

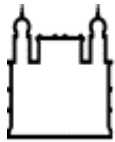
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE JOAQUIM VENÂNCIO
CURSO TÉCNICO EM BIOTECNOLOGIA INTEGRADO AO ENSINO MÉDIO

Giovanna Lemos Alevato Cesareo

DA FONTE À MESA: A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE E DETECÇÃO DE RESÍDUOS
DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE BOVINO

Rio de Janeiro

2021



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Giovanna Lemos Alevato Cesareo

**DA FONTE À MESA: A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE E DETECÇÃO DE RESÍDUOS
DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE BOVINO**

Monografia apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Biotecnologia.

Orientador (a): Virginia de Lourdes Mendes Finete.

Rio de Janeiro

2021

Dedico esse trabalho à toda comunidade científica e aos consumidores de leite bovino.

AGRADECIMENTOS

Neste momento tão alegre, agradeço primeiramente a Deus pela minha vida e especialmente por esta conquista. Sou grata demais pelas bênçãos em minha vida, por toda motivação, foco, sabedoria e resiliência que me deu para que eu pudesse chegar até aqui.

Agradeço especialmente à minha orientadora, professora Dra. Virginia de Lourdes Mendes Finete pelo apoio, parceria, cuidado e pela generosidade. Obrigada minha querida orientadora, por todo acolhimento e por me receber de braços abertos para o desenvolvimento desse trabalho!

Agradeço a banca avaliadora, composta pelas professoras MSc. Mônica Murito e Dra. Izabel Crespo, pela disponibilidade e pela contribuição com este trabalho.

Agradeço à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), em especial à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (EPSJV) que aprendi a respeitar e admirar. Sendo parte da minha história e formação profissional em saúde, da qual eu me orgulho imensamente. Os ensinamentos e momentos que vivi ficarão guardados para sempre na minha memória e no meu coração!

Agradeço também à todo corpo docente e todos os funcionários da EPSJV por terem contribuído para nossa formação.

Agradeço imensamente aos meus pais, Simone Cesareo e Marcos Cesareo por sempre me ensinarem a dar valor a educação de qualidade que me foi dada com esforço e dedicação. Também pelo apoio, carinho, paciência e conselhos no período em que esse trabalho foi escrito e sempre. Sou grata demais por ter vocês em minha vida!

Agradeço ao meu namorado Rafael Albuquerque por sempre me incentivar e também pelo apoio em todos os desafios dessa caminhada, pelo carinho, paciência e dedicação. Foram momentos muito importantes para mim que me ajudaram, sem dúvidas, a concluir essa caminhada com mais fé e determinação.

Agradeço à minha amiga Kailany Victória por todo apoio, cuidado, risadas e pelas conversas motivadoras que me ajudaram em todo o processo produtivo desse trabalho.

Agradeço à minha prima Rafaela Lemos por todas as dicas, apoio e conversas sobre essa caminhada da monografia.

Agradeço imensamente a todos e sou muito grata à Deus por ter tido a oportunidade de conhecê-los e aprender muito com cada um que fez parte dessa realização.

*“Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime,
pois o Senhor, o seu Deus, estará com você
por onde você andar.”*

(Josué 1:9).

RESUMO

O controle de resíduos de medicamentos veterinários no leite bovino tem por função preservar a segurança e inocuidade do produto que será comercializado e consumido pela população. Para garantir os parâmetros nutricionais e a ausência desses resíduos no leite, são essenciais a implementação do controle de qualidade e a fiscalização dos produtos de origem animal, conforme a legislação determinada por órgãos regulatórios, como o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A presença de resíduos de medicamentos, principalmente os antibióticos, no leite bovino, pode acarretar uma série de riscos ao meio ambiente, à indústria de laticínios e à saúde humana, como reações alérgicas, resistência antimicrobiana futura, potencial carcinogênico e teratogênico, entre outros. Neste contexto, a medicina veterinária e os órgãos de fiscalização vigentes assumem um importante papel na busca de uma conscientização e fiscalização adequadas, baseadas em estratégias sanitárias preventivas e na utilização racional e correta das terapias em animais produtores de alimentos, para garantir a saúde e o bem-estar da população consumidora. Este trabalho tem como objetivo avaliar a importância do controle e detecção de resíduos de antibióticos veterinários na cadeia produtiva do leite bovino, para a segurança e a saúde humana, com base na abordagem qualitativa, utilizando como estratégias de pesquisa a revisão da literatura científica em bases de dados como Lilacs, Google Scholar e SciELO, no período compreendido entre os anos de 2000 e 2021. Com base na literatura consultada, constatou-se que a problemática do leite bovino e o uso indiscriminado da antibioticoterapia, bem como a desinformação de produtores a respeito das condições ideais para garantir a inocuidade do leite, têm por característica a geração de resíduos de antibióticos no leite, sendo estes medicamentos prejudiciais ao meio ambiente, às indústrias de derivados e à saúde humana. Por isso, é importante fiscalizar os parâmetros de qualidade de uma matriz tão nutritiva e consumida mundialmente. E que o rigor na fiscalização e nos parâmetros necessários para um leite de qualidade sejam bem estabelecidos e aplicados, a fim de diminuir estes efeitos prejudiciais dos resíduos de antimicrobianos no leite bovino.

Palavras-chave: Leite bovino, Controle de resíduos e resíduos antimicrobianos.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Principais etapas da cadeia produtiva do leite. | 8 |
| Figura 2: Principais aspectos do controle de qualidade do leite bovino..... | 12 |
| Figura 3: Esquema representativo da administração indevida dos antibióticos comparada a administração segura dos antibióticos respeitando o período de carência. Fonte: Criado em Biorender.com. | 18 |
| Figura 4: Estrutura química do anel β -lactâmico. | 21 |
| Figura 5: Estrutura química dos antibióticos penicilina e cefalosporina..... | 21 |
| Figura 6: Pontos de amostragem para detecção de antimicrobianos no leite bovino..... | 26 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Comparativo dos parâmetros físico-químicos que devem ser atendidos pelo leite cru refrigerado x Leite pasteurizado e Leite tipo A..... | 7 |
| Tabela 2 - Principal composição do leite bovino. | 8 |
| Tabela 3 – Principais classes de antibióticos utilizadas no tratamento veterinário. | 17 |
| Tabela 4– Limite Máximo de Resíduos no leite bovino estabelecidos pela ANVISA (PAMVet) e MAPA (PNCRC). | 20 |
| Tabela 5 – Duração mínima de eliminação de antimicrobianos no leite pela via de administração intramamária. | 22 |
| Tabela 6 – Alguns métodos de análise utilizados como triagem na detecção de resíduos de antimicrobianos do leite bovino. | 24 |
| Tabela 7- Técnicas cromatográficas utilizadas para confirmar a presença de resíduos de antimicrobianos no leite bovino. | 25 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF – Boas Práticas de Fabricação

CAP – Cloranfenicol

DIPOA – Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPSJV – Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio

FAO – *Food and Agriculture Organization*/Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IN – Instrução Normativa

LMR – Limite Máximo de Resíduos

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MERCOSUL – Mercado Comum do Sul

PAMVet – Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal

PCRL – Programa de Controle de Resíduos em Leite

pH – Potencial Hidrogeniônico

PNCRC – Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes

RBQL – Rede Brasileira de Qualidade do Leite

SIF – Serviço de Inspeção Federal

UHT – *Ultra High Temperature*/Temperatura Ultra Alta

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. OBJETIVOS..... | 4 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL..... | 4 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 4 |
| 3. METODOLOGIA..... | 5 |
| 4. A CADEIA PRODUTIVA DO LEITE E SUA IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE DA POPULAÇÃO | 6 |
| 4.1 O LEITE BOVINO..... | 6 |
| 4.2 A CADEIA PRODUTIVA DO LEITE | 8 |
| 5. A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE BOVINO | 11 |
| 5.1 A IMPORTÂNCIA DA PRODUÇÃO DE UM LEITE DE QUALIDADE PARA A POPULAÇÃO CONSUMIDORA | 11 |
| 5.2 O CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE: DO PRODUTOR AS PRATELEIRAS | 12 |
| 5.3 O CONTROLE DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS E SUA QUANTIFICAÇÃO | 14 |
| 5.3.1 O monitoramento de resíduos de medicamentos veterinários no Brasil | 15 |
| 6. CONTROLE E DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE BOVINO..... | 17 |
| 6.1 OS ANTIBIÓTICOS E SEUS RESÍDUOS | 17 |
| 6.1.1 O uso de antibióticos veterinários e impactos à saúde | 19 |
| 6.2 OS RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS B- LACTÂMICOS | 21 |
| 6.3 O CONTROLE DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS E SUA QUANTIFICAÇÃO | 22 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 28 |
| REFERÊNCIAS | 29 |

1. INTRODUÇÃO

A presença de resíduos de substâncias químicas contaminantes em alimentos de origem animal tem sido uma das maiores preocupações da segurança alimentar, e pode prover sérios riscos à saúde humana. O controle de qualidade desses alimentos visa a detecção de componentes contaminantes, adulterantes e de resíduos de medicamentos veterinários; além de avaliar seus principais nutrientes (MARTIN, 2011; PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

O leite bovino é um alimento de origem animal com alto valor nutricional, sendo considerado um dos alimentos *in natura* mais substanciosos. Entende-se por leite, um fluido derivado da síntese de nutrientes que ocorre na glândula mamária com base na alimentação e metabolização do animal. Sua composição química engloba substâncias como: gorduras, vitaminas lipossolúveis, proteínas presentes no soro do leite, sais minerais, água, a lactose (açúcar do leite) e a caseína, que consiste na principal proteína do leite (SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012; WATTIAUX, 2015).

