

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIA

**RESÍDUOS DE LACTONAS MACROCÍCLICAS NO LEITE BOVINO**

**UGO ARAÚJO SOUZA**

PORTO ALEGRE

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**RESÍDUOS DE LACTONAS MACROCÍCLICAS NO LEITE BOVINO**

Autor: Ugo Araújo Souza

Orientadora: Liris Kindlein

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Inspeção de Produtos de Origem Animal e Tecnologia para o Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS.

PORTO ALEGRE

2013

CIP - Catalogação na Publicação

Araújo Souza, Ugo  
RESÍDUOS DE LACTONAS MACROCÍCLICAS NO LEITE  
BOVINO / Ugo Araújo Souza. -- 2013.  
58 f.

Orientadora: Liris Kindlein.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Ciências Veterinárias . 2. Inspeção de Produtos de Origem Animal e Tecnologia. 3. Resíduos de Medicamentos Veterinários no Leite. I. Kindlein, Liris , orient. II. Título.

**Ugo Araújo Souza**

**RESÍDUOS DE LACTONAS MACROCÍCLICAS NO LEITE BOVINO**

Aprovado em 30 de Abril de 2013.

APROVADO POR:

---

Prof. Dra. Liris Kindlein  
Faculdade de Veterinária – UFRGS  
Orientadora e Presidente da Banca

---

Prof. Dra. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards  
UFSM Santa Maria-RS  
Membro da Banca

---

Prof. Dra. Saionara Araújo Wagner  
FAVET/UFRGS Porto Alegre-RS  
Membro da Banca

---

Prof. Dra. Márcia Monks Jantzen  
FAVET/UFRGS Porto Alegre-RS  
Membro da Banca

## **DEDICATÓRIA**

À minha mãe Maria Jailsa e ao meu pai João Vianney,  
aos meus irmãos, João Vianney Jr, Igor e Iury  
A Anelise Webster minha esposa e maior incentivadora.  
Dedico a vocês meu “PRIMEIRO ATO”

## AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Liris Kindlein pela oportunidade de realizar o mestrado.

Aos colegas e amigos do laboratório CEPETEC em especial a Rita Cássia, Maurício Fischimann, Jonas Coruja, Daniele Bonfada, Ana Fossati, Bruna Santos, Tamara Zinn, Victória Rosa, Guilherme Asmus e Humberto Gonçalves pela amizade, convivência e aprendizado.

A todos do Instituto de Pesquisa Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF) pelo apoio e oportunidade de realizar esse projeto.

Ao Dr. João Ricardo Martins pela amizade, exemplo de homem e profissional e pela oportunidade de fazer parte da equipe do Laboratório de Parasitologia do IPVDF.

Ao amigo, orientador, exemplo de pessoa e profissional Dr. José Reck Jr pelas discussões, sugestões e ajuda imprescindíveis na realização desse projeto.

Ao Dr. Guilherme Klafke do Laboratório de Parasitologia do IPVDF pelas dicas e contribuições.

Ao Dr. Prof. João Carlos Gonzalez, pela convivência e experiência passada e pela grande contribuição à Parasitologia do nosso País.

Ao Dr. Rogério Rodrigues do Laboratório de Epidemiologia do IPVDF pela ajuda na realização das análises estatísticas.

Ao amigo Bruno Dall'Agnol pela convivência e ajuda.

Aos colegas do Laboratório RPM do LANAGRO-RS, Gabriel Rubensam e Fabiano Barreto, pela confiança e ensinamentos na realização das análises laboratoriais, etapa essencial desse projeto.

A CAPES e a UFRGS que possibilitaram a realização dessa etapa da minha vida profissional com a bolsa de estudos.

A minha Mãe Maria Jailsa e ao Meu Pai João Vianney (*in memoriam*) por terem mostrado o valor da família e da amizade e pelo que sou.

Aos meus irmãos João Vianney Jr, Igor e Iury pela confiança e apoio fazendo com que a saudade não me deixasse recuar.

Ao meu Tio Dívio, pelo apoio, preocupação e incentivo na realização dessa etapa da minha vida.

A minha tia Lourdes, pelo apoio e visitas ao Rio Grande do Sul, amenizando a saudade da família.

A toda a minha família que de longe sempre mandou força.

Ao amigo e Médico Veterinário Marcelo Araújo, pelas idéias, conversas e amizade.

A minha sogra Maria Rita Webster, exemplo de profissional, mãe, mulher e amiga pelo apoio, incentivo e ajuda.

A todos os membros da família da minha esposa que me adotaram e fizeram eu me sentir da família desde primeiro momento, em especial à avó Myrtem Webster pelo carinho e preocupação constante.

A minha amada esposa Anelise Webster por me mostrar o caminho da evolução como pessoa e profissional, minha maior incentivadora na realização do mestrado, Te amo.

A todos meu muito OBRIGADO.

## RESUMO

O controle de resíduos químicos em produtos de origem animal no Brasil é regulamentado por órgãos fiscalizadores através de programas como o Plano Nacional de Controle de Resíduos (PNCR) e o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários (PAMVet), visando a garantia de segurança alimentar ao consumidor. As práticas adotadas na produção agropecuária, entretanto, envolvem o uso de fármacos para o controle de doenças infecciosas e parasitárias nos animais. As lactonas macrocíclicas (LMs) são drogas veterinárias eficazes no controle de endo e ectoparasitas, sendo amplamente utilizadas na bovinocultura leiteira. Assim, o objetivo do presente estudo foi determinar a presença de resíduos de LMs no leite de rebanhos bovinos e identificar possíveis fatores de risco associados em propriedades leiteiras das regiões Noroeste e Sul do Estado do Rio Grande do Sul – Brasil. Foram coletados 72 amostras de leite de tanques resfriadores de propriedades de agricultura familiar das regiões Noroeste (55) e Sul (17) do Estado do Rio Grande do Sul. Foram adquiridas 60 amostras de leite *ultra-high temperature (UHT)* em estabelecimentos comerciais para análise de resíduos de LMs. Os resíduos das LMs foram extraídos do leite bovino pela adição de acetonitrila e foram purificados pelo congelamento dos co-extratos da matriz com temperatura de aproximadamente  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O extrato purificado foi analisado por LC-MS/MS. Entre as 72 amostras, 18 (25 %) apresentaram resíduos de LMs, cujos ingredientes ativos identificados foram: ivermectina (n=15), ivermectina e moxidectina (n=1), moxidectina (n=1) e abamectina (n=1). A região Sul do Estado apresentou 35,3 % (6/17) das amostras com resíduos de LMs enquanto que a região Noroeste 21,8 % (12/55), as maiores concentrações encontradas foram de  $2,48\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$  para ivermectina,  $2,73\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $1,69\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$  para moxidectina. Os resíduos encontrados nas amostras de leite estavam abaixo do limite estabelecido pelo *Codex Alimentarius* ( $<10\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), porém esses medicamentos não devem ser utilizados em animais lactantes cujo leite seja destinado ao consumo humano. Os resultados indicam a utilização inadequada de antiparasitários nos rebanhos leiteiros estudados. Conclui-se que o leite das propriedades leiteiras das regiões Noroeste e Sul do Estado do Rio Grande do Sul estudadas apresentam resíduos de LMs. Nas amostras de leite *UHT* não foram detectados resíduos de LMs.

**Palavras chave:** antiparasitários, endectocidas, bovinocultura leiteira, resíduos.

## ABSTRACT

The control of chemical residues in animal products in Brazil is regulated by regulatory agencies through programs such as the National Residue Control (PNCR) and the Program for Residue Analysis of Veterinary Drugs (PAMVet), aimed at ensuring food security to consumer. The practices adopted in agricultural production, however, involve the use of drugs to control infectious and parasitic diseases in farm animals. The macrocyclic lactones (ML) are effective in controlling endo and ectoparasites, being widely used in dairy cattle. The objective of this study was to determine the presence of ML residues in milk from cattle and identify possible risk factors associated of Northwest and South regions of Rio Grande do Sul state, Brazil. Were acquired 60 samples of milk in shops for residue analysis LMs. We collected 72 samples of milk cooling tanks from smallholder properties located in Northwest (55) and South (17) regions of Rio Grande do Sul state. Samples were processed to investigate residues of ML, and they were extracted from bovine milk by addition of acetonitrile and purified by freezing of the matrix co-extracts at  $-20^{\circ}\text{C}$ . The purified extract was analyzed by LC-MS/MS. Among the 72 samples, 18 (25 %) had ML residues whose active ingredients identified were: ivermectin ( $n = 15$ ), moxidectin and ivermectin ( $n = 1$ ), moxidectin ( $n = 1$ ) and abamectin ( $n = 1$ ). The Southern part of state presented (35,3 %; 6/17) and Northwest region presented (21,8 %; 12/55) occurrence of ML residues in milk. the highest concentrations found were  $2.48\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  for ivermectin  $2.73\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  and  $1.69\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  for moxidectin. The residue found in milk samples were below the limit established by *Codex Alimentarius* ( $<10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). However, these drugs cannot be used in lactating animals which milk will be destined to human consumption. The results indicate a improper use of antiparasitic drugs in dairy herds studied. We can concluded that milk from dairy farms from Northwest and South regions of Rio Grande do Sul state have ML residues. In the samples of milk UHT were not detected residues LMs.

**Key words:** antiparasitic, endectocides, dairy cattle, residues.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtividade e evolução da produção de leite nos estados da região sul do Brasil em 2009 a 2011.....	17
Tabela 2 - Limites de referência para antiparasitários no leite.....	22
Tabela 3 - Perfil do produtor familiar das propriedades leiteiras visitadas.....	32
Tabela 4 - Perfil das propriedades leiteiras das regiões Sul e Noroeste do Rio Grande do Sul.....	33
Tabela 5 - Amostras positivas para resíduos de lactonas macrocíclicas.....	36
Tabela 6 - Concentrações dos ingredientes ativos encontrados na amostras de leite.....	37
Tabela 7 - Análise das variáveis relacionadas com o risco associado à presença de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite.....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS

µg	Micrograma
ABA	Abamectina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPAs	Boas Práticas Agropecuárias
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CONSEA	Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional
DOR	Doramectina
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPR	Eprinomectina
FEPAGRO	Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> , Organização das Nações Unidas Para Alimentação e Agricultura
g	Grama
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDA	Ingestão diária aceitável
IPVDF	Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor
IVR	Ivermectina
JMPR	<i>Joint Meeting on Pesticides Residues</i>
Kg	Quilograma
L	Litros
LANAGRO-RS	Laboratório Nacional Agropecuário – Rio Grande do Sul
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada á espectrometria de massas
LMR	Limite máximo de resíduos
LMs	Lactonas macrocíclicas
LQM	Limite de quantificação do método
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MDA	Ministério do Desenvolvimento Agrário
MERCOSUL	Mercado comum do Sul
MOX	Moxidectina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMvet	Programa nacional de análise de medicamentos veterinários em alimentos
PNCR	Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal
PNQL	Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite
PRONAF	Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RPM	Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas e Medicamentos Veterinários – LANAGRO-RS

SEAPA	Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio
SINDAN	Sindicato nacional da indústria de produtos para a saúde animal
UHT	<i>Ultra-high temperature</i>
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Produção de Leite .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Agricultura Familiar .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>Qualidade do leite.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4</b>	<b>Monitoramento de resíduos no leite .....</b>	<b>20</b>
<b>2.5</b>	<b>Lactonas macrocíclicas .....</b>	<b>23</b>
<b>2.6</b>	<b>Presença das lactonas macrocíclicas no leite .....</b>	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Pesquisa de campo para aplicação de questionários em propriedades leiteiras.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Coleta de amostras de leite .....</b>	<b>29</b>
4.2.1	Coletas de amostras de leite de rebanhos leiteiros de propriedades de agricultura familiar.....	29
4.2.2	Coleta das amostras de leite <i>ultra-high temperature (UHT)</i> .....	30
<b>4.3</b>	<b>Análises da detecção de resíduos de lactonas macrocíclicas em amostras de leite.....</b>	<b>30</b>
<b>4.4</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>5.1</b>	<b>Perfil da agricultura familiar produtora de leite no Rio Grande do Sul.....</b>	<b>32</b>
<b>5.2</b>	<b>Análise de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite.....</b>	<b>36</b>
5.2.1	Amostras de leite das propriedades leiteiras.....	36
5.2.2	Análise dos fatores de risco associados à presença de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite.....	40
5.2.3	Amostras de leite <i>ultra-high temperature (UHT)</i> .....	41
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>
	<b>APÊNDICE .....</b>	<b>54</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil, por ter condições climáticas e solo com características e diversidades que proporcionam grande potencial agropecuário, está entre os países com maior produção de alimentos do mundo (FAO, 2010). Sendo o segundo maior rebanho leiteiro do mundo e o terceiro maior produtor mundial de leite, com uma produção de 33,2 milhões de toneladas de leite ficando atrás apenas dos Estados Unidos, que aparecem em primeiro lugar com aproximadamente 88 milhões de toneladas, e da Índia, com 52 milhões (LUCHIARI, 2006; IBGE, 2012).

A produção leiteira brasileira vem crescendo 3,4 % ao ano, podendo chegar a cerca de 40,25 bilhões de litros até 2020. Mesmo com o consumo interno em expansão, a produção pode atingir um excedente de leite em torno de 4,5 bilhões de litros no ano de 2020, sendo que esse excedente destinado à exportação pode representar 12 % da produção brasileira (CARVALHO *et al.*, 2007; BRASIL, 2010).

