Política Editorial

O periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science), ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins. Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores).

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

Reprodução de artigos publicados

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

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>. Não serão fornecidas separatas.

Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços www.scielo.br/abmvz ou www.abmvz.org.br.

Orientação para tramitação de artigos

Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação online do ABMVZ no endereço www.abmvz.org.br.

Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.

Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.

A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.

Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.

Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.

É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.

O ABMVZ comunicará via eletrônica a cada autor, a sua participação no artigo. Caso, pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será recusado.

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo científico

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

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

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

O número de Referências não deve exceder a 30.

Preparação dos textos para publicação

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

Formatação do texto

O texto deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas, com linhas numeradas.

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

Seções de um artigo

Título: Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.

Autores e Filiação: Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

Nota: o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação; o texto do artigo em pdf não deve conter o nome dos autores e filiação.

Resumo e Abstract: Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords: No máximo cinco.

Introdução: Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.

Material e Métodos: Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Não usar subtítulos. Nos trabalhos que envolvam animais e organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança, quando for o caso.

Resultados: Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

Tabela: Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas. Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (menor tamanho aceito é 8).

Figura: Qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo

arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. As fotografias e desenhos com alta qualidade em formato jpg, devem ser também enviadas, em um arquivo zipado, no campo próprio de submissão.

Nota: Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências; As tabelas e figuras devem preferencialmente, ser inseridas no texto no parágrafo seguinte à sua primeira citação.

Discussão: Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes).

Conclusões: As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada.

Agradecimentos: Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

Referências: As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética. Evitar referenciar livros e teses. Dar preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. São adotadas as normas ABNT/NBR-6023 de 2002, adaptadas conforme exemplos:

- Como referenciar:

1. Citações no texto

Citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT/NBR 10520 de 2002. A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)

dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)

mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)

mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

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

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

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

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88. FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

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

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

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

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

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

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

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

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

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critical6.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

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

10. ANEXO B. Normas do periódico Semina: Ciências Agrárias

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.

Os artigos poderão ser submetidos em português e após o aceite serem traduzidos para o inglês.

Os artigos em inglês terão prioridade de publicação.

Os artigos em inglês deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução; correção de um dos seguintes tradutores

American Journal Experts.

Editage

Elsevier

O autor principal deverá anexar no sistema documento comprobatório dessa correção.

Categorias dos Trabalhos

a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;

b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol, no editor de texto Word for Windows, com espaçamento 1,5, em papel A4, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho.

As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos

e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor. Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. *Título do trabalho*, acompanhado de sua tradução para o inglês.
2. *Resumo e Palavras-chave*: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. *Introdução*: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.
4. *Material e Métodos*: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
5. *Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões*: De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.
6. *Agradecimentos*: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado de acordo com as normas técnicas de biosegurança e ética.

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).

7. *Citações dos autores no texto:* Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmam que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et. al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com três autores

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula.

Ex: (RUSSO; FELIX; SOUZA, 2000).

Incluídos na sentença, utilizar vírgula para os dois primeiros autores e (e) para separar o segundo do terceiro.

Ex: Russo, Felix e Souza (2000), apresentam estudo sobre o tema....

Citações com mais de três autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Observação: Todos os autores devem ser citados nas Referências Bibliográficas.

8. *Referências Bibliográficas:* As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes (única exceção à norma – item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porem, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologia completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a seqüência – introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, achados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônômico, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os colaboradores poderão ser convidados a apresentar artigos de interesse da revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema. O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

- 1.A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
- 2.Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
- 3.Os trabalhos não aprovados para publicação serão devolvidos ao autor.
- 4.Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
- 5.As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.