Para além da importância nutricional, o leite também tem um papel fundamental na economia mundial. De acordo com o Anuário do Leite gerado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) no ano de 2019, a produção mundial de leite no ano de 2017 foi de $8,2 \cdot 10^{11}$ L, significando um ano de aumento da produção mundial de leite para consumo e exportação. Nesta mesma pesquisa, O Brasil foi ranqueado como o 3º maior produtor mundial de leite bovino, produzindo $6,5 \cdot 10^{10}$ L¹ nos anos de 2016 e 2017.

Em virtude de sua importância econômica e nutricional, o leite bovino passa por um rigoroso controle de qualidade para verificação de características físico-químicas, sensoriais e de resíduos de pesticidas e drogas veterinárias (SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012).

No Brasil, a Instrução Normativa (IN) do MAPA, SDA N°42, de 20 de dezembro de 1999, cita a definição do programa de normas internacionais *Codex Alimentarius* (FAO/WHO) para resíduos de drogas veterinárias: “resíduo de droga veterinária é fração da droga, seus metabólitos, produtos de conversão ou reação e impurezas que permanecem no alimento originário de animais tratados”.

A utilização indiscriminada ou inadequada de drogas veterinárias em gados no rebanho tem gerado sérias consequências aos produtos de origem animal. Os medicamentos mais utilizados como forma de tratamento ou profilaxia de doenças nos rebanhos são os antiparasitários e os antibióticos. Essas drogas são eliminadas pelo animal na etapa conhecida

¹ Para a conversão de unidades de medida, toneladas para litros, utilizou-se o valor da densidade média do leite, igual a 1,03g mL⁻¹.

como período de carência, onde o organismo do animal metaboliza o fármaco e elimina o resíduo que seja de preocupação toxicológica; esse período varia de acordo com a via de administração da droga e a dose aplicada (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014; PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

Tendo em vista a problemática de concentrações não seguras de resíduos de medicamentos veterinários, foi especificado o Limite Máximo de Resíduos (LMR). Esse limite estabelece uma concentração máxima de resíduos de medicamentos veterinários recomendados para ser aceitável legalmente em um alimento de origem animal, provendo limite à exposição e protegendo a saúde do consumidor (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

A exposição a concentrações acima das permitidas pode causar sérios riscos à saúde humana, como: reações alérgicas, câncer ou promover uma resistência antimicrobiana futura. Os antibióticos são os principais medicamentos que contribuem para geração de resíduos. Dentre esses estão os β -lactâmicos, como as penicilinas; as tetraciclinas, os macrolídeos, os anfenícois, como o cloranfenicol, entre outros (MARTIN, 2011; PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

O cloranfenicol (CAP) é um exemplo de antibiótico de amplo espectro que é de uso proibido em alguns países, incluindo o Brasil. Essa proibição deve-se ao seu potencial carcinogênico ainda que seja encontrado em baixos níveis de concentração. Tendo em vista que os resíduos possam ser prejudiciais à saúde do consumidor, é importante a realização da quantificação de todas as classes de antibióticos de acordo com suas particularidades e seus LMRs estabelecidos (REGO *et. al*, 2017).

Para quantificar essas substâncias de acordo com os parâmetros estabelecidos e atender a baixas concentrações de resíduos em matrizes complexas, os órgãos de fiscalização contam com técnicas analíticas sensíveis, seletivas e robustas. Esses métodos são divididos em: métodos físico-químicos e biológicos de triagem, e métodos cromatográficos confirmatórios e multirresíduos (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

Os métodos de triagem consistem na verificação da presença de resíduos relativos a drogas veterinárias em várias matrizes, sendo baseadas em técnicas imunobiológicas e microbiológicas feitas através de kits comerciais. Estas técnicas têm sido amplamente utilizadas pela rapidez, simples execução e baixo custo. Enquanto os métodos cromatográficos equivalem uma análise feita majoritariamente por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas. Sendo ela uma técnica mais específica que possibilita a detecção e quantificação da substância incomum na matriz analisada (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

Para monitorar esses processos, o Brasil possui programas governamentais de monitoramento para esses resíduos, promovidos pelo MAPA e pela ANVISA (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

O Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCRC/MAPA), estabelecido pela Instrução Normativa SDA nº42, de 20 de dezembro de 1999, e alterada pelo MAPA em 2005, para atender as exigências europeias, tem como objetivo principal a verificação do uso correto e seguro de medicamentos veterinários no âmbito da pecuária brasileira (BRASIL, 2019).

E o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet/ANVISA), criado em 2002 com o intuito de complementar as ações do MAPA e promover a análise dos alimentos prontos para consumo que já estão nas prateleiras dos comércios. A coleta de amostras é feita diretamente nos pontos de venda dos produtos pelas Vigilâncias Sanitárias de cada estado, sendo enviadas para laboratórios credenciados pelo programa para que se realize a análise do produto de acordo com o plano de amostragem do comitê *Codex Alimentarius* (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

Sendo assim, o debate acerca do leite é extremamente relevante para saúde pública em geral. Com isso, a realização desse estudo é importante para produção de material científico a respeito do controle de qualidade do leite e sua magnitude, tendo em vista o efeito prejudicial dos resíduos na cadeia produtiva do leite e a legislação vigente para seu monitoramento.

Por ser uma das matrizes mais ricas em nutrientes essenciais para seus consumidores, a conscientização e informação científica a respeito do leite é fundamental para a população, tornando-se importante para auxiliar a fiscalização e o desenvolvimento de novas estratégias para o controle e detecção desses resíduos, além de disseminar o conhecimento das etapas que englobam o controle de resíduos desde a propriedade rural até a mesa do consumidor, para que um dos produtos mais consumidos no mundo chegue nas mesas com segurança e validação garantidas.

Neste trabalho, foi estudada a importância do controle de resíduos de antibióticos presentes nesta matriz visando preservar a saúde do consumidor, a fim de demonstrar a relevância dessa matriz rica em nutrientes essenciais para saúde humana.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a importância do controle e detecção de resíduos de antibióticos veterinários na cadeia produtiva do leite bovino, para a segurança e a saúde humana.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Apresentar a cadeia produtiva do leite e sua importância para a saúde da população;

Descrever as principais etapas do controle de qualidade do leite bovino;

Avaliar os métodos para o controle e detecção de resíduos de antibióticos no leite bovino.

3. METODOLOGIA

O trabalho foi baseado na abordagem qualitativa e utilizou como estratégias de pesquisa a revisão da literatura científica por meio da busca de artigos científicos, livros e trabalhos em bases de dados como Lilacs, Google Scholar e SciELO, no período compreendido entre os anos de 2000 e 2021, tendo como referência os descritores: Leite bovino, Controle de resíduos e resíduos antimicrobianos.

4. A CADEIA PRODUTIVA DO LEITE E SUA IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE DA POPULAÇÃO

4.1 O LEITE BOVINO

O leite bovino e seus derivados são alimentos de origem animal que estão presentes no cotidiano das famílias em todo o mundo, consistindo em uma fonte de nutrientes importante para a população e um produto relevante para o comércio internacional. Sendo, conseqüentemente, um dos alimentos mais testados e avaliados no âmbito da qualidade no Brasil (MARTIN, 2011; SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012).

Entende-se por leite bovino um fluido derivado da síntese de nutrientes com base na alimentação e metabolização do animal, gerado na glândula mamária. Portanto, por possuir um alto valor nutritivo é considerado um dos alimentos *in natura* mais completos (PEREIRA e SCUSSEL, 2017; SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012).

De acordo com a Instrução Normativa N° 76, de 26 de novembro de 2018 do MAPA, o leite pode ser caracterizado como: leite cru refrigerado, leite pasteurizado e leite tipo A. O leite cru refrigerado é o produzido em propriedades rurais, conservado em refrigeração e com destino aos locais sob serviços de inspeção oficial. O leite caracterizado como pasteurizado, tem por sua definição, um leite fluido que foi submetido a um dos processos de pasteurização previstos pela legislação em vigor, sendo envasado de forma automática em um circuito fechado para ser consumido. O leite tipo A é o leite fluido produzido, beneficiado e envasado unicamente em Granja Leiteira, atribuído diretamente ao consumo humano. Este tipo de leite pode ser conservado através da pasteurização ou pelo tratamento UHT (*Ultra High Temperature*).

Todos os tipos de leite bovino devem se adequar a características estabelecidas sobre os parâmetros físico-químicos de qualidade, conforme demonstra a **Tabela 1**.

Tabela 1 - Comparativo dos parâmetros físico-químicos que devem ser atendidos pelo leite cru refrigerado x Leite pasteurizado e Leite tipo A.

| | Leite cru refrigerado | Leite pasteurizado e Leite tipo A (Pasteurizado, Ultra-alta temperatura UAT ou UHT, Esterilizado) |
|---------------------------------------|------------------------------|---|
| Teor de Gordura | Mínimo de 3,0g/100g | Mínimo de 3,0g/100g para o Integral 0,6 - 2,9g/100g para o Semidesnatado Máximo de 0,5g/100g para o Desnatado |
| Teor mínimo de Proteínas | 2,9g/100g | 2,9g/100g |
| Teor mínimo de Lactose anidra | 4,3g/100g | 4,3g/100g |
| Teor de sólidos não gordurosos | Mínimo de 8,4g/100g | 8,4g/100g para o Integral e os demais devem ser corrigidos pela fórmula de sólidos não gordurosos |
| Teor mínimo de sólidos totais | 11,4g/100g | Não informado |
| Acidez Titulável | 0,14 – 0,18 | 0,14 – 0,18 em g de ácido láctico/100mL |
| Estabilidade ao Alizarol | Mínimo de 72% v/v | 74 % v/v |
| Densidade Relativa a 15/15°C | 1,028 – 1,034 | 1,028 – 1,034 para o Integral 1,028 – 1,036 Para o Semidesnatado e Desnatado |
| Índice Crioscópico | Entre -0,512°C e -0,536°C | Entre -0,512°C e -0,536°C |

Fonte: Instrução Normativa N°76, de 26 de novembro de 2018 e Portaria N° 109, de 25 de abril de 2018.