No Estado do Rio Grande do Sul, a mudança do cenário brasileiro e a chegada das grandes indústrias no final dos anos 90, tornou a produção mais competitiva, levando a um aumento na produção leiteira, perfazendo de 2,36 bilhões de litros em 2002 para 3,93 bilhões de em 2011, perfazendo um crescimento de 66,5 % na produção de leite em 9 anos (MARION *et al.*, 2011; CASALI, 2012).

Atualmente, com o avanço do melhoramento genético e com as exigências de alta produtividade e menores custos de produção, há uma tendência ao uso indiscriminado de medicamentos veterinários com a finalidade torná-los mais produtivos e resistentes a doenças (CHICARINO, 2007).

A utilização de medicamentos veterinários é uma prática amplamente empregada e de grande valia para a profilaxia e tratamento de enfermidades em animais de produção, seu uso deve ser acompanhado de Boas Práticas Agropecuárias (BPAs) e seguir as indicações de uso, tempo de carência e dosagem informada pelos fabricantes (SPISSO *et al.*, 2009; FAO, 2010). Entretanto, o uso indiscriminado e não orientado destes medicamentos pode levar a presença de resíduos nos alimentos de origem animal.

Os valores dos Limites Máximos de Resíduos (LMR) estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* são aplicados ao comércio internacional e, no caso dos antiparasitários, são provenientes de estimativas feitas pela *Joint Meeting on Pesticides Residues (JMPPR)*, considerando a determinação toxicológica dos agrotóxicos e de seus resíduos, bem como as revisões dos dados de resíduos obtidos de testes e usos supervisionados (FAOSTAT,

2008; BRASIL, 2010). Entretanto, ainda há deficiências no controle relacionado à presença de resíduos destas substâncias químicas nos produtos de origem animal disponíveis no mercado (LOBATO, 2001).

As avermectinas (ivermectina, abamectina, doramectina e eprinomectina) e as milbemicinas (moxidectina) pertencem ao grupo das Lactonas Macroclínicas (LMs) são conhecidas como endectocidas por terem ação contra endoparasitas e ectoparasitas, sendo uma alternativa bastante interessante ao produtor, possibilitando o controle das parasitoses com um único produto (SHOOP *et al.*, 1995; MARTINS, 2006).

A presença de resíduos nos alimentos de medicamentos veterinários em níveis acima dos permitidos pela legislação nos alimentos, destacando os antiparasitários que são aplicados no rebanho bovino, no combate aos endo e ectoparasitas, compromete a saúde da população e tende a inibir as relações de exportação/importação entre países (OMS, 1999; FAO, 2003; SANCHES, 2003; SOUZA *et al.*, 2007).

As substâncias antiparasitárias são medicamentos de uso frequente na medicina veterinária, sendo encontrada no mercado uma ampla gama de produtos, a utilização incorreta e a falta de Boas Práticas Agropecuárias (BPAs) por parte do produtor pode deixar resíduos e acarretar problemas, sendo necessários estudos para avaliar seus efeitos na saúde do consumidor pela ingestão, controle e prevenção desses resíduos (BELTRANE, 2005; BRASIL, 2009).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), juntamente com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) criaram programas como o Plano Nacional de Controle de Resíduos (PNCR) e o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários (PAMVet) para analisar a presença de resíduos químicos em alimentos de origem animal (BRASIL, 2003; ANVISA, 2003; NETTO *et al.*, 2005).

Este trabalho teve como objetivo determinar a presença de resíduos de lactonas macroclínicas no leite de bovinos e identificar possíveis fatores de risco associados em propriedades leiteiras da região Noroeste e Sul do Rio Grande do Sul, gerar e ampliar as discussões sobre resíduos de antiparasitários em alimentos de origem animal, limites Máximo de resíduos e políticas de controle sanitário e saúde humana.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Produção de Leite

A ascensão da produção de leite no Brasil vem desde a década de 1990, quando se tornou economicamente mais diversificado, modificando assim o ambiente competitivo do mercado. Para o setor leiteiro ocorreu a desregulamentação do mercado, onde o governo cessou o tabelamento dos preços do leite e seus derivados, abrindo assim a economia brasileira. A inserção do Brasil no MERCOSUL facilitou a entrada de produtos industrializados de países vizinhos como Argentina e Uruguai, levando a uma mudança de postura das empresas no país, que buscaram adaptar-se ao novo mercado realizando investimentos em maiores escalas, gerando grandes indústrias no setor agropecuário (CARVALHO, 2002; GUIMARÃES, 2008; MARION *et al.*, 2011). No ano de 2004 a atividade leiteira no Brasil alcançou uma produção superior ao que era consumido, passando de status de país importador para país exportador de produtos lácteos (BRASIL, 2004; CARVALHO 2007; PITHAM *et al.*, 2008).

Com produção aumentando consideravelmente ano após ano, valores divulgados pela Pesquisa da Pecuária Municipal pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) apontam o Brasil como o terceiro maior produtor mundial de leite no ano de 2011, com uma produção de 32,1 bilhões de litros de leite, ficando atrás de países como Estados Unidos que aparecem em primeiro lugar com aproximadamente 85 bilhões de litros e da Índia, com 50 bilhões (IBGE, 2012). O Brasil com o segundo maior rebanho de gado leiteiro do mundo com 23.5 milhões de cabeças sendo responsável por cerca de 5 % da produção mundial de leite mostra que essa atividade apresenta importância socioeconômica para o país e para o mundo (IBGE, 2012).

Os produtores de leite no Brasil podem ser classificados de duas formas: produtores especializados e produtores pouco ou nada especializados. Estes últimos são produtores com baixa produtividade e pouca tecnologia inserida na produção, sendo compostos na sua maioria por agricultores familiares. Contudo, os produtores especializados representam uma parcela mínima no país atingindo altos índices de produtividade e inseridos na produção em níveis razoáveis de tecnologia (MILINSKI *et al.*, 2008).

A produção de leite no Sul do país vem crescendo consideravelmente. No período de 1990 a 2009 obteve um crescimento de 175,19 %, ultrapassando a região sudeste que

alcançou no mesmo período 50,5 % (MARION, 2011). A região sul representa cerca de 30 % da produção nacional, com cerca de 10 bilhões de litros de leite/ano, sendo considerada esta a região mais importante na elaboração do produto (EMBRAPA, 2011).

Em 2011, o Rio Grande do Sul apresentou a maior produtividade em litros por vaca do país, com 2.536 litros/vaca/ano seguido do Estado de Santa Catarina com 2.478 litro/vaca/ano. No mesmo ano, dados da região sul mostraram que a produtividade por animal foi de 2.473 litros/vaca/ano (Tabela 1), sendo esta uma produtividade considerada baixa se comparada com a produtividade de países especializados como Japão com 9.260 litros/vaca/ano, Estados Unidos com 9.250 litros/vaca/ano e Canadá com 8.400 litros/vaca/ano para o ano de 2008 (USDA, 2010; MARION, 2011; IBGE, 2012).

Tabela 1 - Produtividade e evolução da produção de leite nos estados da Região sul do Brasil em 2009 a 2011.

Região/Estado	Produtividade em 2009 (litros/vaca/ano)	Produtividade em 2011 (litros/vaca/ano)	Evolução da Produtividade em (%)
Brasil	1.297	1.382	6,3
Região Sul	2.324	2,473	6,4
Rio grande do Sul	2.334	2.536	8,5
Santa Catarina	2.397	2.478	3,3
Paraná	2.242	2.404	7,2

Fonte: IBGE, 2012

Estipula-se que até 2050 a produção mundial de alimentos deverá crescer de 70 a 100 % para conseguir suprir a população. No Brasil, com o crescimento da renda da população, espera-se que a demanda interna de produtos lácteos continue crescendo. O consumo de leite *per capita* recomendado pela OMS/FAO é de 210 L/ano, no Brasil o consumo vem aumentando, passando de 130 L/ano em 2006 a 159 L/ano em 2012 (USDA, 2012; IBGE 2012).

De acordo com representantes do setor lácteo, as cooperativas brasileiras são responsáveis por movimentar 40 % da produção nacional de leite. Aproximadamente 70 % dessas cooperativas se enquadram no perfil da agricultura familiar (MDA, 2013; SINDILAT, 2013).

## 2.2 A agricultura familiar

Segundo o IBGE (2006), 84,4 % das propriedades rurais brasileiras são de agricultura familiar, ocupando 24,3 % da área agrícola total do país, sendo responsável por produzir 58 % do leite do Brasil, no Rio Grande do Sul esse número atinge 85,8% das propriedades rurais do estado com características da agricultura familiar. Existem, no Estado do Rio Grande do Sul, 441 mil estabelecimentos rurais e 134 mil produtores de leite, sendo 70 % destes com características de agricultura familiar e produção menor que 100 litros de leite por dia (BORTOLUZZI, 2012).

A região Noroeste tem destaque na produção de leite, e alguns fatores contribuem para que esta região seja responsável por produzir cerca de até 70 % do leite do Estado. Os agricultores procuram diversificar a produção e tem no leite uma fonte de renda mensal, além disto apresentam sistema sustentável pois produzem o alimento fornecido ao gado. Os integrantes da família são os participantes das atividades da propriedade, formalizando uma organização familiar (SCHNEIDER, 2004; MARION, 2011; SINDILAT, 2013).

Segundo Wagner *et al.* (2004), os produtores da agricultura familiar do Rio Grande do Sul não tem na produção de leite a sua única fonte de renda nas propriedades, tem diferentes grau de tecnificação e apresentam recursos de infraestrutura variáveis. O intenso processo de transformação socioeconômico da sociedade brasileira resultou em uma mudança da produção agrícola, fazendo com que os produtores com acesso a tecnificação aumentassem a produção de alimentos, em especial a produção de leite (WAGNER *et al.*, 2004).

### 2.3 Qualidade do leite

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), denomina-se leite, o produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2008). O aproveitamento do leite é permitido quando, as fêmeas se apresentam clinicamente sãs e em bom estado de nutrição, não estejam em fase final de gestação, nem na fase colostrada; não reajam à prova da tuberculina, nem apresentem reação positiva às provas do diagnóstico da brucelose. É obrigatório o afastamento da produção leiteira das fêmeas que se apresentam em caso de magreza extrema; sofrendo de doenças infecto-contagiosas, febris, com mastite, diarreia, corrimento vaginal ou qualquer manifestação patológica (BRASIL, 2008).

A discussão acerca da qualidade do leite no Brasil tem crescido nos últimos anos. Exigência devida pela inserção do país no mercado lácteo externo e também ao aumento do consumo de leite *per capita* do brasileiro, sobretudo o consumo *per capita* e a qualidade do leite no Brasil ainda permanece aquém do recomendado pela FAO/OMS, com um consumo *per capita* em torno de 175 litros ao ano, quando o recomendado é de 200 litros ao ano.

Com o aumento da produção e do consumo, aumenta também as exigências com relação à qualidade do produto produzido. Assim, em 1997 foi criado o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL) – Ação conjunta do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e empresas do setor (ZOCCAL *et al.*, 2004). Sendo o PNQL um conjunto de medidas que visa melhorar a qualidade do leite e derivados lácteos produzidos no Brasil. Mais especificamente o Programa foi criado para padronizar os produtos de acordo com a qualidade internacional recomendada pela FAO/OMS e atender às crescentes exigências do mercado consumidor, colocando o leite brasileiro em condições de competir no futuro com países especializados em pecuária leiteira (BRASIL, 2008).

A exigência e a mudança do estilo de vida dos consumidores levaram ao consumo de leite *UHT*, diminuindo o consumo do leite pasteurizado (SILVEIRA; PEDRAZZI, 2004), pois o leite *UHT* é um produto que atende a conveniência e comodidade dos consumidores, causando uma mudança na cadeia industrial do leite (EMBRAPA, 2003).

De acordo com Lopes (2002), a qualidade da matéria prima destinada ao processamento pela indústria para processamento é resultado das práticas adotadas nas

fontes de produção e a manutenção da qualidade do leite é um dos maiores desafios da cadeia do leite no Brasil, interferindo negativamente na produção de lácteos.

A qualidade do leite *in natura* é influenciada por muitas variáveis, entre as quais se destacam fatores zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos rebanhos e fatores relacionados à obtenção e armazenagem do leite e pode ser definida nutricionalmente e pela composição do leite considerando alguns elementos: componentes lácteos, células somáticas, contagem bacteriana, adulteração por água, resíduos de quimioterápicos e antimicrobianos, qualidade organoléptica e temperatura; além das condições sanitárias (KITCHEN, 1981; MONARDES, 1998).

As organizações internacionais ligadas ao mercado, proteção dos consumidores, saúde animal e sanidade vegetal vêm propondo regulamentos e procedimentos para produção de alimentos higiênicos e seguros na indústria mundial de alimentos com o intuito de minimizar os riscos ao consumidor (VILARINHO, 2006).

