

AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE KITS COMERCIAIS PARA DETECÇÃO DE CIPROFLOXACINA EM LEITE BOVINO

Rosângela Silveira Barbosa¹, Maira Balbinotti Zanela¹, Fernanda Moreira Oliveira², Renata Dias Dalbann², Joice da Silva Ramson², Rogério Morcelles Dereti³, Fabiano Barreto⁴, Marcelo Bonnet Alvarenga¹

¹Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Brasil. ²Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial do CNPq, Programa Leite Seguro, Laboratório de Qualidade do Leite, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Brasil. ³Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Brasil. ⁴Laboratório Federal de Defesa Agropecuária (LFDA-RS/MAPA), Porto Alegre, Brasil

INTRODUÇÃO

As quinolonas são um grupo de antibióticos amplamente utilizados nas fazendas leiteiras para tratamento de várias doenças. Das quinolonas derivam as fluorquinolonas que comparativamente apresentam maior eficácia antimicrobiana, com grande espectro antibacteriano, como a ciprofloxacina (CIP). A CIP é utilizada na medicina veterinária principalmente para tratar da mastite bovina, prevenindo a replicação do DNA bacteriano de bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas. Isto se deve a ação deste antibiótico como inibidor da DNA girase, uma enzima envolvida neste processo.

O uso de antibióticos, como a CIP, pode eliminar resíduos no leite, que não podem estar presentes em níveis que coloquem em risco a saúde do consumidor de acordo com o Codex Alimentarius. O uso destes medicamentos pode causar reações alérgicas em humanos, aumentar a resistência antibiótica de bactérias, ainda podem induzir problemas na fabricação de produtos derivados (FAO, 2009).

No Brasil, a detecção de resíduos pelo uso de kits comerciais para controle dessas substâncias foi autorizada e aprovada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Os quais, são testes qualitativos de triagem geralmente baseados na inibição do crescimento microbiano, testes imunológicos e enzimáticos com receptores específicos. Porém, nem todos são capazes de detectar quinolonas nos níveis de Limite Máximo de Resíduos (LMR) ou próximos, o que ocorre nos métodos microbiológicos baseados na inibição de *Geobacillus stearothermophilus*, que detectam antibióticos β lactâmicos de forma eficiente e, em alguns casos, tetraciclinas (Roca et al., 2010).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho de kits analíticos para detectar ciprofloxacina em amostras de leite bovino.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido com dados de um experimento do Programa Leite Seguro, em 2022, no rebanho experimental do Sistema de Pesquisa e Desenvolvimento em Pecuária Leiteira (SISPEL). O antibiótico Ciprofloxacina (100 mg) foi aplicado via intramamária, conforme protocolo da bula, durante 3 dias consecutivos, aplicado após a ordenha da manhã, em 4 vacas Jersey em lactação. O tempo de carência deste antibiótico é de dois dias posteriores após a última aplicação do tratamento.

Os animais foram selecionados por apresentarem características semelhantes quanto a dias de lactação (200 DEL), produção de leite (15 kg), composição e contagem de células somáticas abaixo de 200 mil cél/mL.

A vacas foram ordenhadas em ordenhadeira balde ao pé, individualmente, sendo coletada uma alíquota de leite de 50 mL nas ordenhas (manhã e tarde) durante 3 dias, sendo uma antes da aplicação do medicamento (D0) e as demais durante o período de tratamento.

As amostras foram armazenadas em frascos sem conservantes e refrigeradas até a realização da pesquisa de resíduos utilizando os kits analíticos Charm® Blue Yellow II Test e o Devoltest® T- métodos de inibição de crescimento microbiano, e o Charm®

ED Brasil - método imunoenzimático com receptor específico para o grupo quinolona, o qual pertence a Ciprofloxacina. Cada um desses kits apresenta uma faixa de sensibilidade a determinados antibióticos, que estão em acordo com o Limite Máximo de Resíduo (LMR), em conformidade com o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCRC). O Charm® Blue Yellow II Test e o Devoltest® T não apresentam sensibilidade à quinolonas de acordo com suas especificações de sensibilidade, já o Charm® ED Brasil pode detectar quinolonas numa faixa de detecção de 10 a 15 ppb, sendo estipulado um LMR de 100 ppb para este antibiótico. Os dados foram avaliados por estatística descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, observa-se que os kits comerciais Charm® Blue Yellow II Test e Devoltest® T detectaram o antibiótico presente no leite ordenhado na tarde, aproximadamente 10 h após sua aplicação, sugerindo uma maior concentração de Ciprofloxacina no leite nesse período, com exceção apenas da amostra B no primeiro dia de coleta na ordenha da tarde. A avaliação com Charm® ED Brasil apontou a presença de quinolona até mesmo na ordenha da manhã sugerindo maior sensibilidade para este antibiótico.

Tabela 1 - Resultados da detecção de ciprofloxacina no leite de animais em tratamento, pelos kits comerciais para pesquisa de resíduos de antibióticos

A*	1	Manhã	N	N	N
B*	1	Manhã	N	N	N
C*	1	Manhã	N	N	N
D*	1	Manhã	N	N	N
A	1	Tarde	P	P	P**
B	1	Tarde	N	N	P
C	1	Tarde	P	P	P
D	1	Tarde	P	P	P
A	2	Manhã	N	N	P
B	2	Manhã	N	N	P
C	2	Manhã	N	N	P
D	2	Manhã	N	N	P
A	2	Tarde	P	N	N
B	2	Tarde	P	N	N
C	2	Tarde	P	N	N
D	2	Tarde	P	N	N
A	3	Manhã	N	N	P
B	3	Manhã	N	N	P
C	3	Manhã	N	N	P
D	3	Manhã	N	N	P
A	3	Tarde	P	P	P
B	3	Tarde	P	P	P
C	3	Tarde	P	P	P
D	3	Tarde	P	P	P

*Antes da aplicação do medicamento. **P = positivo para antibiótico do grupo quinolona.

Portanto, mesmo que os testes Charm® Blue Yellow II Test e o Devoltest® T não sejam indicados para detectar quinolonas nos níveis de LMR, este estudo demonstra a possibilidade de resultados positivos, caso não seja seguido corretamente o período de carência, podendo ter descarte de leite na indústria, consequentemente, causando prejuízos aos produtores.

As análises com cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) estão sendo realizadas para verificar as concentrações de Ciprofloxacina que foram detectadas nas amostras utilizadas neste trabalho.

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Charm® Blue Yellow II Test e Devoltest® T foram capazes de detectar quinolonas em leite bovino no período de tratamento com o antibiótico ciprofloxacina. O que demonstra que mesmo não tendo indicação para detecção deste tipo de antibiótico, podem detectar a presença de resíduo se não for respeitado o período de carência. O Charm® ED Brasil detectou resíduo de ciprofloxacina durante todo o período de tratamento. O estudo cromatográfico complementar irá quantificar o resíduo detectado possibilitando maiores inferências com relação a sensibilidade dos kits utilizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. **Producción de alimentos de origen animal: código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos – CAC/RCP 57-2004**. 2ª ed. Roma: FAO/OMS; 2009.
Roca, M., Castillo, M., Martí, P., Althaus, R. L., Molina, M. P. Efeito do aquecimento na estabilidade de quinolonas no leite. **Jornal de química agrícola e alimentar**, v.58, n.9, p.5427-5431, 2010.

AGRADECIMENTOS

Ao Fundo de Defesa de Direito Difuso do Consumidor pelo apoio financeiro, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de estudo.