O leite bovino é uma matriz complexa e nutritiva que engloba mais de 100 substâncias, sejam elas em suspensão, emulsão em água ou solução. Dentre essas substâncias estão a caseína (principal proteína do leite), as gorduras e vitaminas lipossolúveis e a lactose (principal açúcar do leite) (WATTIAUX, 2015).

A caseína é a responsável por 80% da quantidade proteica do leite, estando dispersa em micelas² em suspensão no leite. Já as gorduras e vitaminas lipossolúveis estão na forma de emulsão e a lactose sais minerais e outras substâncias são solúveis (WATTIAUX, 2015).

² Micelas de caseína são partículas polidispersas de aproximadamente 200nm de diâmetro que tem por composição moléculas de caseína, sais e água.

Os parâmetros nutricionais também devem atender a quantidades adequadas para que o leite seja apropriado para o consumo, conforme demonstra a **Tabela 2**.

Tabela 2 - Principal composição do leite bovino.

| Substância | Concentração |
|-------------------|---------------------|
| Água | 86 -88% |
| Sólidos totais | 12,0 – 14,0% |
| Gorduras | 3,5 – 4,5% |
| Proteínas | 3,2 – 3,5% |
| Lactose | 4,6 – 5,2% |
| Minerais | 0,7 – 0,8% |
| Vitaminas | ≅ 260 µg/100mL |

Fonte: Noro (2001) e Wattiaux (2015).

4.2 A CADEIA PRODUTIVA DO LEITE

A cadeia produtiva do leite é um sistema composto por vários setores econômicos que estipularam significativas e mútuas relações de compra e venda que, quando estruturados sequencialmente em um processo produtivo, englobam desde produção até a comercialização do produto (VIANA e FERRAS, 2007).

Este processo é importante para economia de diversos países produtores, por conta do grande número de etapas que envolvem a produção, industrialização e distribuição do leite, conforme demonstra o esquema da Figura 1 (VIANA e FERRAS, 2007).

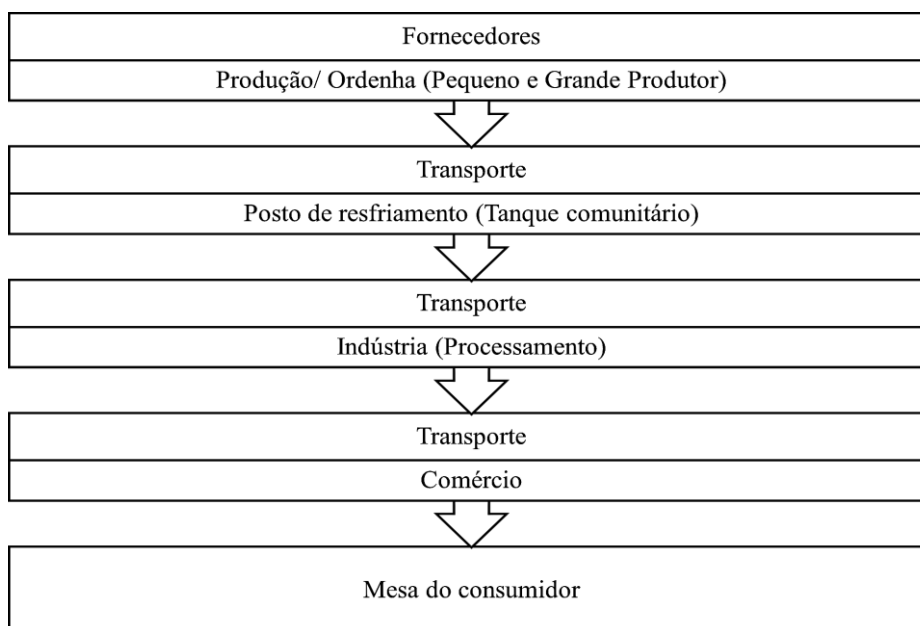


Figura 1: Principais etapas da cadeia produtiva do leite.

Os fornecedores de insumos são uma aliança importante para a produção de leite bovino por disponibilizar ração, medicamentos, máquinas, produtos de higiene, entre outros insumos necessários para que produtores possam garantir o funcionamento da fazenda leiteira. Sendo estes produtores, que podem ser especializados ou não-especializados, responsáveis pelo controle da produção de leite através da ordenha e pelo cuidado com o rebanho. (VIANA e FERRAS, 2007)

A ordenha é uma etapa que deve ser cuidadosa e minimizadora de riscos ao animal e, conseqüentemente, ao produto. Este processo pode ser feito de duas maneiras: A ordenha manual, com ou sem a presença de cria ou a ordenha mecânica do formato balde ao pé ou circuito fechado. Ambas as formas devem preservar a higiene, desinfecção e verificar possíveis lesões nos tetos, para que não ocasionem uma exposição do animal ou do produto à microrganismos patogênicos (BRASIL *et al.*, 2012).

Quando a ordenha se encerra, o leite é enviado para o armazenamento em tanques de resfriamento comunitários. De acordo com a Instrução Normativa N°77, de 26 de novembro de 2018, estes tanques, também conhecidos como tanques de expansão direta permitem a refrigeração do leite cru até uma temperatura igual ou inferior a 4,0°C no tempo máximo de três horas. A grande maioria dos tanques de resfriamento são comunitários, ou seja, utilizados de forma coletiva de modo a armazenar e conservar o leite bovino de vários produtores. Por este fato, tornam-se também grandes fontes de contaminantes devido as diversas origens dos leites, que se misturam. (MAPA, 2018)

O grande desafio dos produtores é a infraestrutura, tanto para o transporte, que enfrenta estradas precárias, quanto para refrigeração nas propriedades e durante o trajeto até as indústrias. Estes desafios do transporte são superados pelo aluguel de caminhões tanque refrigerados, considerados padrão ouro neste transporte. Sendo assim, estes caminhões deveriam ser utilizados por todos os produtores a fim de preservar as características sensoriais, microbiológicas e físico-químicas do leite bovino (BRESSAN e MARTINS, 2004).

A qualidade do produto proveniente do leite bovino é fundamentalmente relacionada a sua carga microbiana quando chega à indústria beneficiadora. Por este motivo, há a realização de testes de validação dos parâmetros de qualidade ao ingressar na fábrica. Além disso, o leite bovino pode ser submetido à diversos tipos de processamento para sua conservação e garantia de um maior prazo de validade tais como a pasteurização e o tratamento UHT, também da produção de derivados (BRASIL *et al.*, 2012; LISITA, 2010).

Para produção de qualquer produto lácteo, a indústria também deve seguir as Boas Práticas de Fabricação (BPF) para garantir um produto de qualidade ao final do processamento (CORDEIRO, 2018).

Após o processamento industrial do leite, ocorre finalmente a comercialização do produto inspecionado no local pela Vigilância Sanitária a fim de garantir a qualidade biológica, sanitária, tecnológica e nutricional do produto final até chegar à mesa do consumidor (MARTIN, 2011).

O Brasil foi ranqueado como 3º maior produtor mundial de leite, com cerca de $6,5 \cdot 10^{10}$ L produzidas nos anos de 2016 e 2017. A produção mundial de Leite em 2017 foi de $8,2 \cdot 10^{11}$ L (EMBRAPA, 2019).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no 2º trimestre de 2020 a quantidade de leite cru industrializado no Brasil, sendo ele resfriado ou não, foi de $5,7 \cdot 10^9$ litros, o que representou a 3º maior captação de leite bovino acumulada em um 2º trimestre anual.

Sendo assim, o leite torna-se um dos produtos mais importantes da agropecuária brasileira, levando em conta a grande quantidade de leite produzida no Brasil. Essa matriz é rica em nutrientes essenciais para o crescimento e para conservação de uma vida saudável. Além disso, o leite exerce um papel social relevante, tendo como principal âmbito, a geração de empregos. Sendo de extrema importância assegurar a qualidade deste produto para que os consumidores possam fazer uso de um produto sem nenhum tipo de contaminação, adulteração ou resíduo e preservar a saúde da população consumidora (VILELA, 2001).

5. A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE BOVINO

5.1 A IMPORTÂNCIA DA PRODUÇÃO DE UM LEITE DE QUALIDADE PARA A POPULAÇÃO CONSUMIDORA

Conforme a grande quantidade produzida no Brasil, para prevenir riscos à saúde humana, o leite deve ser isento de qualquer contaminante ou substância incomum. Tendo em vista seu elevado valor biológico, essa matriz torna-se um meio propício ao crescimento microbiano e deve passar por um rigoroso controle de qualidade para quantificar seus nutrientes, contaminantes, adulterantes e resíduos gerados pelo seu processo produtivo, a fim de validar suas condições para o consumo (SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012; MARTIN, 2011).

Aproximadamente 1 bilhão de pessoas no mundo dependem do leite para sobreviver, 600 milhões de pessoas vivem em fazendas leiteiras ao redor do globo. Sendo o leite uma das *commodities* agropecuárias mais importantes do mundo, *commodity* essa que cerca de 10% da população mundial dependente diretamente de sua produção (GDP, 2017).

No Brasil, o consumo per capita de leite está equiparado ao valor recomendado por vários países no mundo, o correspondente a 480 g (habitante/dia), ou seja, 2 porções diárias de leite (pessoa/dia), obtendo um percentual de crescimento de consumo a 60% desde 1990 (FAO, 2013 *apud* SIQUEIRA, 2019).