O *Codex Alimentarius* pode servir como um guia para orientar os produtores. Em relação aos produtos lácteos, este manual criou critérios para garantir padrões de qualidade higiênicos, como ausência e/ou baixas contagens bacterianas e inocuidade no produto final. Outro ponto importante para essa categoria de alimentos e que é objetivo do *Codex Alimentarius*, é o de evitar a presença de resíduos de medicamentos veterinários, contaminantes químicos e toxinas microbianas, visando o objetivo principal que é o “de proteger a saúde dos consumidores e assegurar práticas justas no comércio de alimentos” (GODKIN, 2000).

## **2.4 Monitoramento de resíduos no leite**

O monitoramento de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal é importante para garantir à população produtos que não apresentem riscos à saúde. Devido à importância do leite e da carne na alimentação humana e do fato de muitos compostos químicos, se acima dos Limites Máximos de Resíduos (LMR) apresentarem efeitos tóxicos ao homem, é essencial o monitoramento desses resíduos em alimentos de origem animal (BRASIL, 2001; ANVISA, 2003; BRASIL, 2010).

O *Codex Alimentarius* classifica como resíduo de droga veterinária a fração da droga, seus metabólitos, produtos de conversão ou reação e impurezas que permanecem nos alimentos provenientes de animais tratados (MIDIO, 1997).

Os valores dos Limites Máximos de Resíduos (LMR) estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* são aplicados ao comércio internacional; no caso dos antiparasitários são provenientes de estimativas feitas pela *Joint Meeting on Pesticides Residues (JMPR)* considerando a determinação toxicológica dos agrotóxicos e de seus resíduos, e também as revisões dos dados de resíduos obtidos de testes e usos supervisionados (FAO/STAT, 2008).

No Brasil, estabelecer os LMRs é competência do Ministério da Saúde. No caso de não estarem estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), utilizam-se os definidos pelo MERCOSUL ou os recomendados pelo *Codex Alimentarius*, os constantes nas Diretivas da União Européia e os utilizados pelo *Food and Drug Administration (FDA)* (BRASIL, 1999). A presença de resíduos em níveis acima dos permitidos pela legislação nos alimentos, destacando os antiparasitários que são aplicados no rebanho bovino, no combate aos endo e ectoparasitas, compromete a saúde da população e tende a inibir as relações de exportação/importação entre países (OMS, 1999; FAO, 2003; SANCHES, 2003; SOUZA *et al.*, 2007).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), juntamente com a ANVISA criaram programas como o Plano Nacional de Controle de Resíduos (PNCR) e o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários (PAMVet) para analisar os alimentos de origem animal (BRASIL, 2003; NETTO *et al.*, 2005).

A ANVISA atua basicamente sobre os estabelecimentos comerciais, como os supermercados, realizando coletas de amostras de diferentes fabricantes. O MAPA atua diretamente com os estabelecimentos produtores de alimentos que atendem ao Serviço de Inspeção Federal (SIF) (SPISSO *et al.*, 2009).

Os medicamentos veterinários que o PAMVet selecionou para o monitoramento de resíduos no leite foram os antimicrobianos e antiparasitários (BRASIL, 2005). Já o PNCR, criado em 1986, é um plano que visa à segurança alimentar, as condições de adaptação às regras do comércio internacional e previsão do controle de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal através da coleta de amostras nos estabelecimentos e análise de resíduos em laboratórios especializados (BRASIL, 1999; BRASIL, 2003).

Os antiparasitários são medicamentos de uso frequente em Medicina Veterinária para controle e prevenção de endo e/ou ectoparasitas (FAGUNDES, 1997). Os produtores e os médicos veterinários têm nos antiparasitários um forte aliado contra os parasitas na

produção animal, sendo esses medicamentos utilizados terapeuticamente e/ou profilaticamente nos rebanhos minimizando prejuízos na produção (UHLINGER, 1993).

Os parasitos externos e internos ocupam lugar de destaque entre os fatores que limita a produção animal. Estes parasitas podem ser controlados com o uso de substâncias químicas que podem ser chamados de pesticidas ou agrotóxicos. Termos utilizados na produção agropecuária onde se referem às substâncias químicas capazes de destruir as pragas, recebendo denominações específicas, conforme seu emprego (antiparasitários, antihelmínticos, endectocidas, inseticidas, fungicidas entre outros) (LARA; BATISTA, 1992; UHLINGER, 1993).

No Brasil, os Limites Máximos de Resíduos (LMR) dos antiparasitários são regulamentados pela Instrução Normativa nº 11, de 22 de maio de 2012 do Programa de Resíduos e Contaminantes em Carnes (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado (BRASIL, 2012). Os limites máximos de resíduos estabelecidos pela normativa estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Limites de referencia para antiparasitários no leite.

Grupo	Analito	Matriz	Limite de Referencia (LMR) ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
Antiparasitários	Abamectina	LEITE	10
	Doramectina		15
	Eprinomectina		20
	Ivermectina		10
	Moxitectina		10

Fonte: Dados extraídos de MAPA, 2012

Tendo o leite como o produto de origem animal mais consumido da população brasileira e o Brasil como o terceiro maior produtor de leite, os planos de controle têm o comum objetivo de avaliar a exposição e o risco que os consumidores estariam correndo com a ingestão de alimentos com resíduos de medicamentos veterinários e com base nos resultados orientar a adoção de políticas nacionais de saúde e de inspeção (ANVISA, 2005; SPISSO *et al.*, 2009; BRASIL, 2009; EMBRAPA, 2012).

Alguns estudos têm demonstrado que a carne, o leite e derivados e os ovos são para o homem as principais fontes de exposição alimentar a resíduos de medicamentos veterinários e agrotóxicos. Essa exposição pode ocorrer como consequência da aplicação

direta de produtos químicos no animal ou quando estes ingerem alimentos (pastagem, forragens e rações) que os contenham (CARVALHO *et al.*, 1980). Devido às suas características físico-químicas, esses produtos químicos são veiculados pelas secreções, musculaturas e vísceras dos animais ou metabolizados antes ou depois da absorção pelo trato intestinal sendo excretados pela urina, fezes e glândulas mamárias, podendo levar a contaminação do leite e da carne (WHO, 1990).

Tais resíduos podem atingir proporções bem acima dos níveis admitidos como “tolerantes” e “seguros”, com implicações toxicológicas para o homem, que é o último elo da cadeia alimentar. A presença de resíduos de inseticidas tem dificultado a exportação dos produtos para mercados mais exigentes, como a Comunidade Européia, Rússia e Japão, grandes importadores de carne bovina do Brasil (HUBER, 1975; SILVA, 2008).

A carne por ser um produto de exportação tem um controle mais efetivo devido a grande exigência dos países compradores, no entanto, o leite, por ser um produto com menor volume de exportação não é fiscalizado como o mesmo rigor, mesmo sendo um alimento de importância na alimentação da população brasileira. Apesar disso, é importante frisar que nem todos os compostos químicos aos quais os animais são expostos deixam resíduos perigosos à saúde humana e animal, mesmo aqueles reconhecidos como potencialmente nocivos (BRASIL, 1999).

Outro problema que compromete o controle de resíduos é que as amostras analisadas pelo PAMvet e pelo PNCR estão no final do sistema produtivo, sendo amostras de leite *UHT* e em pó, por exemplo; quando o problema está ligado diretamente ao produtor, com o leite ainda na propriedade, dificulta uma possível rastreabilidade do produto, prejudicando assim uma intervenção no sentido de solucionar o problema (SPISSO *et al.*, 2009; COSEA, 2011).

## **2.5 Lactonas Macroclícas (LMs)**

As avermectinas (ivermectina, abamectina, doramectina e eprinomectina) e as milbemicinas (Moxidectina) pertencem ao grupo das lactonas macroclícas (LMs) e são drogas veterinárias eficazes no controle de endo e ectoparasitas, sendo produtos de grande utilização na bovinocultura desde seu lançamento. Esses compostos foram obtidos a partir do cultivo e fermentação de um fungo actinomiceto presente no solo chamados de *Streptomyces avermectilis* e *Streptomyces cyanogriseus* nos anos 70 no Japão. A

atividade anti-helmíntica deste caldo de fermentação foi descrita na mesma década por Egerton *et al.* (1979), tendo ainda sido descritas propriedades inseticidas e acaricidas (BURG; STAPLEY, 1989; FISHER; MROZIK, 1989).

A Ivermectina tem destaque no grupo, e é composta de uma mistura que contém no mínimo 90 % de 22,23-diidroavermectina B1a e menos de 10 % de 22,23-diidroavermectina B1b, e foi o primeiro membro das LMs a ser comercializado, a partir de 1981 (YATES *et al.*, 2003). Cinco anos após o início da sua venda no mercado, a ivermectina atingiu aproximadamente 16 % das vendas mundiais de parasiticidas (BLOOMFIELD, 1988). Sendo divulgado pelo SINDAN no ano 2005 que a comercialização da ivermectina e milbemicina, representaram no Brasil vendas de cerca de 290 milhões de reais, o que corresponde a aproximadamente 500 milhões de doses destes medicamentos, demonstrando um potencial de utilização contra os parasitos e o ampla comercialização no país (SINDAN, 2006; KLAFKE, 2011).

No Brasil, 54,2 % do mercado veterinário é destinado a ruminantes, se destacando os antimicrobianos, antiparasitários e imunobiológicos (ABRAPP, 2010). Dos 2.507 medicamentos veterinários registrados no Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Saúde Animal (SINDAN), 179 são derivados das lactonas macrocíclicas. Sendo estes produtos utilizados para o combate dos endoparasitas (helmintos) e dos ectoparasitas (carrapatos, sarna, piolhos, moscas e míases) representando assim a classe de medicamentos com maior movimento comercial, apresentando um faturamento médio anual de 1,5 bilhões no ano de 2012 (SINDAN, 2013).

O mecanismo de ação desta classe consiste em provocar a imobilização dos parasitas induzindo uma paralisia flácida na musculatura. A ação destes compostos é atribuída à ligação de alta afinidade do fármaco aos neurotransmissores glutamato (GIuCI) que controlam os canais de cloro, presentes nas células musculares e nervosas dos invertebrados (SCHAEFFER; HAINES, 1989; CHEESEMAN *et al.*, 2001). A abertura dos canais de cloro acarreta um aumento da permeabilidade da membrana celular aos íons cloreto, com hiperpolarização dos nervos ou células musculares, resultando em paralisia da musculatura somática e morte do parasita (GEARY *et al.*, 1993; ARENA *et al.*, 1992).

As LMs possuem um largo espectro de atividade. Elas são administradas por via oral, subcutânea ou tópica e possuem ação sistêmica. A lipossolubilidade destes compostos favorece a deposição no local de aplicação por via subcutânea, o que prolonga o tempo de permanência deles no organismo. As concentrações nos fluidos orgânicos são

mantidas por longos períodos podendo se acumular no leite. A presença delas no leite pode colocar em risco a saúde dos consumidores (ANVISA, 2006; ALTINO, 2007; BRASIL, 2009).

Certos medicamentos têm um longo período de carência ou são proibidos de serem administrados em animais em lactação, onde o leite tenha como destino o consumo humano. Isto também se aplica a animais de corte em fase de terminação, porém esses medicamentos são usados indiscriminadamente sem orientação do médico veterinário. (FAGUNDES, 1997; COSTA, 2002).

A falta de informação dos produtores, de um sistema de apoio técnico e de fiscalização por parte dos órgãos oficiais contribuem para continuação do problema. O uso destes medicamentos pode ocasionar o aparecimento de resíduos no leite, carne, ovos, pescado e derivados (NETTO *et al.*, 2005). O processo de pasteurização efetuado pelos laticínios não elimina os resíduos destes medicamentos no leite (FURTADO, 1999). Deste modo os esforços visando assegurar a ausência de resíduos no leite devem ser empreendidos nas propriedades produtoras a fim de evitar problemas à saúde da população (WEAVER, 1992).

## **2.6 Presença de Lactonas Macroclílicas no leite**

As lactonas macroclílicas, quando aplicadas no animal, tem ação sistêmica, são absorvidas e logo começam a ser excretadas lentamente pelo organismo, por via fecal ou pelo leite. Sendo a via fecal a principal via de excreção, e no leite essa excreção acontece em baixas concentrações, devido as suas características físico-químicas (ALVINERIE *at al.*, 1999; DANAHER *et al.*, 2006; FLOATE, 2006; KROGH *et al.*, 2008).

O processo de excreção das lactonas macroclílicas no organismo animal ainda não esta bem definida, mas a entrada de substâncias químicas no leite pode ter influência das propriedades fisiológicas da glândula mamária, obedecendo mesmos mecanismos de transporte dos compostos orgânicos (MCMANAMAN *et al.*, 2003; ALTINO, 2007).

Uma fração das LMs é absorvida pelo animal e se mantém em circulação no organismo passando por uma transformação, formando um complexo com as lipoproteínas de alta densidade (HDL) junto com o colesterol, sendo então absorvida por tecidos durante o transporte (BASSISSI *et al.*, 2004). Parte dessas substâncias se direcionam ao fígado via transporte reverso do colesterol, e outra parte chega às proximidades das glândulas mamárias (ALTINO, 2007).

A presença de LMs no leite, mesmo após várias ordenhas, pode ser atribuída aos fatores relacionados à farmacocinética dessas substâncias no gado leiteiro, como a formulação e a via de aplicação (injetável ou *pour-on*) do medicamento, as propriedades físico-químicas das LMs e a espécie animal (relacionada ao teor de gordura da espécie) (DANAHER *et al.*, 2006).

Há, contudo, um consenso de que quanto maior a dose aplicada no gado leiteiro, maior o tempo de permanência das LMs no seu organismo e maior a possibilidade de encontrar concentrações acima dos limites máximos dos resíduos de cada LM no leite. Além disso, assim como outras substâncias, a presença de LMs no leite comercializado em concentrações acima das permitidas pode ser devido ao não cumprimento das BPAs, tempo de carência, ou a não informação na bula sobre a restrição de uso, falta de planejamento estratégico para o manejo do rebanho (SPISSO *et al.*, 2009; FAGUNDES, 1997; COSTA, 2002; RUBENSAM, 2010)

Com a aplicação do PAMvet em 2003, foi dado início a uma série de análises de resíduos de medicamentos veterinários em amostras de leite. O plano de amostragem seguido pelo PAMvet era baseado do *Codex Alimentarius*, que atribuída duas condições básicas para definir o número de amostras: frequência estimada de 1 % de casos em níveis superiores aos limites estabelecidos e um nível de confiança estatística de 95 %. As LMs foram selecionadas como os analitos a serem pesquisados, um total de 312 amostras de leite foram analisados naquele ano, sendo encontradas amostras que apresentavam resíduos de ivermectina (IVR), abamectina (ABA) e doramectina (DOR). Em 2003 os LMRs para ABA e DOR não eram especificados pela legislação e as amostras que apresentaram resíduos de ABA e DOR foram considerados insatisfatórios, e as amostras que apresentavam IVR foram considerados satisfatórias estando abaixo do (LMR) (BRASIL, 2004).

No ano de 2006 com a divulgação mais clara das informações sobre a identificação de ivermectinas nas amostras de leite, foram analisadas 125 amostras e identificadas 6 violações sendo 2 por ivermectina nas concentrações de 19,1 e 13,4  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  e 4 por doramectina nas concentrações de 14,5 a 21,1  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  (BRASIL, 2007).

Entretanto no ano seguinte, de 125 amostras analisadas, uma apresentou IVR acima dos limites de resíduos (22,9  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ ) (BRASIL, 2008).

Lobato *et al.* (2006) analisando 168 amostras de leite comercializados na cidade de Campinas- SP, verificaram resíduo de IVER em 30 amostras em concentrações variadas, de 2,5 a 7,0  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  ou  $\text{L}^{-1}$ , todos classificados como abaixo do LMR para IVR.

O que gera maior preocupação é o fato do PAMvet e o PNCR juntamente com estudos realizados por pesquisadores, relatarem a presença de resíduos de antiparasitários não recomendados para animais em lactação, mesmos que as concentrações encontradas não estejam acima do LMRs. Cabe salientar que por características da produção pecuária leiteira no Brasil, em geral as amostras de leite estudadas pelos planos são altamente diluídas, não sendo detectado no produto final altas concentrações de antiparasitários, podendo assim ser encontrada em altas concentrações no início da cadeia produtiva (COSEA, 2010).

O ponto que merece discussão é a crescente problemática da resistência dos parasitas as LMs, sendo relatada resistência em helmintos e em artrópodes, fato que se encontra presente em rebanhos bovinos em todo o mundo, onde o uso indiscriminado de antiparasitários tendem a selecionar populações de parasitos resistentes, que por sua vez, tornam as infestações parasitárias mais frequentes, recorrentes e difíceis de manejar (ECHEVARRIA, 1989; MARTINS; FURLONG, 2001; COLES, 2006; MOLENTO *et al.*, 2006; KLAFKE *et al.*, 2006). Isto por sua vez, acaba se repetindo no manejo dos rebanhos, se tornando comum, o que leva ao aumento do uso de antiparasitários e consequentemente pode gerar resíduos nos produtos de origem animal.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Determinar se há presença de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite de rebanhos bovinos de propriedades leiteiras em duas regiões fisiogeográficas do Rio Grande do Sul: noroeste e sul do Estado.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

Identificar, quantificar e qualificar resíduos de lactonas macrocíclicas no leite coletado em propriedades leiteiras em duas regiões do Rio Grande do Sul, verificando se estão dentro dos limites máximos permitidos pelos órgãos reguladores.

Determinar as características da área/população alvo do estudo, a fim de identificar fatores de risco associados à presença de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite.

Investigar a presença de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite *UHT*.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado em quatro etapas principais:

1. Pesquisa de campo para aplicação de questionários em propriedades leiteiras;
2. Coleta de amostras de leite cru e *UHT*;
3. Análises da detecção de resíduos de lactonas macrocíclicas em amostras de leite;
4. Análise estatística

### **4.1 Pesquisa de campo para aplicação de questionários em propriedades leiteiras**

Em uma primeira etapa foram realizadas visitas técnicas a 72 propriedades produtoras de leite de agricultura familiar do Estado do Rio Grande do Sul, com o objetivo de conhecer a realidade das propriedades e realizar a aplicação de questionários. No questionário (Apêndice 1) foram elaboradas perguntas relacionadas à produção de leite e a características do produtor. As visitas e a aplicação dos questionários foram realizadas por pesquisadores e estagiários do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), órgão da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio (SEAPA) do Estado do Rio Grande do Sul.

### **4.2 Coleta de amostras de leite**

#### **4.2.1 Coletas de amostras de leite de rebanhos leiteiros de propriedades de agricultura familiar**

Foram coletadas amostras de leite de propriedades leiteiras participantes do Projeto Institucional “Apoio à Sanidade Animal dos Rebanhos Leiteiros de Propriedades de Agricultura Familiar” desenvolvido pelo IPVDF no período 2008-2012, com apoio do Ministério do Desenvolvimento Agrário (MDA). O projeto abrangeu propriedades de agricultura familiar de Territórios da Cidadania de duas regiões fisiogeográficas distintas (Noroeste e Sul) que comercializam leite para cooperativas vinculadas ao Programa Nacional de Aquisição de Alimentos.

As amostras eram provenientes de tanques, resfriadores ou tarros e foram coletadas nas propriedades; sendo estas amostras representativas dos animais em lactação. No total, foram amostradas 72 propriedades, sendo 55 propriedades de cinco municípios (Derrubadas, Tenente Portela, Barra do Guarita, Miraguaí e Vista Gaúcha) do Noroeste Colonial, e 17 propriedades de dois municípios (Santa Vitória do Palmar e São Lourenço do Sul) do Extremo Sul. O número de propriedades amostradas foi o total de produtores que concordaram em participar do estudo.

As amostras de leite foram coletadas e armazenadas em frascos plásticos estéreis de 50 mL e tampa rosqueável. Estas amostras foram armazenadas em caixa térmicas, juntamente com embalagens de gelo artificial, levadas ao laboratório e estocadas a -20 °C no Laboratório de Parasitologia do IPVDF para análises posteriores.

#### 4.2.2 Coleta das amostras de leite *UHT*

Entre junho e outubro de 2012 foram coletadas 60 amostras de leite *UHT* de 12 marcas diferentes adquiridas em estabelecimentos comerciais do município de Porto Alegre - RS.

### **4.3 Análises da detecção de resíduos de lactonas macrocíclicas (LMs) em amostras de leite**

A análise de resíduos foi possível, devido a um convênio e a um projeto conjunto entre o Laboratório de Parasitologia do IPVDF e o Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) - Porto Alegre, órgão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas e Medicamentos Veterinários (RPM) do LANAGRO - Porto Alegre.

#### 4.3.1 Extração e análise das lactonas macrocíclicas em amostras de leite

As amostras foram submetidas à análise de detecção de substâncias do grupo das LMs, cujos cinco ingredientes ativos comumente utilizados como antiparasitários foram pesquisados, sendo estes: Abamectina (ABA), Doramectina (DOR), Eprinomectina (EPR), Ivermectina (IVR) e a Moxidectina (MOX).

A técnica de extração e análise foi desenvolvida no LANAGRO - Porto Alegre, a qual é baseada em Rubensam e colaboradores (2011). O procedimento de extração dos resíduos de LMs em leite bovino foi fundamentado pela adição de acetonitrila; e a purificação ocorreu pelo congelamento dos co-extratos da matriz com temperatura aproximadamente de -20 °C. Os extratos purificados foram analisados em um sistema de Cromatografia a Líquido acoplado a espectrômetro de massas sequencial (LC-MS/MS) (Rubensam *et al.*; 2011). O fluxograma de extração dos resíduos no leite esta exposto no ANEXO 2.

#### 4.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no Setor de Epidemiologia do IPVDF. As informações dos questionários, assim como o resultado da presença de lactonas macrocíclicas e a condição da propriedade, foram armazenadas em um banco de dados utilizando o programa Microsoft Access®. As variáveis relacionadas no questionário epidemiológico permitiram o estudo dos fatores de risco. As variáveis analisadas foram:

- 1) Região
- 2) Cidade
- 3) Escolaridade
- 4) Principal atividade produtor de leite
- 5) N° de Vacas em lactação
- 6) Presença de gado de corte na propriedade
- 7) Raça predominante
- 8) Origem dos animais
- 9) Produção de leite no verão (litros)
- 10) Produção de leite no inverno (litros)
- 11) Tipo de ordenha
- 12) Principal parasitose na propriedade
- 13) Verminose é a doença mais comum na propriedade
- 14) Tem problema de Tristeza parasitaria bovina (TBP) na propriedade
- 15)A Tristeza parasitaria bovina (TBP) é a doença mais comum na propriedade,
- 16) Antiparasitários utilizados na propriedade
- 17) Antibióticos utilizados na propriedade

- 18) Quem aplica os medicamentos veterinários nos animais,
- 19) Recebe assistência veterinária
- 20) Tempo de experiência na propriedade
- 21) Participação em cursos

As categorias das variáveis foram organizadas de modo a apresentarem-se em escala crescente de risco. Quando necessário, realizou-se a recategorização dessas variáveis. A categoria de menor risco foi considerada como base para a comparação das demais categorias. As variáveis quantitativas foram recategorizadas em quartis. A análise univariada foi realizada para verificar a associação entre o *status* da presença de lactonas macrocíclicas no leite (ausência = 0; presença = 1) e variáveis de risco, utilizando o teste de Qui-quadrado ou teste exato de Fisher. As variáveis com valor de  $p < 0,2$  foram incluídas na análise de regressão logística multivariada (HOSMER; LEMESHOW, 1989), sendo as análises realizadas com o auxílio do programa Stata (STATA INC, 2011).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Perfil da agricultura familiar produtora de leite no Rio Grande do Sul

As informações dos produtores que responderam o questionário estão disponíveis na Tabela 3.

Tabela 3- Perfil do produtor familiar das propriedades leiteiras visitadas.

Características do produtor	Região		Frequência	% do total
	Sul	Noroeste		
<b>Números de propriedades</b>	17	55	72/72	100
<b>Idade do Produtor</b>				
< =30 anos	1 (5,8 %)	1 (1,8 %)	2/72	2,77
31-49 anos	9 (53 %)	26 (47,3 %)	35/72	48,61
> =50 anos	5 (29,4 %)	24 (43,6 %)	29/72	40,27
SR	2 (11,8 %)	4 (7,3 %)	6/72	8,33
<b>Pessoas residem na propriedade</b>				
< =2	6 (35,2 %)	11 (20 %)	17/72	23,61
3-4	9 (53 %)	36 (65,4 %)	45/72	62,5
> =5	2 (11,8%)	8 (14,6 %)	10/72	13,88
<b>Familiares que trabalham na ordenha (media)</b>	2,47	2,78		
<b>Tamanho da propriedade (ha)</b>				
< 20	4 (23,5 %)	38 (69,1 %)	42/72	58,33
21-40	5 (29,4 %)	13 (23,1 %)	18/72	25
> 40	8 (47,1 %)	3 (5,5 %)	11/72	15,27
SR	0	1	1/72	1,38
<b>Escolaridade</b>				
Fundamental	12 (70,6 %)	35 (63,6 %)	47/72	65,27
Médio	5 (29,4 %)	17 (30,9 %)	22/72	30,55
Superior	0	3 (5,5 %)	3/72	4,16
<b>Tempo de experiência na atividade</b>				
< 10 anos	6 (35,3 %)	22 (40 %)	28/72	38,88
> 10 anos	10 (58,8 %)	33 (60 %)	43/72	59,72
SR	1 (5,9 %)	0	1/72	1,38
<b>Participação em cursos</b>				
Sim	2 (11,7 %)	18 (32,7 %)	20/72	27,77
Não	15 (88,3 %)	36 (65,5 %)	51/72	70,83
SR	0 (0 %)	1 (1,6 %)	1/72	1,38

SR: Sem resposta

Fonte: autor

Observa-se que as propriedades leiteiras estudadas apresentaram as seguintes características dos sistemas de produção de leite: são classificadas em pequenas propriedades com média de 49 ha para região Sul e 19 ha para a região Noroeste, os produtores tem em média 49 anos para as duas regiões estudadas, na região sul 100 % dos produtores tiveram acesso a escola, embora restrito ao ensino médio e fundamental, perfil esse similar com os verificados na região noroeste com 94,5 % tiveram acesso ao ensino médio e fundamental e apenas 5,5 % tiveram acesso a ensino superior, mostrando

também que em média 2,47 (Sul) e 2,78 (noroeste) pessoas da família trabalham na atividade de ordenha dos animais na propriedade. Com relação ao tempo de experiência na atividade, as duas regiões apresentaram valores similares, pois 58 % e 60 % dos produtores tinham mais de 10 anos na atividade leiteira e 35,3 % e 40 % tinham menos de 10 anos na atividade leiteira para o Sul e Noroeste, respectivamente. Com relação o acesso a cursos de aperfeiçoamento agropecuário foi verificado que é restrito para as duas regiões onde na região Sul (11,7 %) e para a região Noroeste (32,7 %) dos proprietários já haviam participado de algum curso. Dados esses que corroboram com os encontrados por Finamore e Marosso (2004), analisando as características dos produtores de leite da região Nordeste do Rio Grande do Sul, verificaram que os produtores estão trabalhando na atividade há 15 anos, apresenta um grau de escolaridade baixo e o manejo é exercido em 70,83 % das vezes pelas esposas, inclusive o das receitas e despesas, caracterizando assim a agricultura familiar no Estado do Rio Grande do Sul.