Por este fato, é imprescindível garantir a inocuidade dos produtos de origem animal pelo controle de qualidade. Além de ser dever de todos os países, a garantia do fornecimento de condições de desenvolvimento favoráveis para agricultura e pecuária, de modo a suprir as necessidades alimentares básicas de sua população. Sendo essas necessidades garantidas nos âmbitos quantitativos e qualitativos a fim de proporcionar à população uma vida saudável e digna (MARTIN, 2011).

No Brasil, órgãos responsáveis pela segurança alimentar e nutricional vem se empenhando para garantir o direito universal e acesso regular à alimentos de qualidade para a população, visando a redução de ocorrências de contaminantes, sendo eles provenientes do uso indiscriminado de pesticidas, drogas veterinárias ou a condições ambientais externas (MARTIN, 2011).

Por isso, a fiscalização da qualidade do leite é realizada também na sua comercialização, bem como nos locais de armazenamento e estoques do mercado formal. Há também um grande esforço da Vigilância Sanitária para o combate ao mercado informal de leite, que pode comprometer os parâmetros de qualidade de armazenagem pela negligência à preservação

correta do produto, conforme as instruções normativas vigentes (BRESSAN e MARTINS, 2004).

Ao chegar na mesa do consumidor, o leite percorreu todo o processo da cadeia produtiva, desde o fornecimento de insumos, ordenha, transporte, resfriamento, indústrias, entre outros. Sendo estes responsáveis pelo beneficiamento e processamento desta matéria-prima, exercendo importância fundamental na qualidade do produto final (BRESSAN e MARTINS, 2004).

5.2 O CONTROLE DE QUALIDADE DO LEITE: DO PRODUTOR AS PRATELEIRAS

A qualidade do leite possui dois aspectos principais: a higiene e a integridade de sua composição química. Sendo a higiene dependente de um manejo adequado, e a integridade da composição química dependente de diversos fatores que influenciarão nas características nutritivas, microbiológicas e sensoriais do leite bovino (SANGALI *et al.*, 2018).

Conforme demonstrado na Figura 2, o controle de qualidade do leite pode ser dividido em vários aspectos, sendo eles: O manejo correto, a composição química e a análise do leite.

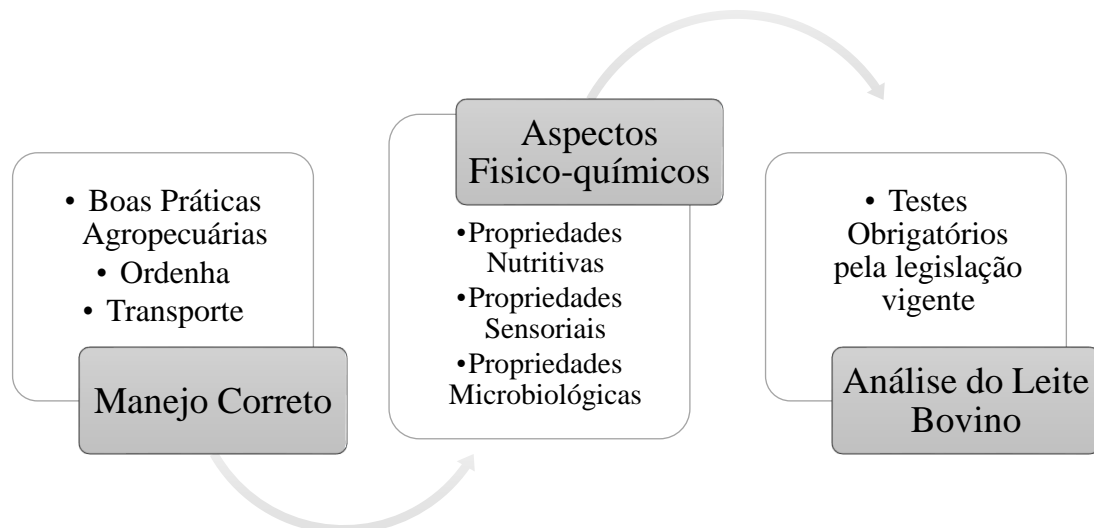


Figura 2: Principais aspectos do controle de qualidade do leite bovino.

O controle de qualidade é regulamentado por órgãos governamentais que tem como principal objetivo fiscalizar, aprovar a fabricação e comercialização do leite bovino. Os principais órgãos responsáveis por esta fiscalização são: o MAPA, através da IN 76, de 26 de

novembro de 2018 e IN 77, de 26 de novembro de 2018; o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) e o Serviço de Inspeção Federal (SIF) (SANGALI et al., 2018).

A Instrução Normativa N°76 estipula a identidade e as características de qualidade que o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite do tipo A devem compreender (MAPA, 2018).

A Instrução Normativa N°77 estabelece os critérios e procedimentos a serem seguidos nos âmbitos da produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru nos estabelecimentos que possuem registro no serviço de inspeção oficial (MAPA, 2018).

O DIPOA é encarregado da inspeção dos produtos de origem animal em escala nacional, garantindo a qualidade do produto em todo Brasil antes mesmo dele chegar ao consumidor. Promovendo também a integração dos órgãos estaduais de inspeção com o MAPA (MAPA, 2019).

O SIF é vinculado ao DIPOA, sendo o órgão responsável por assegurar a qualidade de produtos de origem animal endereçados ao mercado interno e externo, sejam eles comestíveis ou não. Para explicitar a segurança e a validação da qualidade, o produto recebe o selo SIF após ser submetido à diversas etapas de fiscalização e inspeção (MAPA, 2021; MAPA, 2020).

A Instrução Normativa N°77, de 26 de novembro de 2018, do MAPA prevê as boas práticas agropecuárias, que são adotadas pela propriedade rural para obtenção de um leite seguro e de qualidade para a população consumidora. Tais práticas perpassam desde a organização da propriedade rural até a capacitação dos profissionais responsáveis pela rotina de manejo do leite bovino.

A ordenha e transporte são aspectos iniciais da produção de um leite bovino de qualidade. Por isso, é importante que sejam realizados procedimentos de higienização como: a desinfecção dos tetos dos animais, verificação de mastite pré ordenha, limpeza e desinfecção do local após a ordenha e transporte adequado ao tanque de resfriamento (SANGALI et al., 2018).

Após a ordenha, o leite deve ser armazenado em um tanque de resfriamento a uma temperatura de até 4°C e transportado em caminhões tanque refrigerados, para preservação da temperatura e, conseqüentemente, da qualidade do produto (MAPA, 2018).

A composição do leite pode apresentar variações de acordo com as estações do ano, período de lactação, fraudes, adulterações, entre outros; que podem comprometer as características sensoriais e nutritivas do leite. Por este fato, é essencial conhecer a composição

do leite para determinar se é de qualidade garantida e seguro para o consumidor. Para realizar a testagem das amostras de leite nesta etapa, laboratórios credenciados pelo MAPA realizam a coleta e análise do produto conforme a legislação vigente (SANGALI *et al.*, 2018; MAPA, 2018).

A análise do leite para validação de sua qualidade conforme a legislação é feita pelos laboratórios credenciados da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL). Estes laboratórios realizam a testagem de diversos parâmetros importantes, tais como: o teor de gordura, teor de proteínas totais, teor de lactose anidra, teor de sólidos não gordurosos e sólidos totais, contagem de células somáticas, contagem padrão em placas, resíduos de produtos de uso veterinário e outros que podem ser determinados por normas complementares (MAPA, 2018).

Entre os quesitos avaliados no controle de qualidade, os resíduos químicos mais comuns encontrados no leite são os de medicamentos veterinários. Estes medicamentos são responsáveis por causar grandes malefícios à saúde pública e devem ser controlados conforme os padrões de qualidade estabelecidos pelas normas regulatórias em vigor (PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

5.3 O CONTROLE DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS E SUA QUANTIFICAÇÃO

O *Codex Alimentarius* caracteriza os resíduos de medicamentos veterinários como fração da droga administrada, seus metabólitos, produtos de conversão ou reação e impurezas que permanecem no alimento oriundo de animais tratados (FAO/WHO, 2018).

Os resíduos presentes no leite bovino derivam de diversas substâncias administradas nos animais ou utilizadas na higienização das fazendas, sendo eles: antibióticos, antiparasitários, desinfetantes, entre outros (SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012).

A utilização de antibióticos para tratamentos de doenças nos animais visa a eficácia e os benefícios econômicos, sendo o tratamento ideal aquele que deixa o leite isento de resíduos. Para garantir um leite destituído de resíduos, foi estabelecido um período para eliminação completa da droga administrada no organismo do animal. Este intervalo deve ser determinado por fatores como: a via de administração (intramamária, intramuscular, intrauterina, oral, intravenosa ou subcutânea), a classe do medicamento, a dosagem e o estado de saúde do animal (SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012).

Os resíduos de antimicrobianos podem ser encontrados no leite por diversos motivos, entre eles estão: utilização de drogas veterinárias em uma dosagem diferente da recomendada,

ocasionando uma alteração no período de carência determinado; descarte de leite apenas do quarto mamário comprometido, mistura ocasional de leite de alta qualidade com leites contaminados com resíduos, erros na identificação de animais em tratamento ou adição de adulterantes³ (JÚNIOR, 2018).

A presença dessas substâncias no leite tem como agravante a resistência destes resíduos à processos como a pasteurização que submete o produto a uma temperatura inferior a 100°C e o tratamento UHT, que varia a temperatura de 130-140°C por 2 a 4 segundos. Ainda que o leite seja elevado a uma alta temperatura em um curto espaço de tempo, os antibióticos não são degradados (SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012).