Em comparação com outro estudo realizado por Rosanova e Ribeiro, (2010) em Palmas no Estado do Tocantins, caracterizando sócio-economicamente os produtores de leite da agricultura familiar, foi observado que os produtores tem acesso a recursos, educação, assistência técnica e crédito, e as propriedades apresentavam em média 57,32 ha, os produtores possuem em média 48 anos de idade e tinham acesso a diferentes níveis de escolaridades.

O perfil das 72 propriedades leiteiras das regiões Sul e Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul estão expostos na Tabela 4.

Tabela 4- Perfil das propriedades leiteiras das regiões Sul e Noroeste do Rio Grande do Sul.

Características	Região (nº e % por região)		Frequência	% do total
	Sul	Noroeste		
<b>Propriedades</b>	17 (23,61 %)	55 (76,38 %)	72/72	100
<b>Cidade</b>				
<b>Santa Vitoria do Palmar</b>	9 (12,5 %)	-	9/72	12,5
<b>São Lourenço do Sul</b>	8 (11,1 %)	-	8/72	11,1
<b>Derrubadas</b>	-	10 (13,8 %)	10/72	13,8
<b>Tenente Portela</b>	-	21 (29,16 %)	21/72	29,16
<b>Barra do Guarita</b>	-	4 (5,55 %)	4/72	5,55
<b>Miraguá</b>	-	9 (12,5 %)	9/72	12,5
<b>Vista Gaúcha</b>	-	11 (15,27 %)	11/72	15,27
<b>Principal atividade produtor de leite?</b>				
<b>Não</b>	0 (0 %)	12 (21,8 %)	12/72	16,6
<b>Sim</b>	17(100 %)	43 (78,2 %)	60/72	83,33
<b>Vacas em lactação?</b>				
<b>1 a 5</b>	1 (5,9 %)	8 (14,6 %)	9/72	12,5

6 a 10	4 (23 %)	32 (58,1 %)	36/72	50
Mais que 10	12 (71 %)	14 (25,5 %)	26/72	36,11
SR	0 (0 %)	1 (1,8 %)	1/72	1,38
<b>Presença de gado de corte na propriedade?</b>				
Não	14 (83,4 %)	46 (83,6 %)	60/72	83,3
Sim	3 (17,6 %)	9 (16,4 %)	12/72	16,6
<b>Raça predominante</b>				
Jersey	1 (5,9 %)	23 (41,8 %)	24/72	33,3
Holandesa	16 (94,1 %)	17 (30,9 %)	33/72	45,8
Outras	0 (0 %)	15 (27,3 %)	15/72	20,83
<b>Origem dos animais (Reposição)</b>				
Mista (própria e compra de terceiros)	10 (58,8 %)	35 (63,6 %)	45/72	62,5
Somente reposição própria	7 (41,2 %)	17 (30,9 %)	24/72	33,3
<b>Tipo de Ordenha</b>				
Manual	0 (0 %)	5 (9,1 %)	5/72	6,94
Mecânica tipo “balde ao pé”	15 (88,2 %)	49 (89,1 %)	64/72	88,8
Mecânica canalizada até o resfriador	2 (11,8 %)	1 (1,8 %)	3/72	4,16
<b>Principal parasita na propriedade</b>				
Carrapato	1 (5,9 %)	13 (23,6 %)	14/72	19,44
Verminose	7 (41,1 %)	7 (12,7 %)	14/72	19,44
Carrapato + verminose	5 (29,4 %)	30 (54,5 %)	35/72	48,61
Outros	4 (23 %)	2 (3,6 %)	6/72	8,33
SR	0 (0 %)	3 (5,4 %)	3/72	4,16
<b>Verminose é a doença mais comum na propriedade?</b>				
Não	16 (94,1 %)	44 (80 %)	60/72	83,33
Sim	1 (5,9 %)	6 (10,9 %)	7/72	9,72
SR	0 (0 %)	5 (9,1 %)	5/72	6,94
<b>Tem problemas com TBP na propriedade?</b>				
Não	9 (52,9 %)	12 (21,8 %)	21/72	29,16
Sim	6 (35,3 %)	33 (60 %)	39/72	54,16
SR	2 (11,8 %)	10 (18,2 %)	12/72	16,66
<b>TBP é a doença mais comum na propriedade?</b>				
Não	8 (47,1 %)	20 (36,4 %)	28/72	38,88
Sim	9 (52,9 %)	30 (54,5 %)	39/72	54,16
SR	0 (0 %)	5 (9,1 %)	5/72	6,94
<b>Antiparasitários utilizados?</b>				
Não	1 (5,9 %)	9 (16,4 %)	10/72	13,88
Avermectinas	14 (83,4 %)	21 (38,2 %)	35/10	48,61
Outras	2 (11,8 %)	22 (40 %)	24/72	33,33
SR	0 (0 %)	3 (5,4 %)	3/72	4,16
<b>Utilização de Antibióticos na propriedade?</b>				
Não	3 (17,6 %)	21 (38,2 %)	24/72	33,33
Sim	12 (70,6 %)	33 (60 %)	45/72	62,5
SR	2 (11,8 %)	1 (1,6 %)	3/72	4,16
<b>Quem aplica medicamentos?</b>				
Veterinário	0 (0 %)	1 (1,6 %)	1/72	1,38
Técnicos da cooperativa	1 (5,9 %)	0 (0 %)	1/72	1,38
Leigos	16 (94,1 %)	53 (96,8 %)	69/72	95,83
SR	0 (0 %)	1 (1,6 %)	1/72	1,38
<b>Assistência Veterinária?</b>				
Não	0 (0 %)	2 (3,6 %)	2/72	2,77
Assistência periódica	0 (0 %)	0 (0 %)	0/72	0
Quando há problemas	17 (100 %)	52 (96,4 %)	68/72	94,44
SR	0 (0 %)	1 (1,6 %)	2/72	2,77

SR: Sem resposta

Das 17 propriedades estudadas na região Sul, todas tinham como principal atividade a produção leiteira, diferente da região noroeste a qual verificou-se que das 55 propriedades estudadas 43 tinham a atividade leiteira como sua principal fonte de renda, porém 12 tinham outra atividade como principal fonte,, sendo esta, um complemento financeiro mensal.

A região Sul foi caracterizada por ter propriedades contendo área superior as da região Noroeste, também por apresentar maior número de vacas em lactação, por 71 % das propriedades conter mais de 10 vacas, 23 % ter entre 6 e 10 vacas e 5,9 % ter até 5 vacas, superando a região Noroeste em número de vacas, de 25,5 % (com mais de 10 vacas), 58,1 % (entre 6 e 10 vacas) e 14,6 % (com até 5 vacas), o que demonstra que a região Sul do país possui produtores um pouco mais especializados que a região Noroeste.

Com relação aos dados da presença de gado de corte nas propriedades, foram encontrados números pouco expressivos para as duas regiões, o sul com 83,4 % e o noroeste com 83,6 % das propriedades não tinha presença de gado de corte.

A raça Holandesa e a raça Jersey foram às raças predominantes nos rebanhos leiteiros estudados. Observou-se na região sul uma predominância de 94,1 % de gado da raça Holandesa e apenas 5,9 % da raça Jersey, diferente dos dados encontrados na região Noroeste, 30,9 % vacas holandesa, 41,8 % vacas Jersey e 27,3 % para outras raças.

Na variável reposição dos animais observou-se que esta acontece por reposição mista (reposição própria e compra de terceiros) em 60 % das propriedades estudadas e as demais (40 %) utilizam o sistema de reposição exclusivo da propriedade, o que normalmente minimiza a entrada de doenças.

As regiões Sul e Noroeste apresentaram na sua maioria, a utilização da forma de ordenha mecanizada “tipo balde ao pé” (88,2 % e 89,1 %) respectivamente, e apenas 11,8 % (Sul) e 1,8 % (noroeste) para ordenha mecânica canalizada até o resfriador. Apenas a região noroeste apresentou propriedades com ordenha realizada mecanicamente (9,1 %), evidenciando que a maioria dos produtores tem acesso a tecnologia para aplicar na produção.

Nas questões relacionadas à sanidade do rebanho e assistência veterinária, observou-se que os parasitas que mais acometem os rebanhos são os carrapatos e a verminose com uma frequência de 76,4 % no sul e 90,8 % no noroeste, sendo o carrapato relatado em 43 propriedades da região noroeste e 8 na região sul. A menor frequência de relatos de carrapatos na região sul pode ser explicado por Santa Vitória do Palmar ser

zona livre de carrapatos, principalmente pelo clima da região e a temperatura anual média que desfavorece o estabelecimento e conclusão do ciclo de vida do carrapato. Com relação às doenças mais comumente relatadas nos rebanhos estudados, a Tristeza Parasitária Bovina (TPB) tem destaque estando presente em mais de 50 % das propriedades confirmando dados de que a TPB é uma das doenças que mais causa prejuízos e mortalidades em bovinos no Estado Rio Grande do Sul (SEAPA, dados não publicados). A verminose como doença mais comum, foi relatada em 5,9 % das propriedades do sul e 10,9 % no noroeste. Comparando esses dados com os dados dos parasitas encontrados nas propriedades em um estudo realizado por Souza *et al.* (2012), pode-se afirmar que a verminose está presente nos rebanhos, mas não chega a ser um problema para os produtores..

Devido à presença de parasitas nos rebanhos estudados a utilização de antiparasitários é inevitável no controle e manejo do gado, assim observou-se que 81,94 % das propriedades estudadas aplicam algum tipo de antiparasitários, destes 48,1 % aplicam antiparasitários a base de LMs, sendo assim um indício de que as BPAs não estão sendo aplicadas, visto que antiparasitários da classe das LMs não são recomendados para uso em animais em lactação cujo leite tem o destino o consumo humano. Sendo também relatado o uso de antibióticos em 62,5 % das propriedades, portanto resíduos de antiparasitários e antibióticos podem vir a atingir o leite produzido, sendo uma fonte de risco para o consumidor.

No quesito aplicação de medicamentos e assistência veterinária os resultados reforçam este risco, pois em 95,83 % das propriedades quem aplicou o medicamento nos animais foram pessoas leigas, e em 94,44 % dos casos os proprietários só utilizaram assistência veterinária quando houve problemas, não havendo, portanto, manejo preventivo.

## **5.2 Análise de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite**

### **5.2.1 Amostras de leite das propriedades leiteiras**

Foram analisadas 72 amostras de leite *in natura* oriundas de propriedades leiteiras de agricultura familiar sediadas nas regiões Noroeste (55) e Sul (17) do Estado do Rio Grande do Sul. Das amostras analisadas 18 apresentaram resíduos de LMs, representando uma frequência de 25 % do total, como observado na Tabela 5.

Tabela 5 - Amostras positivas para resíduos de lactonas macrocíclicas

Região	Amostragem	Resíduos de LMs (nº, %)	
		Positivo	Negativo
Noroeste	55 (76,38 %)	12/55 (21,8 %)	43/55 (78,2 %)
Sul	17 (23,61 %)	6/17 (35,3 %)	11/17 (64,7 %)
<b>Total</b>	72 (100 %)	18/72 (25 %)	54/72 (75 %)

Fonte: autor

Das amostras que continham resíduos de LMs a região Sul do estado apresentou (35,3 %; 6/17) e a região Noroeste (21,8 %; 12/55) amostras com resíduos de LMs.

Lobato *et al.* (2006) analisaram resíduos de IVR em amostras de leite na cidade de Campinas-SP e encontraram resultados que corroboram com os resultados deste estudo. Os autores verificaram que as 168 amostras analisadas, 17,85 % apresentaram resíduo de IVR. Em contrapartida em um estudo realizado por Altino *et al.* (2007) analisando 157 amostras de leite oriundas da bacia leiteira do Paraná, encontraram que 75 % das amostras apresentaram resíduos de avermectinas, sendo um valor expressivo.

Nas amostras de leite que continham resíduo de lactonas macrocíclicas, os ingredientes ativos identificados foram: ivermectina e abamectina, pertencentes a classe das avermectinas, e a moxidectina, pertencente a classe das milbemicinas apresentando 15 (83,3 %) amostras contendo resíduos de ivermectina, uma (5,5 %) de ivermectina e moxidectina, uma (5,5 %) de moxidectina e uma (5,5 %) de abamectina. Sendo que 17 amostras continham apenas um tipo de LMs, e uma amostras continha dois tipos.

A frequência de LMs nas amostras de leite foi de uma amostra para a abamectina, duas amostras para a moxidectina e 16 amostras para a ivermectina, as concentrações de cada ingrediente ativo esta demonstrada na Tabela 6:

Tabela 6- Concentrações dos ingredientes ativos encontrados na amostras de leite

Ingredientes ativos da Família LMs					
Ivermectina		Abamectina		Moxidectina	
Nº de positivos	Faixa de concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Nº de positivos	Faixa de concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Nº de positivos	Faixa de concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )

<b>Noroeste</b>	11*	0,50-2,45	-	-	2*	0,94-1,69
<b>Sul</b>	5	0,55-2,48	1	2,73	-	-
<b>Total</b>	16 (88,9)	0,50-2,48	1 (5,5)	2,73	2 (11,0)	0,94 – 1,69
<b>LMR**</b>	-	10,00	-	10,00	-	10,00

\*uma amostra da região Noroeste apresentou presença de dois ingredientes ativos (ivermectina+moxidectina)

\*\*LMR – 10 µg L<sup>-1</sup> - IN Nº 11, de 22 de maio de 2012

Fonte:autor

As concentrações dos resíduos encontrados nas amostras analisadas foram de 0,504 a 2,48 (µg Kg<sup>-1</sup> ou L<sup>-1</sup>) para amostras com resíduos de ivermectina, 2,73 (µg Kg<sup>-1</sup> ou L<sup>-1</sup>) para amostras com resíduos de abamectina e 0,94 e 1,69 (µg Kg<sup>-1</sup> ou L<sup>-1</sup>) para amostras com resíduos de moxidectina. Tais valores podem ser classificados como amostras satisfatórias de acordo com os LMRs preconizados para resíduos em amostras de leite pela legislação vigente.

Segundo a ANVISA (2003), com a aplicação do PAMvet foram analisadas um total de 312 amostras de leite, destas 87 % foram do tipo *UHT* e 13 % de leite integral em pó. Sendo identificados, naquele ano resíduos de IVR, em 39 % das amostras e de ABA e DOR em 9 % das amostras, sendo as amostras com resíduos de ABA e DOR consideradas insatisfatórias, pois naquele ano os LMRs para estas drogas não eram estipulados pela legislação. Dados estes que corroboram com os resultados vistos no presente trabalho, pois 25 % das amostras apresentaram resíduos de LM, sendo apenas 1 (5,5 %) com resíduos de ABA, valor considerado satisfatório pelo LMR preconizado pelas legislações atuais.

Entretanto, deve-se salientar que, por tratar-se de gado leiteiro em fase de lactação, a detecção de resíduos de avermectinas (mesmo que abaixo do LMR) apresenta uma condição preocupante, pois indica que foi feito uso de medicação proibida nestes animais. Além disso, há de considerar-se que o valor encontrado abaixo do LMR pode ser devido a várias razões temporais e que em outros momentos pode encontrar-se em concentrações mais elevadas, principalmente devido ao tempo após a aplicação (considerando-se a meia-vida das avermectinas), intensidade da diluição da amostra (animais tratados/total de animais), e fase da lactação.

No ano de 2004, em um montante de 301 amostras (271 de leite integral do tipo *UHT* e 30 de leite em pó), 34 (11 %) amostras apresentaram resíduos de ABA acima dos limites de detecção do método (limites estes não informados), sendo seis amostras com

concentrações acima do limite de quantificação do método LQM, duas (0,7 %) amostras continham DOR com concentrações abaixo do LQM e 169 (56%) amostras continham IVR com concentrações abaixo do LMR ( $10 \mu\text{g Kg}^{-1}$  ou  $\text{L}^{-1}$ ). Os resultados de resíduos de IVR e ABA corroboram com os resultados do presente estudo, pois as concentrações residuais encontradas apresentaram valores abaixo do LMR preconizado, porém é um indicativo de uso indevido de LMs em gado lactante (ANVISA, 2006).

O PNCRC começou a ser aplicado no início de 2004, com o monitoramento de Lactonas Macro-cíclicas em amostras de leite, das 24 amostras analisadas no decorrente ano não foi indicado à presença de resíduos de avermectinas ABA, DOR e IVR (BRASIL, 2005). Das 75 amostras analisadas no ano seguinte, duas amostras apresentaram resíduos de avermectina, porém a identificação e a quantificação não foi divulgada pelo MAPA (BRASIL, 2006).

No ano de 2006, com as divulgações mais claras das informações sobre a identificação de avermectina nas amostras de leite, foram analisadas 125 amostras e identificadas seis violações sendo estas duas por presença de resíduos de ivermectina nas concentrações de  $19,1$  e  $13,4 \mu\text{g Kg}^{-1}$  e quatro por doramectina com concentrações de  $14,5$  a  $21,1 \mu\text{g Kg}^{-1}$  (BRASIL, 2007).

No ano de 2006 foram divulgados resultados de um trabalho realizado por Lobato e colaboradores, onde foram analisadas amostras de leite comercializados na cidade de Campinas, SP, no total de 168 amostras sendo 20 do tipo A, 20 do tipo B, 38 do tipo C e 90 *UHT*, de diferentes fabricantes. Foram encontradas resíduos de IVER em todos tipos de amostras analisadas, sendo 1 para amostra do tipo A, 1 para amostras do tipo B, 13 para amostras do tipo C e 15 para amostras de leite *UHT*, com valores encontrados de  $2,5$  a  $7,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . Todos classificados como abaixo do LMR para IVR (LOBATO *et al.*, 2006). Resultados esses que corroboram com os encontrados na nossa pesquisa onde os valores máximos de resíduos encontrados ficaram entre  $0,51$  e  $2,73 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Altino *et al.*, (2007), analisando 157 amostras de leite integral pasteurizado da Bacia leiteira no Estado do Paraná, encontram resíduos de IVR (107), de DOR (31), ABA (27) e EPR (2). As amostras com resíduos de EPR e IVR estavam de acordo com a legislação, pois não ultrapassaram os LMRs de  $20 \mu\text{g Kg}^{-1}$  e  $10 \mu\text{g Kg}^{-1}$  ou  $\text{L}^{-1}$  respectivamente. As amostras com resíduos de ABA e DOR foram consideradas em desacordo (BRASIL, 2006), pois segundo a legislação vigente no ano do estudo resíduos dessas substâncias eram proibidas no leite.

Em 2007, somente uma (0,8 %), em 125 amostras analisadas, apresentou IVR acima do limites de resíduos ( $23,1 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ ). No ano seguinte, foram analisadas 114 amostras de leite *UHT*, com cinco amostras identificadas como violadas com concentrações de IVR entre 22 e  $59 \mu\text{g Kg}^{-1}$  ou  $\text{L}^{-1}$  (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009). Estes dados estão em desacordo com os resultados encontrados no presente estudo, no qual não foi encontrada nenhuma amostra com resíduo acima do LMR.

### 5.2.2 Análise dos fatores de risco associados à presença de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite

As informações dos questionários, assim como o resultado da presença de lactonas macrocíclicas (LMs), foram armazenadas num banco de dados onde as variáveis relacionadas permitiram o estudo dos fatores de risco. Na Tabela 7 estão expostas as variáveis que apresentaram relação significativa com a presença de LMs no leite.

Tabela 7- Análise das variáveis relacionadas com o risco associado à presença de resíduos de lactonas macrocíclicas no leite.

Variáveis	<i>Odds ratio</i> *(OR)	OR, 95 % CI	<i>P</i>
Rebanhos da cidade de Vista Gaúcha	0,58	0,37 – 0,92	0,022
Utilização de antibióticos	0,21	0,05 – 0,91	0,037
Origem dos animais (Reposição): mista	3,80	1,21 – 11,8	0,021
Doença mais comum: verminose	8,82	2,38 – 32,8	0,001

\**odds ratio* = razão de chance

\*\*mista = Reposição da própria e compra de terceiros

Fonte:autor

Observa-se que a utilização de antibióticos e os rebanhos da cidade de Vista Gaúcha tiveram uma correlação significativa com o fator protetivo a presença de LMs no leite. A utilização de antibióticos como fator protetivo pode ser explicado pelo fato das cooperativas estarem controlando a presença de resíduos de antibiótico no leite, assim os produtores podem estar seguindo as BPAs e conseqüentemente descartando o leite quando aplicam medicamentos veterinários; tanto antibióticos quanto antiparasitários, respeitando o tempo de carência recomendado.

O segundo fator protetivo está relacionado com os rebanhos da cidade de Vista Gaúcha, esse fator pode ser explicado com a atuação das cooperativas captadoras de leite, onde estariam orientando os produtores desta região sobre as BPAs e a utilização de medicamentos veterinários no rebanho respeitando assim o tempo de carência.

Observa-se que a reposição de animais mista (isto é, rebanhos onde a origem dos animais é através de reposição própria e compra de terceiros) e a percepção da verminose como doença mais comum na propriedade tiveram uma relação significativa com maior risco para a presença de LMs. A reposição mista dos animais como fator de risco nas propriedades estudadas em comparação com a reposição própria exclusiva, pode ser explicada pela falta do registro para acompanhamento de uso de medicamentos veterinários em animais que chegam na propriedade ou mesmo devido a uma prática comum no meio rural: de aplicação de endectocida em todos os animais que entram na propriedade, para evitar contaminação dos demais animais por parasitos e diminuir uma eventual infestação parasitária devido ao estresse da mudança do localidade. Estes fatos também suportam a hipótese do uso excessivo de endectocidas em animais de produção.

O segundo fator de risco está associado à propriedade onde a verminose é doença mais comum na propriedade, segundo a percepção dos produtores. Neste caso, frente a problemas considerados expressivos, o produtor geralmente lança mão de grande quantidade de medicamentos, sem a orientação de um médico veterinário ou mesmo sem respeitar fases de lactação ou períodos de carência, o que podem ser as causas possíveis desta variável ser um risco associado com a presença de resíduos de LMs no leite. Além disso, considerando a crescente problemática da resistência dos helmintos aos antiparasitários, observa-se que propriedades que fazem uso indiscriminado de antiparasitários tendem a selecionar populações de parasitos resistentes, que por sua vez, tornam as infestações parasitárias mais frequentes, recorrentes e difíceis de manejar (ECHEVARRIA *et al.*, 1996, KAPLAN, 2004,). Isto por sua vez, acaba gerando um ciclo vicioso que aumenta o uso de antiparasitários e consequentemente pode gerar resíduos nos produtos de origem animal.

### 5.2.3 Amostras de leite *UHT* integral

Foram coletadas 60 amostras de leite *UHT* em supermercados do município de Porto Alegre e analisadas para detecção de resíduos de LMs. Nas amostras de leite *UHT* não foram detectados resíduos de LMs.

Dados que corroboram com os resultados das análises de resíduos realizadas pelo PNCRC nos anos de 2009, 2010, 2011 e 2012 e divulgadas pelo MAPA, pois nenhuma amostra foi considerada insatisfatória, não sendo encontrado resíduo de LM no leite (BRASIL, 2010; BRASIL, 2011; BRASIL, 2012; BRASIL, 2013).

Considerando a importância do leite e seus derivados na cadeia agropecuária e na alimentação humana, o monitoramento de resíduos de medicamentos veterinários motivou pesquisadores a pesquisarem o assunto (RUBENSAM, 2010). Gerando discussões e desafios para os pesquisadores e órgãos reguladores.

A legislação brasileira atual aponta normatizações que podem ter dúvida interpretação, gerando dúvidas para produtores e consumidores, impondo um LMR de resíduos de medicamentos aceitável no leite quando esses têm seu uso restrito para vacas em lactação, sendo sua presença no leite um indicativo de falta de boas práticas agropecuárias, o não cumprimento do tempo de carência e/ou a não informação na bula sobre o mesmo. Partindo dessa premissa, os LMRs poderiam ser ajustados, diminuindo-os para o menor limite detectável ou inclusive a utilização de tais medicamentos em animais de produção ser realmente banidos na prática.

Um grande desafio dos PANvet e PNCRC é estabelecer, fundamentado nos resultados encontrados e nas referências nacionais e internacionais (Mercosul, Codex Alimentarius, União Européia), as medidas de Ingestão Diária Aceitável (IDA) e os Limites Máximos de Resíduos (LMR) para medicamentos veterinários em leite. A superação desse desafio, aliado ao conhecimento já produzido, será fundamental para a ampliação das discussões sobre presença de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal, a fim de que se possa recomendar e ou adotar medidas preventivas para toda a cadeia produtiva e gerar novas políticas e diretrizes de controle sanitário e de proteção da saúde humana (COSEA, 2010).

De acordo com os resultados dos planos de controle divulgados pelo MAPA, ANVISA, estudos realizados por outros pesquisadores no Brasil, e os resultados do presente estudo, observou-se que o plano de monitoramento poderia ser mais efetivo ampliando o número e tipo de amostras analisadas, e não analisar somente amostras no final da cadeia produtiva, não havendo um monitoramento nem rastreamento das amostras desde início da produção. Desta forma, pode-se sugerir que o problema está inserido no princípio da cadeia de produção, envolvendo o manejo nas propriedades, como foi observado no presente estudo.