Portanto, além de ser uma questão de saúde pública, a presença de resíduos de antimicrobianos implica em diferentes consequências na indústria, no meio ambiente e na saúde do consumidor (MARTIN, 2011).

As implicações da presença de resíduos no leite bovino, matéria prima das indústrias de laticínios provocam um *déficit* na produção de derivados do leite. Antimicrobianos provocam inibição parcial das bactérias responsáveis pelo processo de fermentação, ocasionam a queda do pH, prejudicam o sensorial dos produtos lácteos e podem elevar os riscos do crescimento de culturas de coliformes e outros patógenos (MARTIN, 2011).

Os resíduos no leite também trazem sérios riscos ao meio ambiente, pois estes resíduos são descartados majoritariamente em ambientes aquáticos logo após seu consumo. Para resguardar estes ambientes, os produtores devem evitar o descarte de resíduos químicos derivados da limpeza e desinfecção que é realizada durante a ordenha (MARTIN, 2011).

A presença dos resíduos de antimicrobianos também é prejudicial à saúde humana, pois a exposição contínua e a longo prazo pode ocasionar: o comprometimento do equilíbrio da flora intestinal comprometendo as bactérias que auxiliam na digestão; reações alérgicas graves em pessoas com hipersensibilidade ao medicamento; a ineficácia de um tratamento médico futuro pelo surgimento de bactérias resistentes; toxicidades relacionadas como o efeito teratogênico, carcinogênico e o desenvolvimento de anemia aplásica (MARTIN, 2011).

5.3.1 O monitoramento de resíduos de medicamentos veterinários no Brasil

Para realizar o monitoramento dos resíduos de drogas veterinárias, o Brasil conta com 2 principais programas: o PNCRC, promovido pelo MAPA, que inclui o programas para

³Adulterantes são substâncias adicionadas intencionalmente para ocultar falhas na qualidade, prorrogar a vida útil ou aumentar o volume do leite bovino.

avaliação de ovos, carne, pescado, mel e leite; sendo o Programa de Controle de Resíduos no Leite (PCRL) competente à produção nacional de leite, que fiscaliza o descumprimento das normas estabelecidas aos medicamentos veterinários, e o PAMVet, viabilizado pela ANVISA, que tem por finalidade analisar os alimentos de origem animal disponíveis para consumo nas prateleiras dos comércios (JÚNIOR, 2018).

Para detecção dos resíduos antimicrobianos em produtos de origem animal são realizados métodos analíticos de monitoramento a fim de determinar se o produto está ou não dentro das especificações determinadas pela legislação vigente. Para isso, são efetuados testes de triagem, que oferecem baixa especificidade, possibilitando apenas uma análise qualitativa e, caso necessário, são realizados testes comprobatórios, que possuem alta especificidade e possibilitam a determinação quantitativa de resíduos da droga no produto (JÚNIOR, 2018).

Para maior controle desses resíduos, foi estabelecido o LMR, que é uma concentração máxima de resíduos que resulta do uso de drogas veterinárias. Este valor é legalmente aceitável, sendo estabelecido para cada princípio ativo que recebe aprovação para uso em animais produtores de alimentos e garantindo a segurança do alimento para população consumidora (PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

Assim, entre os possíveis resíduos presentes no leite bovino, os antibióticos têm se destacado como o principal resíduo prejudicial à saúde humana e uma preocupação para saúde pública.

6. CONTROLE E DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE BOVINO

6.1 OS ANTIBIÓTICOS E SEUS RESÍDUOS

Os antibióticos são substâncias que podem impedir ou erradicar a proliferação de bactérias, por este fato, são considerados padrão ouro para tratar estas infecções. A descoberta dos antibióticos, feita por Alexander Fleming, revolucionou a medicina humana pois a penicilina foi responsável pelo fornecimento de qualidade de vida as pessoas que enfrentavam doenças como a pneumonia, tuberculose, sífilis, entre outras infecções causadas por bactérias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015; JBPML, 2009).

O uso de antimicrobianos foi empregado nos animais desde o início da década de 40, quando um resíduo excedente derivado da fermentação de um antibiótico melhorou o crescimento e a saúde do animal. Após isso, os antimicrobianos são utilizados de forma disseminada nos animais destinados a produção (JANK, 2017; GUARDABASSI e KRUSE, 2010).

Muitas classes de antimicrobianos usadas em humanos são também empregadas na medicina veterinária (JANK, 2017). Sendo as principais classes de antibióticos presentes no tratamento veterinário descritas na Tabela 3 a seguir:

Tabela 3 – Principais classes de antibióticos utilizadas no tratamento veterinário.

| Grupo Antimicrobiano | Mecanismo de Ação |
|-----------------------------|--|
| β -Lactâmicos | Impede a formação da parede celular bacteriana |
| Aminoglicosídeos | Interfere na síntese proteica bacteriana |
| Lincosamidas | Inibe a síntese proteica da bacteriana |
| Macrolídeos | Impede a síntese proteica bacteriana |
| Polimixinas | Altera a permeabilidade da membrana bacteriana |
| Quinolonas | Inibe a DNA girase bacteriana, responsável pelo enrolamento da hélice de DNA |
| Sulfas | Impede a síntese de Ácido Fólico bacteriana |
| Tetraciclina | Inibe a síntese proteica bacteriana |

Fonte: Adaptado de PEREIRA e SCUSSEL, 2017.

Há também a classe dos anfenicóis, que apresenta o cloranfenicol, CAP, um antibiótico de uso proibido em animais destinados a produção de alimentos no Brasil e em outros países; essa proibição se deve ao potencial efeito carcinogênico do fármaco. Porém, mesmo com a restrição do uso, o CAP ainda é encontrado em análises de muitos produtos. Por isso, é

importante a fiscalização da qualidade desses produtos e a atenção do consumidor para comprar em estabelecimentos confiáveis e submetidos a fiscalização (REGO, GUIMARÃES, *et al.*, 2017).

Os antibióticos são um dos principais resíduos de drogas veterinárias que podem prejudicar a integridade da saúde do consumidor. As diversas classes de antibióticos, a dosagem e via de administração no animal contribuem para a concentração de seus resíduos no alimento obtido (PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

Para evitar isso, os produtores devem cumprir um intervalo entre a administração da droga e a ordenha para comercialização, para que os resíduos sejam eliminados, visando às concentrações permitidas. Conforme ilustra a Figura 3, o respeito ao período de carência garante um leite de qualidade e sem a presença de resíduos (PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

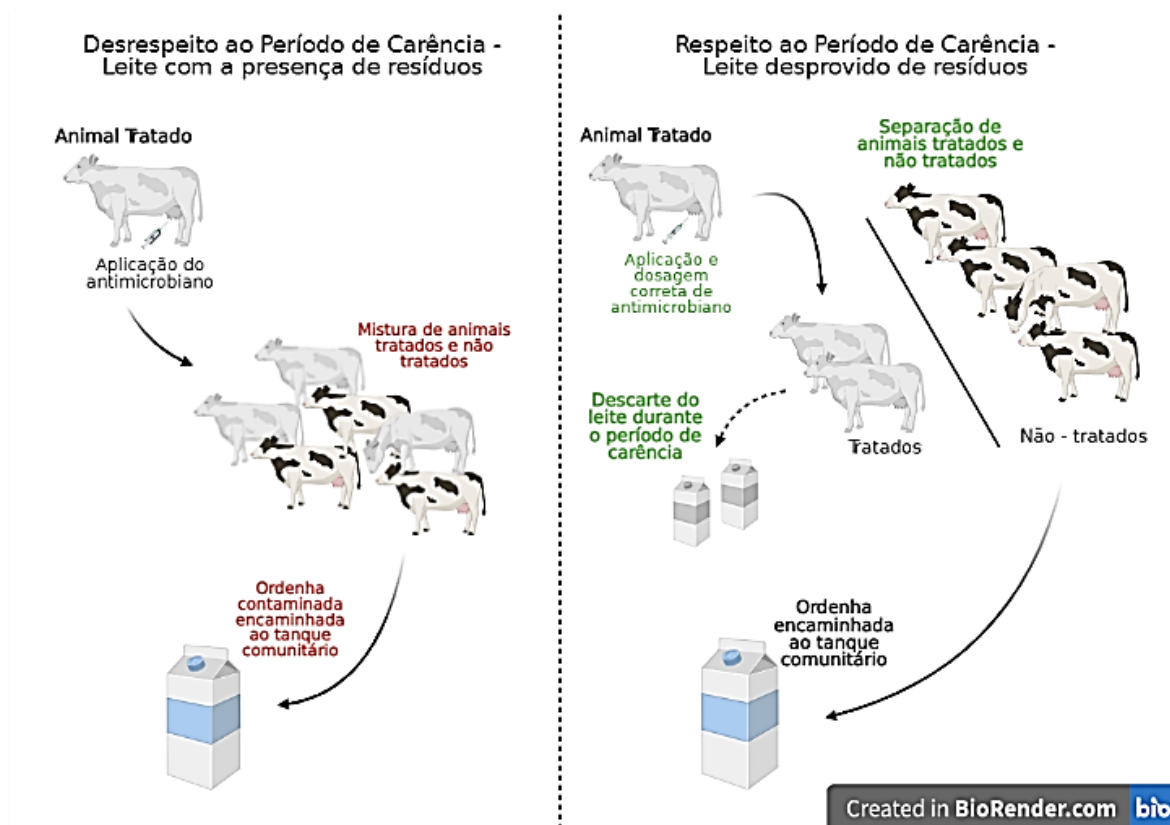


Figura 3: Esquema representativo da administração indevida dos antibióticos comparada a administração segura dos antibióticos respeitando o período de carência. Fonte: Criado em Biorender.com.

6.1.1 O uso de antibióticos veterinários e impactos à saúde

A exposição contínua aos antibióticos acima do LMR contribui para uma série de efeitos prejudiciais à saúde em geral. Estes efeitos podem impactar no âmbito médico, com a crescente resistência bacteriana à antimicrobianos que se dá pela ingestão de antibióticos em longo prazo, além de alguns medicamentos possuírem um efeito teratogênico e carcinogênico. (MARTIN, 2011; PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

Nos dias atuais, o uso indiscriminado de antibióticos desencadeia a resistência bacteriana à antimicrobianos, que gera grandes problemas no tratamento de infecções. As bactérias, que eram susceptíveis a determinados antibióticos, desenvolvem métodos para burlar o mecanismo de ação destes medicamentos, causando assim a resistência bacteriana. Por isso, o uso desenfreado dos antibióticos como profilaxia e a não utilização adequada no tempo ou dosagem correta, torna o tratamento inadequado e, conseqüentemente, pode induzir essa resistência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015; LOUREIRO, ROQUE, *et al.*, 2016)

O uso indevido de antibióticos acima do LMR, para tratamento de infecções como a mastite, por exemplo, é considerado a origem primária dos resíduos no leite bovino. Sendo a mastite a doença mais frequente nas vacas em lactação, caracterizada por uma inflamação na glândula mamária provocada por bactérias, tratada por meio da administração de antibióticos (LOBATO e DE LOS SANTOS, 2019; SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012).

A mastite afeta fundamentalmente a produtividade do leite e, também, sua qualidade pois modifica a composição do leite *in natura* com a elevação da contagem de células somáticas⁴ decorrente do aumento de neutrófilos⁵. Quando este aumento ocorre, as vacas em lactação recebem tratamento com antibióticos, sendo os β -lactâmicos frequentemente utilizados para tratamento de infecções como a mastite (MORITZ e MORITZ, 2016)

⁴ A contagem de células somáticas é uma ferramenta indicadora da saúde da glândula mamária das vacas leiteiras

⁵ Neutrófilos são células responsáveis pela defesa do organismo, elevando sua quantidade no sangue quando há presença de infecções ou inflamações.

A Tabela 4 a seguir demonstra o LMR no leite bovino para cada classe de antibiótico.

Tabela 4– Limite Máximo de Resíduos no leite bovino estabelecidos pela ANVISA (PAMVet) e MAPA (PNCRC).

| Grupo de antimicrobianos | Substância Farmacologicamente Ativa | LMR^a (µg/L) | Referência |
|---------------------------------|---|-------------------------------------|-------------------|
| β-lactâmicos | <i>Penicilinas:</i> | | |
| | Benzilpenicilina/benzilpenicilina procaína | 4 | Mercosul |
| | Ampicilina, Amoxiciclina | 4 | Mercosul |
| | Cloxacilina, Oxacilina, Dicloxacilina | 30 | União Europeia |
| | <i>Cefalosporinas:</i> | | |
| | Ceftiofur | 100 | Mercosul |
| | Cefapirina | 60 | União Europeia |
| | Cefazolin | 50 | União Europeia |
| | Cefoperazone | 50 | União Europeia |
| | Aminoglicosídeos | Diidroestreptomicina/Estreptomicina | 200 |
| Neomicina | | 500 | Mercosul |
| Macrolídeos | Eritromicina | 40 | Mercosul |
| Tetraciclinas | Oxitetraciclina, Tetraciclina, Clortetraciclina | 100 | Mercosul |
| Anfenicóis | Cloranfenicol | 0 | Mercosul |
| | Florfenicol ^c | ND ^b /10 | - |
| | Tianfenicol ^d | 50/10 | União Europeia |
| Sulfonamidas | Sulfametazina, Sulfametoxina, Sulfatiazol | 100 | Mercosul |

Fonte: Adaptado de LOBATO e DE LOS SANTOS (2019) *apud* ANVISA (2009); PACHECO-SILVA *et al.* (2014); BRASIL (2019).

*Legenda: LMR^a – LMR de referência para ANVISA e MAPA, ND^b – Não definido, Florfenicol^c – Valor não definido no PAMVet e referenciado como 10 µg/L no PNCRC 2019, Tianfenicol^d – Valor de 50 µg/L definido no PAMVet e referenciado como 10 µg/L no PNCRC 2019.

6.2 OS RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS B- LACTÂMICOS

Os β -lactâmicos são a principal classe de antibióticos utilizada para tratamento do rebanho, atuando na parede celular do patógeno, na etapa de formação. Esta classe obtém ação em meio a multiplicação bacteriana, interferindo na síntese do peptidoglicano⁶, que compõe a parede celular das bactérias (AZEVEDO, 2014).

O grupo de antimicrobianos β -lactâmicos possui em comum em sua estrutura química, o anel β -lactâmico (Figura 4), o qual é o núcleo responsável pela atividade bactericida (ANVISA, 2021).

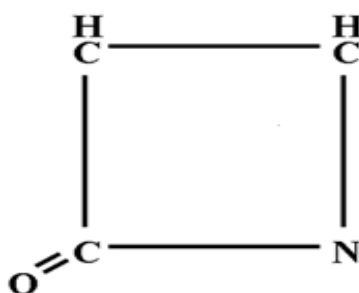


Figura 4: Estrutura química do anel β -lactâmico.

Fonte: Cram.com (2021).

Os antibióticos β -lactâmicos, como as penicilinas e cefalosporinas (Figura 5), constituem os antimicrobianos mais utilizados na profilaxia ou tratamento de infecções bacterianas em vacas destinadas a produção de alimentos. Por este motivo, são identificadas com frequência como resíduos do leite bovino (LOBATO e DE LOS SANTOS, 2019).

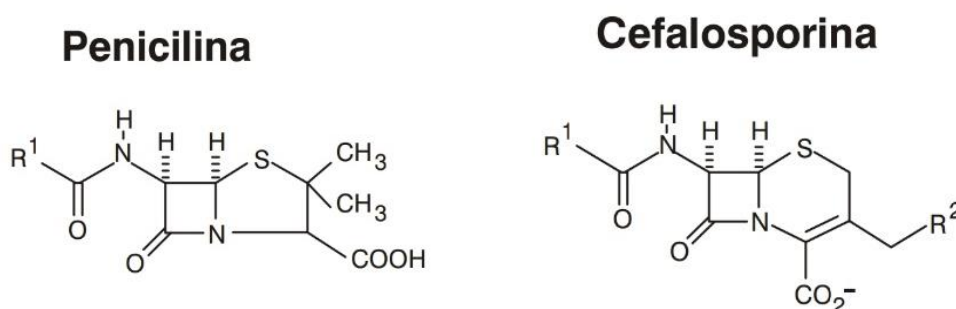


Figura 5: Estrutura química dos antibióticos penicilina e cefalosporina.

Fonte: Adaptado de ROSÁRIO e GRUMACH (2006).

⁶ O Peptidoglicano é um componente essencial da parede celular bacteriana, que tem como função a preservação da lise osmótica da célula.

Problemas relacionados à saúde pública como reações alérgicas graves são frequentemente relacionados principalmente ao grupo das penicilinas. Além disso, o uso desenfreado destes medicamentos a longo prazo tem provocado a resistência bacteriana (LOBATO e DE LOS SANTOS, 2019).

Essa utilização inadequada ocasionou a estipulação de um prazo mínimo de carência para que a droga fosse eliminada do organismo do animal, promovendo um alimento seguro e livre de resíduos. Este período é determinado dependendo da via de administração, dosagem e a classe do medicamento aplicado, sendo geralmente de 72 horas e podendo chegar até seis dias (LOBATO e DE LOS SANTOS, 2019).

A Tabela 5 abaixo demonstra o período de eliminação de acordo com cada classe medicamentosa, sendo avaliada ainda a via de aplicação e a dosagem.

Tabela 5 – Duração mínima de eliminação de antimicrobianos no leite pela via de administração intramamária.

| Antimicrobiano | Período mínimo de eliminação em dias |
|-------------------------|---|
| Penicilina G (procaína) | 2 |
| Clortetraciclina | 6 |
| Oxitetraciclina | 4 |
| Estreptomicina | 4 |

Fonte: Adaptado de LOBATO e DE LOS SANTOS (2019).

Infelizmente, o setor da pecuária não avançou no âmbito do uso racional de antibióticos, tornando inviável o enfrentamento à resistência bacteriana, pois 50% dos antibióticos são utilizados na agricultura mundial. Este fato torna ainda mais importante a intensificação das medidas de controle e detecção de antimicrobianos no leite bovino para garantia da inocuidade do produto final e o menor risco à saúde humana (CADES, ZANINI, *et al.*, 2017).

6.3 O CONTROLE DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS E SUA QUANTIFICAÇÃO

A problemática do leite bovino está diretamente associada à saúde pública pelas sérias consequências para saúde humana que podem ser geradas pela toxicidade dos resíduos de antibióticos no leite, como contaminantes ou adulterantes, tornando necessárias as ações realizadas por programas de controle e análise do leite promovidos por órgãos públicos vigentes

como o MAPA e a ANVISA, visando o controle sanitário e aumentando a segurança do produto, desde a obtenção até a chegada ao consumidor (SILVA, SILVA e RIBEIRO, 2012; PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

O MAPA é o órgão responsável pelo registro e pela fiscalização dos produtos de uso veterinário e dos estabelecimentos encarregados pela fabricação e/ou comercialização. E, juntamente com a ANVISA, o MAPA também realiza a avaliação e fiscalização da qualidade dos alimentos de origem animal. Sendo os programas PNCRC e PAMVet, os responsáveis pela realização destas atribuições e fiscalizações (LOBATO e DE LOS SANTOS, 2019).