## 6 CONCLUSÕES

Nas análises realizadas para detecção de resíduos, foram encontrados resíduos de antiparasitários em amostras de leite, esses resíduos pertencem à classe das lactonas macrocíclicas e os princípios ativos encontrados foram ivermectina, abamectina e moxidectina, isso mostra a fragilidade do controle e fiscalização de resíduos por parte do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e a não utilização das Boas Práticas Agropecuárias por parte dos produtores.

Apesar dos resíduos de lactonas macrocíclicas encontrados estarem abaixo do LMR estabelecido para o leite no Brasil, esse resultado mostra que medicamentos veterinários estão sendo usados de forma indevida em vacas lactantes, quando as recomendações de uso das lactonas macrocíclicas são restritas, não sendo recomendada sua utilização nos animais em lactação cujo leite seja destinado ao consumo humano, entretanto esses resíduos podem ser encontrados em concentrações mais elevadas em outras etapas da produção.

As propriedades estudadas foram caracterizadas como agricultura familiar, pois tinham em sua maioria a atividade leiteira com sua principal fonte de renda, sendo pequenas propriedades com um número pequenos de animais em lactação, e a atividade era dividida pelos membros da família.

Conclui-se que a reposição de animais mista (isto é, rebanhos onde a origem dos animais é através de reposição própria e compra de terceiros) e a percepção da verminose como doença mais comum na propriedade tiveram uma relação significativa com maior risco para a presença de LMs, sendo indicativo de manejo inadequado e falta de BPAs por parte dos produtores, não respeitando tempo de carência, dose e indicações de uso das LMs em animais de produção.

## REFERÊNCIAS

- ABRAMOVAY, R. Agricultura familiar e o uso do solo. **São Paulo em Perspectiva**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 73-78, 1997.
- ABRAPPA. Associação Brasileira para a Proteção dos Alimentos. **Avaliação da Segurança de resíduos de drogas veterinárias**. Disponível em: [http://www.abrappa.org.br/eventos/simp\\_alim\\_3](http://www.abrappa.org.br/eventos/simp_alim_3), Acesso em Janeiro 2012.
- ALVINERIE, M. *et. al.* Pharmacokinetics of eprinomectin in plasma and milk following topical administration to lactating dairy cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 67, p. 229-232, 1999.
- ALTINO, D. J. **Determinação de resíduos de avermectinas no leite por CLAE-EM/EM**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade federal do Paraná. Curitiba, 2007.
- ARENA, J. P. *et. al.* Expression of a glutamate-activated chloride current in xenopus oocytes injected with *Caenorhabditis elegans* RNA: evidence for modulation by avermectin. **Molecular Brain Research**, Rahway, v. 15, p. 339-348, 1992.
- BELTRANE M. A.; MACHINSK M. Jr. Principais riscos químicos no leite: um problema de Saúde Pública. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, Cascavel, v. 9, n. 2, p.141-45, 2005.
- BLOOMFIELD, G. Endoparasites: The veterinary Market. Richmond. Reino Unido: **PJB Publications**, 1988, 160p.
- BLUM, R. Agricultura Familiar; Estudo preliminar da definição, classificação e problemática; In TEDESCO, João Carlos (Org.) **Agricultura Familiar; Realidades e Perspectivas**; Passo Fundo; Editora da UPF, 1999, p. 57-103.
- BORTOLUZZI, D. L.; REGHELIN, J. F.; RONCATO, P. E. Agropecuária e Desenvolvimento: um Estudo da Produção Leiteira de Doutor Maurício Cardoso/RS. **III Jornada de Pesquisas Econômicas**, Disponível em [http://www.fahor.com.br/publicacoes/jopec/2012/Agropecuaria\\_Desenvolvimento\\_Estud\\_o\\_Producao\\_Leiteira\\_DMC.pdf](http://www.fahor.com.br/publicacoes/jopec/2012/Agropecuaria_Desenvolvimento_Estud_o_Producao_Leiteira_DMC.pdf). Acessado: fevereiro de 2013.
- BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo - **PAMVet. 2003**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/index.htm>. Acesso: janeiro de 2013.
- BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo - **PAMVet. Relatório 2002/2003** - Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo (1º e anos de atividades), Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/index.htm>. Acesso: fevereiro de 2013.

BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo - **PAMVet. Relatório 2004/2005** - Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo (3º e 4º anos de atividades), Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/index.htm>. Acesso: julho de 2012.

BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet). Relatório de 2006 – 2007, **Monitoramento de resíduos em leite expostos ao consumo (5º e 6º ano de atividades). Brasília (DF):** Anvisa: 2009 . Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/72efdb0047458ad19441d43fbc4c6735/PAMVET.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso: dez de 2012.

BRASIL Instrução Normativa nº 12, de 10 de abril de 2001. Adota o Regulamento Técnico Mercosul Metodologias Analíticas, Ingestão Diária Admissível e Limites Máximos de Resíduos de Medicamentos Veterinários em alimentos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 abr. 2001. Seção 1, p. 10.

BRASIL Ministério do Desenvolvimento Agrário (MDA). Censo: agricultura familiar produz mais em menos área. **Portal de notícia do MDA**. Disponível em: [www.mda.gov.br](http://www.mda.gov.br). Acessado em: julho de 2012.

BRASIL Presidência da República. Lei nº. 11.326 de 24 de julho de 2006. Estabelece as diretrizes para a formação Política Nacional da Agricultura Familiar e Empreendimentos Familiares Rurais. **Diário Oficial da União de 25/07/2006**. Disponível em: [www.dataprev.gov.br](http://www.dataprev.gov.br). Acessado em: setembro de 2012.

BRASIL Relatório da Comissão Européia de uma missão realizada no Brasil referente ao controle de resíduos dos animais vivos e seus produtos. **Diretoria geral XXIV 1034/99-MR-BR**. Março 1999.

BRASIL Relatório da Comissão Européia de uma missão realizada no Brasil referente ao controle de resíduos dos animais vivos e seus produtos. **Diretoria geral SANC0/9047/2003-MR-DRAFT**, Julho 2003.

BRASIL Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 77, de 17 de julho de 2005. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos em Carne, Leite e Pescado do exercício de 2004. **Diário Oficial da União** de 19/07/2005, Seção 1, Página 9.

BRASIL (2006). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 154, de 13 de junho de 2006. Publica os resultados do monitoramento dos Programas de Controle de Resíduos em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado – PNCR – do exercício de 2005. **Diário Oficial da União** de 22/06/2006, Seção 1, Página 15.

BRASIL (2007). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 8, de 30 de março de 2007. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado – PNCR – do exercício de 2006. Na forma do anexo á presente

Instrução Normativa, em conformidade com a Portaria n° 50, de 20 de Fevereiro de 2006. **Diário Oficial da União** de 03/04/2007, Seção 1, Página 2.

BRASIL (2008). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 9, de 10 de Abril de 2008. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado – PNCR – do exercício de 2007. Na forma do anexo á presente Instrução Normativa, em conformidade com a Portaria n° 9, de 30 de março de 2007. **Diário Oficial da União** de 17/04/2008, Seção 1, Página 28.

BRASIL (2009a). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 15, de 25 de maio de 2009. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado – PNCR – do exercício de 2008. **Diário Oficial da União** de 28/05/2009, Seção 1, Página 31.

BRASIL (2009a). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anexo III: Manual de Procedimentos do PNCR para Laboratórios – Área Animal. **Diário Oficial da União** de 22/07/2009, no. 138, Seção 1, Página 13.

BRASIL (2010). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Planos de Controle de Resíduos em Carne, Leite, Mel, Ovos e Pescado – PNCR – Limites Máximos de Resíduos. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 03 de maio de 2010, Seção 1, p. 29. No. 82.

BRASIL (2010). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 6, de 16 de março de 2010. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos em Carne (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado – PNCR – do exercício de 2009. Na forma do anexo á presente Instrução Normativa, em conformidade com a Portaria n° 14, de 25 de maio de 2009. **Diário Oficial da União** de 23/03/2010, Seção 1.

BRASIL (2011). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 6, de 25 de fevereiro de 2011. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes dos subprogramas de monitoramento e exploratório em Carnes (Bovina, Suína, Aves e Equina), Leite, Ovos, Mel e Pescado do exercício de 2010, na forma do anexo à presente Instrução Normativa, em conformidade com a Instrução Normativa N° 08, de 29 de Abril de 2010. **Diário Oficial da União** de 28/02/2011, Seção 1, Página 31.

BRASIL (2012). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 7, de 4 de Abril de 2012. Publica os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes dos subprogramas de monitoramento e exploratório em Carnes (Bovina, Suína, Aves e Equina), Leite, Ovos, Mel e Pescado do exercício de 2011, na forma do anexo à presente Instrução Normativa, em conformidade com a Instrução Normativa N° 24, de 09 de Agosto de 2011. **Diário Oficial da União** de 5/04/2012, Seção 1, Página 12.

BRASIL (2012) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N°11, de 22 de Maio de 2012. Publicar Subprograma de Monitoramento em

Carnes (Bovina, Suína, de Aves, de Avestruz e Equina), em Leite, Ovos, Mel e Pescado do exercício de 2012, referente ao Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal – PNCRB, na forma dos Anexos I e II à presente Instrução Normativa, **Diário Oficial da União** de 25/05/2012, Seção 1, Página 4.

BRASIL (2013) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 7, de 27 de Março de 2013. Publicar os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes dos subprogramas de monitoramento e exploratório em Carnes (Bovina, Suína, de Aves, de Avestruz e Equina), em Leite, Ovos, Mel e Pescado do exercício de 2012, na forma dos Anexos à presente Instrução Normativa, em conformidade com a Instrução Normativa n° 11, de 22 de Maio de 2012.

BURG, R. W.; STAPLEY, E. O. Isolation and characterisation of the producing organism in ivermectin and abamectin In: CAMPEBELL, W.C. (Ed.). **Ivermectin and Abamectin**. New York: Springer, 1989. P. 24-32.

CARVALHO, M. P. *et. al.* Cenário para o leite no Brasil em 2020. Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 2007.

CARVALHO, V. R. F. Indústria de laticínios no Rio Grande do Sul: um panorama após o movimento de fusões e aquisições. **1º Encontro de Economia Gaúcha**, 2002. Disponível em: [www.fee.tche.br/sitefee/download/eeg/1/mesa\\_10\\_carvalho.pdf](http://www.fee.tche.br/sitefee/download/eeg/1/mesa_10_carvalho.pdf). Acesso em: Janeiro. 2012.

CASALI, M. S. **O sistema agroindustrial do leite do Rio Grande do Sul e a estrutura de governança nas transações com leite em cruz alta – RS**. Dissertação (Mestrado em Administração) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria,RS, 2012.

CHEESEMAN, C. L. *et. al.* High-affinity ivermectin binding to recombinant subunits of the *Haemonchus contortus* glutamate-gated chloride channel. **Molecular Biochemical Parasitology**, Iowa, v. 114, p. 161-168, 2001.

CHICARINO, L. R. D. Programa Nacional de controle de resíduos: Regulamentação e implantação gradativa. Brasília, 2007.

COLES, G. C. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: Why so few cases? **Veterinary Research**, Paris, v. 33, n. 5, p. 481-489. 2002.

COSEA, CONSELHO NACIONAL DE SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL, A Segurança Alimentar e Nutricional e o Direito Humano à Alimentação Adequada no Brasil Realização - **Indicadores e Monitoramento** - da Constituição de 1988 aos dias atuais. 2010. Disponível em <http://www2.planalto.gov.br/consea/biblioteca/publicacoes/a-seguranca-alimentar-e-nutricional-e-o-direito-humano-a-alimentacao-adequada-no-brasil>. Acessado em março de 2013.

COSTA, E. O. Qualidade do leite: Contagem de células somáticas e resíduos de antimicrobianos. **Publicação eletrônica para o Núcleo Oeste de Médicos Veterinários**. 2009. Disponível em:

[www.nuclevet.com.br/novosite2/nucleo/pdfs/ac/ac\\_bov10.pdf](http://www.nuclevet.com.br/novosite2/nucleo/pdfs/ac/ac_bov10.pdf). Acessado em Janeiro de 2012.

COSTA, E. O.; Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S.L, BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.<sup>a</sup>. 2002, p. 442-455.

DANAHER, M. *et. al.* Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 844, p.175–203, 2006

ECHEVARRIA, F. A. M. & TRINDADE, G. N. P. Anthelmintic resistance by *Haemonchus contortus* to ivermectin in Brazil. **Veterinary Research**, Paris, n. 124, p. 147-148. 1989.

ECHEVARRIA, F. *et. al.* The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 62, p. 199-206. 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA (EMBRAPA). Sistema de Produção de Leite – Mercado e Comercialização. Juiz de Fora, MG: **EMBRAPA Gado de Leite**, 2003. Disponível em: <http://sistemadeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteZonadaMataAtlantica/mercados.html>. Acessado em janeiro de 2013.

FAGUNDES, C. M. **Antibióticos. Inibidores e Controle de Qualidade**. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária – UFPel, Pelotas, 1997. p. 35-57.

FAGUNDES, C. M. **Inibidores e controle de qualidade do leite**. Pelotas: Editora Universitária, Pelotas, 1997. p. 128.

FAO (2003). Food and agriculture organization of the United Nations. The State of Food Insecurity in the World (SOFI).<http://www.fao.org/docrep/006/j0083e/j0083e00.htm>. Acessado em 02.09.2012.

FAO (2010). Food and agriculture organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acessado em 20.07.2012.