Além disso, a determinação do LMR, também é um parâmetro importante para esta fiscalização, sendo estipulados através de rigorosos testes de toxicidade realizados por instituições renomadas no âmbito da ciência e recomendados após uma avaliação de diversos parâmetros, que é feita por órgãos internacionais. No Brasil, a determinação dos LMRs é estabelecida pelo Ministério da Saúde. Porém, em casos não estabelecidos, são utilizadas as determinações do MERCOSUL, *Codex Alimentarius* ou dados da União Européia (MARTIN, 2011).

Para a verificação do cumprimento da legislação vigente e comprovação de um produto de origem animal não prejudicial à saúde do consumidor, é necessária a realização de testes para detecção da presença de resíduos antimicrobianos no leite bovino. Estes testes contribuem para dimensionar a exposição humana e avaliar o quão prejudiciais são as substâncias utilizadas na medicina veterinária, garantindo assim a segurança e inocuidade do produto (JÚNIOR, 2018).

Para esta detecção, foram desenvolvidos métodos analíticos para identificação e quantificação da contaminação presente nos alimentos, sendo um recurso utilizado para o monitoramento e garantindo que o alimento esteja dentro dos parâmetros legais para o consumo. Sendo estes métodos divididos em 2 etapas: os métodos de triagem e os métodos comprobatórios (JÚNIOR, 2018).

Os métodos de triagem são utilizados para identificação da presença de resíduos de medicamentos veterinários em diversas matrizes, entre elas o leite bovino. Estes métodos são amplamente utilizados pela agilidade no resultado, facilidade de execução e, em geral, pelo baixo custo. Sendo qualitativos ou semiquantitativos e com base em técnicas microbiológicas e imunobiológicas (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

Sendo as imunobiológicas principalmente baseadas em técnicas como o ensaio de ELISA, e as técnicas microbiológicas baseadas em inibição do crescimento de um

microrganismo, estando alguns exemplos de kits comerciais para realização destes ensaios demonstrados na tabela 6 (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

Tabela 6 – Alguns métodos de análise utilizados como triagem na detecção de resíduos de antimicrobianos do leite bovino.

| Princípio do teste | Testes e Kits Comerciais | Classes de Antimicrobianos Detectadas |
|------------------------------------|---|--|
| Inibição do crescimento microbiano | Charm – Test TM (<i>Charm Science Incorporation</i> , EUA) | Aminoglicosídeos Beta-Lactâmicos Macrolídeos Tetraciclina Sulfonamidas |
| | Copan CH ATK [®] (<i>Copan Italia SPA</i> , Itália) | Beta-Lactâmicos Tetraciclina Sulfonamidas |
| | Delvotest - P [®] (<i>Gist Brocades</i> , Holanda) | Beta-Lactâmicos Tetraciclina Sulfonamidas |
| | Delvotest - SP [®] (<i>Gist Brocades</i> , Holanda) | Aminoglicosídeos Beta-Lactâmicos |
| ELISA | Charm SL – Test TM (<i>Charm Science Incorporation</i> , EUA) | Beta-Lactâmicos Tetraciclina Sulfonamidas |
| | Cite Probe Gentamicin Test [®] (<i>Idexx Laboratories</i> , EUA) | Aminoglicosídeos |
| | Ridascreen chloramphenicol [®] (<i>R-Biopharm</i> , Alemanha) | Anfenicóis |
| | Snap beta-lactam Test [®] (<i>Idexx Laboratories</i> , EUA) | Beta-Lactâmicos |

FONTE: Adaptado de PEREIRA e SCUSSEL (2017) *apud* FERREIRA *et al.* (2012).

Os testes realizados para triagem têm por objetivo a capacidade de detecção de um analito ou uma classe de substâncias nos níveis permitidos, devendo ser igual ou inferior ao LMR. Contudo, os métodos de triagem possuem pouca seletividade e podem apresentar falsos positivos, sendo assim necessária a confirmação em caso de positivo. Esta confirmação se dá por meio de métodos cromatográficos ou comprobatórios (PACHECO-SILVA, SOUZA e CALDAS, 2014).

Os métodos comprobatórios são realizados principalmente por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas. A espectrometria de massas viabiliza a quantificação e identificação de qualquer componente ionizável, compreender a estrutura e estipular a massa molar. A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas é altamente sensível e específica, expondo o limite de quantificação na ordem de ng/mL ou µg/Kg para a maioria dos compostos testados, detectando de acordo com a classe de antibiótico de forma quantitativa e sensível, conforme demonstra a tabela 7.

Tabela 7- Técnicas cromatográficas utilizadas para confirmar a presença de resíduos de antimicrobianos no leite bovino.

| Classe de Antibiótico | Tipo de Cromatografia | Detector |
|------------------------------|------------------------------|---|
| Aminoglicosídeos | CLAE | - Espectrometria de Massas Sequencial |
| Anfenicóis | CLAE | - Espectrometria de Massas Simples Quadrupolo - Detector de Arranjo de Diodos |
| Beta-Lactâmicos | CLAE | - Espectrometria de Massas Simples Quadrupolo - Detector de Arranjo de Diodos - Espectrometria de Massas Sequencial |
| Macrolídeos | CLAE | - Espectrometria de Massas Simples Quadrupolo |
| Tetraciclinas | CLAE | - Detector de Absorção na Luz Ultravioleta - Detector de Arranjo de Diodos - Espectrometria de Massas Sequencial |
| Sulfonamidas | CLAE | - Detector de Fluorescência - Detector de Arranjo de Diodos |

FONTE: Adaptado de PEREIRA e SCUSSEL (2017) *apud* FERREIRA *et al.* (2012).

* CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Para viabilizar o controle mais efetivo destes resíduos, são necessários pontos estratégicos de coleta de amostras para o rastreamento de eventuais contaminações e adulterações, conforme demonstra o esquema representado na figura 6.

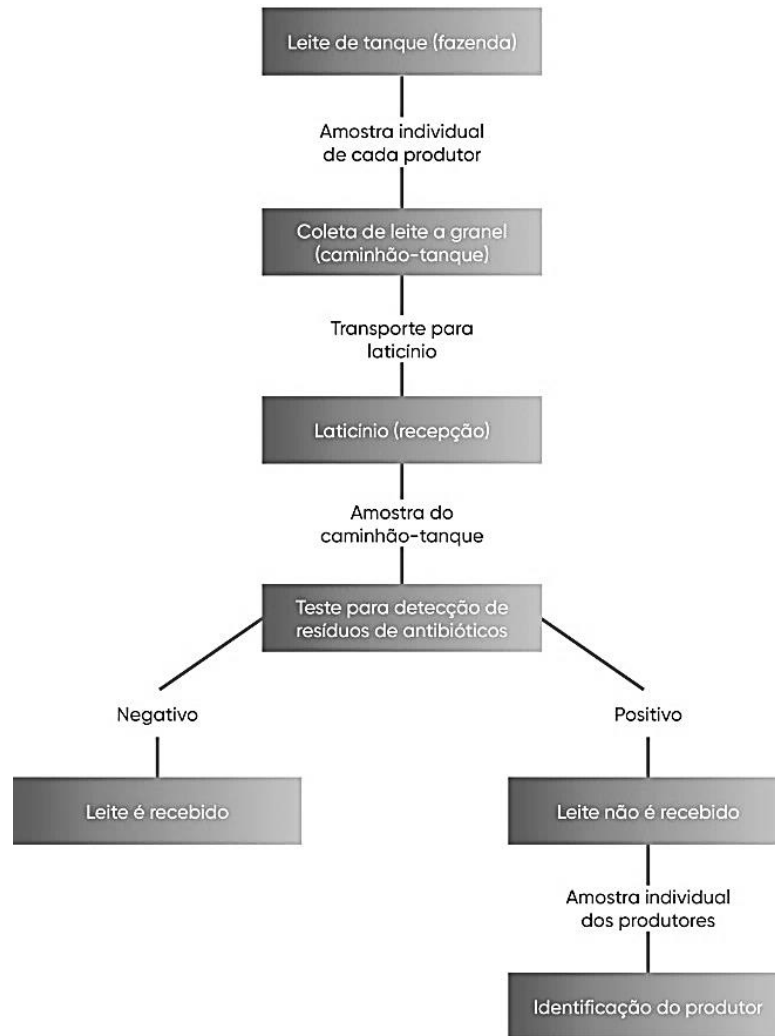


Figura 6: Pontos de amostragem para detecção de antimicrobianos no leite bovino.
Fonte: Adaptado de OUROFINO SAÚDE ANIMAL (2017).

Estes pontos são necessários caso haja resultado positivo nos métodos de triagem em amostras do caminhão tanque - são testadas as amostras individuais que foram coletadas na fazenda nos tanques comunitários. Baseado nos resultados destas amostras individuais, é possível realizar a identificação do produtor responsável pela presença do antibiótico no caminhão tanque contaminado ou adulterado (OUROFINO SAÚDE ANIMAL, 2017).

Os resíduos no leite têm como origem principal a produção primária, para além das adulterações. Sendo assim, é importante conscientizar os produtores sobre os fatores que originam resíduos no leite bovino e a importância da implementação de medidas para prevenção, bem como a utilização correta de medicamentos veterinários a fim de evitar que os resíduos destes antimicrobianos estejam presentes no produto final que é consumido pela população (PEREIRA e SCUSSEL, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A problemática do leite bovino e o uso indiscriminado da antibioticoterapia, bem como a desinformação de produtores a respeito das condições ideais para garantir a inocuidade do leite, têm por característica a geração de resíduos de antibióticos no leite. Estes medicamentos são prejudiciais: ao meio ambiente, pelo descarte de resíduos em ambientes aquáticos; às indústrias de derivados, pela inibição das bactérias lácticas; à saúde humana, pois causam diversos danos a curto e a longo prazo, tais como o desenvolvimento de reações alérgicas, a dificuldade do tratamento de infecções futuras por possíveis resistências geradas pela exposição contínua a determinado antimicrobiano, e podem afetar também o equilíbrio da flora intestinal.

Por estes fatores, a importância que a informação de como garantir a qualidade do leite chegue aos principais produtores é essencial para que o produto seja seguro para o consumo, sendo necessárias a implementação de leis e fiscalizações por órgãos governamentais responsáveis que, no Brasil, são o MAPA e a ANVISA. Estes órgãos são essenciais para fiscalizar os parâmetros nutricionais e para a verificação de resíduos a fim de garantir um leite seguro e de qualidade para a população consumidora.

Em função disso, e da importância de garantir e fiscalizar os parâmetros de qualidade de uma matriz tão nutritiva e consumida mundialmente, é importante que os produtores, órgãos de fiscalização vigentes e consumidores estejam atentos à certificação do produto que estão oferecendo/consumindo. E que o rigor na fiscalização e nos parâmetros necessários para um leite de qualidade sejam bem estabelecidos e aplicados, a fim de diminuir os efeitos prejudiciais dos resíduos de antimicrobianos no leite bovino.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, ANVISA. Curso de cooperação técnica entre a ANVISA e a Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS, em parceria com Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública – CGLAB/SVS/MS e Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP. **Módulo 1: Antimicrobianos - Bases teóricas e uso Clínico/ III. Antimicrobianos - principais grupos disponíveis para uso clínico: β -Lactâmicos.**, 2021. Disponível em: <https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/lactamicos.htm>. Acesso em: 15 Março 2021.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, ANVISA. PAMVet - Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal, Relatório 2006-2007, Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo, Junho, 2009. Disponível em: <<https://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/395364/PAMVet-Monitoramento+de+Res%C3%ADduos+em+Leite+Exposto+ao+Consumo+-+Relat%C3%B3rio+2006-2007/4777c371-e5b5-42e0-9c3f-43670009a802>>. Acesso em: 04 Setembro 2020.
- AZEVEDO, S. M. M. **Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos**. UFP - Universidade Fernando Pessoa. Porto, Portugal. 2014.
- BIORENDER.COM. **Biorender**. Disponível em: <<https://biorender.com/>>.
- BRASIL. **Portaria N° 109, de 25 de abril de 2018**. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Brasil, p. 17-20. 2018.
- BRASIL. **Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC / Animal**. MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. [S.l.]. 2019.
- BRASIL, R. B. et al. Aspectos da qualidade do leite relacionados à ordenha manual e mecânica - revisão de literatura. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 2 Ed.189 Art.1274, 2012.
- BRESSAN, M.; MARTINS, M. C. Segurança alimentar da cadeia produtiva do leite e alguns de seus desafios. **Revista de Política Agrícola**, v. XIII, n. 3, Jul./Ago./Set. 2004.
- CADES, M. et al. PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE MASTITE BOVINA EM PROPRIEDADE LEITEIRA NO MUNICÍPIO DE MONTE NEGRO/RO. **RBCA**, v. 6, n. 1, p. 1-62, 2017. ISSN 2317-5729.
- CORDEIRO, R. C. G. **Processo de produção do leite pasteurizado e produtos lácteos a partir de leite cru bovino**. UFERSA- Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró, RN. 2018.
- CRAM.COM, 2021. Disponível em: <<https://www.cram.com/flashcards/antibacs-i-anaerobes-opporinfections-3059782>>. Acesso em: 15 mar. 2021.
- EMBRAPA. Anuário do leite 2019: novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. **Embrapa Gado de Leite - Fôlder / Folheto / Cartilha (INFOTECA-E)**, 2019. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>>. Acesso em: 23 Setembro 2020.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Milk and dairy products in human nutrition**, 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i3396e/i3396e.pdf>>. Acesso em: 23 Fevereiro 2021.

FAO/WHO. Codex Alimentarius. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/>>. Acesso em: 05 Março 2021.

FERREIRA, R. G. et al. Panorama da ocorrência de resíduos de medicamentos veterinários em leite no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 30-49, 2012.

GDP. Annual Review 2016. **Global Dairy Platform**, 2017. Disponível em: <<https://www.globaldairyplatform.com/wp-content/uploads/2018/04/2016-annual-review-final.pdf>>. Acesso em: 23 Fevereiro 2021.

GUARDABASSI, L.; KRUSE, H. Princípios da utilização prudente e racional de antimicrobianos em animais. **Guia de antimicrobianos em veterinária**, 2010. 17-30.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, IBGE. Pesquisa trimestral do Leite, 2020. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?=&t=destaques>>. Acesso em: 23 Setembro 2020.

JANK, L. **AValiação da Incidência de Antimicrobianos em Produtos de Origem Animal**. UFRGS - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Porto Alegre, RS. 2017.

JBPML. Nossa capa: Alexander Fleming e a descoberta da penicilina. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 5, p. 1, Outubro 2009. ISSN 1676-2444.

JÚNIOR, N. L. **Resíduos de antimicrobianos no leite e sua importância para a saúde pública**. UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Garanhuns, PE. 2018.

LISITA, M. O. **Influência da temperatura de armazenamento de leite cru na vida de prateleira de leite UHT em embalagem flexível e estocagem sob luz**. UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas. [S.l.]. 2010.

LOBATO, C. L. D. S.; DE LOS SANTOS, J. R. G. Resíduos de Antibióticos no Leite: Causas e impactos para a Indústria e Saúde Pública. **Science and Animal Health**, v. 7, n. 3, p. 232-250, Setembro/Dezembro 2019. ISSN 2318-356X.

LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

MAPA. **IN 42/1999: Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal**. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, MAPA; SECRETARIA DE DEFESA AGRÁRIA, SDA. BRASIL. 1999.

MAPA. **IN 51/2002 - Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel**. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, MAPA; SECRETARIA DE DEFESA AGRÁRIA, SDA. BRASIL. 2002.

MAPA. **IN 77, de 26 de novembro de 2018 - Critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no Serviço de inspeção oficial**. Diário Oficial da União, edição 230, seção 1. Brasília, p. 10. 2018.

MAPA. **IN76, de 26 de novembro de 2018 - Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A.** Diário Oficial da União, edição 230, seção 1. [S.l.], p. 9. 2018.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/conheca-o-dipoa>>. Acesso em: 02 Março 2021.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/sif>>. Acesso em: 02 Março 2021.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/sif/servico-de-inspecao-federal-sif>>. Acesso em: 02 Março 2021.

MARTIN, J. G. P. Resíduos de Antimicrobianos em Leite - Uma Revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 80-87, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Uso de antibióticos - orientações. **Biblioteca Virtual em Saúde**, 2015. Disponível em: <<https://bvsmis.saude.gov.br/dicas-em-saude/2128-uso-correto-de-antibioticos>>. Acesso em: 09 Março 2021.

MORITZ, F.; MORITZ, C. M. F. Resistência aos antimicrobianos em Staphylococcus spp. associados à mastite bovina. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 3, n. 2, p. 132-136, 2016.

NORO, G. **Síntese e secreção do leite**, 2001. Disponível em: <<https://docs.ufpr.br/~freitasjaf/artigos/sinteseleite.pdf>>. Acesso em: 14 Dezembro 2020.

OUROFINO SAÚDE ANIMAL. OuroFino Saúde Animal. **Controle de resíduos de antimicrobianos no leite**, 2017. Disponível em: <<https://www.ourofinoemcampo.com/ourofinoemcampo/categoria/artigos/controle-de-residuos-de-antimicrobianos-no-leite/>>. Acesso em: 22 Março 2021.

PACHECO-SILVA, É.; SOUZA, J. R. D.; CALDAS, E. D. Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 111-122, 2014.

PEREIRA, M. N.; SCUSSEL, V. M. Resíduos de antimicrobianos em leite bovino: fonte de contaminação, impactos e controle. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 16, n. 2, p. 170-182, 2017.

REGO, E. C. P. et al. Produção de material de referência certificado para análises de alimentos: cloranfenicol em leite. **Metrologia**, Fortaleza-CE, p. 1-4, 2017.

ROSÁRIO, N. A.; GRUMACH, A. S. Alergia a beta-lactâmicos na clínica pediátrica: uma abordagem prática. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 5 (supl), p. S181-S186, 2006.

SANGALI, E. et al. **Controle de Qualidade do Leite, uma Abordagem Sobre Produção, Manejo e Higiene**. FAI - Faculdade de Itapiranga. [S.l.]. 2018.

SILVA, R. M. D.; SILVA, R. C. D.; RIBEIRO, A. B. Resíduos de Antibióticos em Leite. **SaBios: Rev. Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, p. 30-44, Jan/Abr 2012.

SIQUEIRA, K. B. O Mercado Consumidor de Leite e Derivados. **Circular Técnica 120, EMBRAPA**, Juiz de Fora, MG, Julho 2019. ISSN 1678-037X.

VIANA, G.; FERRAS, R. P. R. A cadeia produtiva do leite: Um estudo sobre a organização da cadeia e sua importância para o desenvolvimento regional. **Revista Capital Científico**, Guarapuava - PR, v. 5, n. 1, p. 23-40, Dezembro 2007.

VILELA,. A importância econômica, social e nutricional do leite. **Revista Batavo**, v. 111, 2001.

WATTIAUX, M. A. COOMPOSIÇÃO DO LEITE E SEU VALOR NUTRICIONAL. **Essenciais em Gado de Leite**, 2015. 73-76.