FAO STAT/FAO 2008 – Food And Agriculture Organization Of The United Nations <http://faostat.fao.org/faostat/collectons?hasbulk=0&subset=FoodQuality&&language=EN> . Acessado em 12/03/2011

FAO. Codex Alimentarius: resíduos de medicamentos veterinários em los alimentos. 2. ed. Roma, 1993. v. 3. Disponível em [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net)

FINAMORE, E. B.; MAROSO, M. T. D. A dinâmica da cadeia de lácteos gaúcha no período de 1990 a 2003: um enfoque no Corede Nordeste. Disponível em: <http://www.fee.tche.br/3eeg/Artigos/m01t01.pdf>. Acesso em: Dezembro. 2011.

FISHER, M. H.; MROZIK, H. Chemistry in Ivermectin and Abamectin in: CAMPBELL, W.C. (Ed.) **Ivermectin and Abamectin**. New York: Springer, 1989. p. 1-23.

FLOATE, K. D. Endectocide use in cattle and fecal residues: environmental effects in Canada. **The Canadian Journal of Veterinary Research**. Leth bridge Research Centre, Ottawa, p.1-10. 2006.

FURTADO, M. M. Principais problemas dos queijos: causas e prevenções. São Paulo: **Fonte Comunicações e Editora**, 1999, p 176.

GEARY, T. G. *et. al.* Haemonchus contortus: ivermectin-induced paralysis of the pharynx. **Experimental Parasitology**, New York, v. 77, p. 88-96, 1993.

GODKIN, A. Qualidade de leite ao redor do mundo: o papel da CCS. **in: Simpósio Internacional Sobre Qualidade do Leite**, 2. 2000, Curitiba. Anais...Curitiba: UFPR, 2000. p. 09-16.

GUIMARÃES, J. N. Transnacionalização das Cooperativas de Laticínios: Estudo de caso das Cooperativas Brasileiras em comparativo com as Cooperativas Internacionais, visando à Competitividade Globalizada. **Revista de Administração da Unimep**. Piracicaba, v. 6, n.1, jan./abr., 2008.

HOSMER JR, D. W.; LEMESHOW S. 1989. **Applied logistic regression**. Wiley, New York. 307p.  
<http://faostat.fao.org/faostat/collections?hasbulk=subset=FoodQuality&&language=EN>.

HUBER, W. G. Chemical in animal products. In: Hubbert, W.T. *et al*, ed. **Diseases Transmitted from animal to man**. 6<sup>th</sup> ed. Springfield, III., Charles C. Thomas, 1975. P. 1073-83.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: dezembro. 2012.

KAPLAN, R. M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: A status report. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 20 n. 10, p. 477-481. 2004.

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: Milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Science**, v.48, n.167-188, 1981.

KLAFKE, G. M. **Diagnostico e mecanismo de resistência a ivermectina em *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae)**. Tese (Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) - Universidade de São Paulo, Tese: Doutorado. São Paulo, 2011.

KLAFKE, G. M. *et. al.* Larval immersion Test with ivermectin in population of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam 142, p. 386-390, 2006.

LARA, W. H.; BATISTA, G. C. Pesticidas. *Química Nova*, v. 15, n. 2, 1992.

LOBATO, V.; RATH, S.; REYES, F. G. R. Occurrence of ivermectin in bovine milk from the Brazilian retail market. **Food Additives & Contaminants, London**, Part. A, v. 23 n. 7 p.668-673, july. 2006.

LOPES, M. O. **Levantamento do uso e detecção da presença de antimicrobianos no leite produzido na Região Metropolitana de Curitiba**. Curitiba. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. , 2002.

LUCHIARI, F.; II SIMBOI – Simpósio sobre desafios e novas tecnologias na Bovinocultura de corte, Brasília, Brasil, 2006.

MCMANAMAN J. L., NEVILLE M. C. Mammary physiology and milk secretion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, vol. 55, p. 629–641.2003.

MARION, P. J. F.; FAGUNDES, J. O.; SCHUMACHER, G. A produção de leite no rio grande do sul: produtividade, especialização e concentração. **Revista de Economia e Agronegócio**, v.9, nº 2. 2011

MARTINS, J. R. S.; **Carrapato *boophilus microplus* (can. 1887) (acari: ixodidae) resistente a ivermectina, moxidectina e doramectina. Rio Grande do Sul, brasil**. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Brasil, 2006.

MARTINS, J. R.; FURLONG, J. Avermectin resistance of *Boophilus microplus* in Brazil. **Veterinary Research, Paris**, v.49, n. 2, p. 64, 2001.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: **Simpósio internacional sobre qualidade do leite**, 1.1998, Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR, 1998. p. 40-43.

MORO, G.; **Qualidade do leite na região nordeste do Rio Grande do Sul: Níveis de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. 2012.

NETTO. *et. al.* 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/Março, 2005.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Organizações das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO). Comissão do *codex Alimentarius*. **Diretrizes para la producción, elaboración, etiquetado y comercialización de alimentos producidos orgánicamente**. Roma: OMS, 1999. Disponível em: [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net). Acessado em Julho de 2012.

PITHAM; SILVA, R. O.; STAUDT, N. P. Mudança de status dos lácteos brasileiros no mercado internacional. Análises e Indicadores do Agronegócio, v.3, n.6, junho de 2008. **Instituto de Economia Agrícola**: São Paulo, 2008. Disponível em:[www.iea.sp.gov.br](http://www.iea.sp.gov.br). Acessado em Janeiro de 2013.

ROSANOVA, C.; RIBEIRO, D.C. Caracterização Sócio-Econômica Dos Produtores De Leite Da Agricultura Familiar E Análise Da Informalidade No Município De Palmas/To. Anais eletrônicos - **1ª jornada de iniciação científica e extensão do IFTO**. Disponível em: <http://www.ifto.edu.br/jornadacientifica/wp-content/uploads/2010/12/09-CARACTERIZA%C3%87%C3%83O-S.pdf>. Acesso em janeiro de 2013.

RÜBENSAM, G. *et. al.* A liquid–liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and fluorescence detection, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, doi:10.1016/j.aca..02.041 2011.

SANCHES, S. M. *et. al.* Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba**, p. 13- 53, 2003.

SCHAEFFER, J. M.; HAINES, H.W. Avermectin binding in *Caenorhabditis elegans*: a two-state model for the avermectin binding site. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, 38 (14): 2329-2338, 1989.

SCHNEIDER, S.; SILVA, M. K.; MARQUES, P. E. M. Histórico, caracterização e dinâmica recente do PRONAF – Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar. **Políticas Públicas e Participação Social no Brasil Rural**. Porto Alegre, p. 21-50, 2004.

SHOOP W. L., MROZIK H., FISHER M. H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 59, p. 139-156, 1995.

SILVA, E. P. **Validação de Método de Extração de Análise Multirresíduo de Agrotóxicos em Carne Bovina por Cromatografia Gasosa**. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)- Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais. Brasil, 2008.

SILVEIRA, V. C. P; PEDRAZZI, P. R. As transformações na cadeia produtiva do Leite: impactos no Rio Grande do Sul e em Santa Maria. Santa Maria, 2002. Disponível em: <http://www.ufsm.br/cieper/mainfiles/Resumo/CPILeite2.doc>. Acesso em: out. 2011.

SINDAN - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal. **Mercado veterinário por classe terapêutica e espécie animal**. São Paulo, SP. Disponível em [<http://WWW.sindan.org.br>]. Acesso em: janeiro de 2013

SINDILAT- Sindicato da Indústria de Laticínios e Produtos Derivados do Estado do Rio Grande do Sul. **Agricultura familiar: Produção**. Disponível em: <http://www.sindilat.com.br/noticias.php?p=noticias&iId=3455&sLang=br>. Acesso em Janeiro de 2013.

SOUZA, P. J. *et. al.* Aplicação da técnica de microextração em fase sólida na análise de acaricidas em carne bovina. **II Simpósio de Iniciação Científica da Embrapa Pecuária Sudeste**. 2007.

SOUZA, U. A. *et al.* Frequência de nematódeos intestinais e *Eimeria spp.* em bovinos leiteiros do noroeste colonial do Rio Grande do Sul. Resumos. **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**. São Luis - MA. p. 95. 2012.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara: Koogan, p. 379-458.2002.

SPISSO, B. F.; NÓBREGA, A. W.; MARQUES M. A. S. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, vol. 14, nº. 6, p. 2091-2106. 2009.

STATA CORP. 2011. **Stata Statistical Software: Release 12**. College Station, TX: StataCorp LP.

UHLINGER, C. A. Programas de controle parasitário. In: SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. 1 ed. São Paulo: Editora Manole, 1993. p. 1505-1528.

USDA. United States Department of Agriculture. **World Markets and trade**. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2009/122909dairyfull.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2010.

VILARINHO, M. R. Questões sanitárias no agronegócio, Disponível em [www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2006/artigo.2006-03-28](http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2006/artigo.2006-03-28), acessado: fevereiro de 2013.

WAGNER, S. A.; GEHLEN, I.; WIEST, J. M. Padrão tecnológico em unidades de produção familiar de leite no Rio Grande do Sul relacionado com diferentes tipologias. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, pp.1579-1584, 2004. Disponível em: [www.scielo.br](http://www.scielo.br). Acessado: janeiro de 2013.

WEAVER, L. D. Antibiotic residues in milk and meat: Perceptions and realities. **Veterinary Medicine**, San Diego, p. 1222-1228, 1992.

WHO. Environmental Health Criteria. Deltamethrin. **Who Technical Report Series**, N.97,1990.

YATES, D. M.; PORTILL, O. V.; WOLSTENHOLME, A. J. The avermectin receptors of *Haemochus contortus* and *Caenorhabditis elegans*. **International Journal for Parasitology**, Stuttgart, v. 33, p.1183-1193, 2003.

ZOCAL, R.; SOUZA, A. D.; GOMES, A. T. Produção de leite na agricultura familiar. In: MARTINS, C. E. *et al.*(Org.) **Tecnologias alternativas para a produção do leite e derivados em bases sustentáveis**. 1ª Ed. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, v.1, 2004, PP. 19-34. Disponível em: [www.cnpqgl.embrapa.br](http://www.cnpqgl.embrapa.br). Acessado em dezembro de 2011.

ZOCAL, R.; ALVES, E. R.; GASQUES, J. G. Diagnostico da pecuária de leite nacional. Plano Pecuário 2012. **Embrapa Gado de leite**, Campo Grande, 2011.

## APÊNDICE

APÊNDICE 1 - Questionário para avaliação do perfil dos produtores e detecção do risco associado à ocorrência de lactonas macrocíclicas no leite.....	55
--	----

**PROJETO: APOIO A SANIDADE DO GADO LEITEIRO EM PROPRIEDADES DE AGRICULTURA FAMILIAR – IPVDF, Apoio: CNPq/MDA**

**CÓDIGO DA PROPRIEDADE NO PROJETO:** \_\_\_\_\_

**SOBRE A LOCALIZAÇÃO DA PROPRIEDADE:**

1. Proprietário(a): \_\_\_\_\_

2. Município: \_\_\_\_\_ Região: \_\_\_\_\_

3. Localidade: \_\_\_\_\_

4. Área da Propriedade: Área total \_\_\_\_\_ ha

**5. Informações sobre os(as) moradores(as) da propriedade:**

Nome	Idade	Grau de Parentesco	Escolaridade	Realiza a ordenha?

**6. A principal atividade desenvolvida na propriedade é a produção de leite?**

Não

Sim

**7. Quantidade de animais em lactação?** \_\_\_\_\_

**8. Qual a origem dos animais da propriedade?**

Mista (Reposição da propriedade e compra de terceiros)

Exclusivo reposição da propriedade

SR

**9. Raça de animais Predominante na propriedade?**

Jersey

Holandesa

Outras \_\_\_\_\_

**10. Presença de gado de corte na propriedade?**

Não

Sim

**11. O sistema de produção?**

Confinamento

Semi-confinamento

A pasto

**12. Qual a produção média de leite?**

- Verão: \_\_\_\_\_ litros/mês - Inverno: \_\_\_\_\_ litros/mês

**13. Qual o tipo de ordenha realizada na propriedade?**

Manual  Mecânica tipo “balde ao pé”  mecânica canalizada até o resfriador

**14. Na propriedade existem problemas relacionados à quais destas parasitoses?**

Carrapato

Verminose

Carrapato + Verminose

Outros

**15. Existe problema de Tristeza Parasitária Bovina (TPB) na propriedade?**

Não

Sim

SR

**16. Doença mais comum na propriedade: Verminose?**

Não

Sim

SR

**17. Doença mais comum na propriedade: TPB?**

Não

Sim

SR

**18. Antiparasitários utilizados na propriedade?**

Não

Avermectinas e milbemcias (LMs)

outros \_\_\_\_\_

SR

**19. Antibióticos utilizados na propriedade?**

Não

Sim

SR

**20. Quem geralmente aplica os medicamentos nos animais?**

Veterinários

Técnicos da Cooperativa ou Prefeitura

Leigos

SR

**21. Utiliza assistência veterinária?**

Não

Assistência periódica do veterinário a cada \_\_\_\_\_ meses

Procuo assistência veterinária quando há problema

SR

**22. Há quanto tempo a família trabalha com produção leiteira? \_\_\_\_\_ anos**

**23. Participação em cursos?**

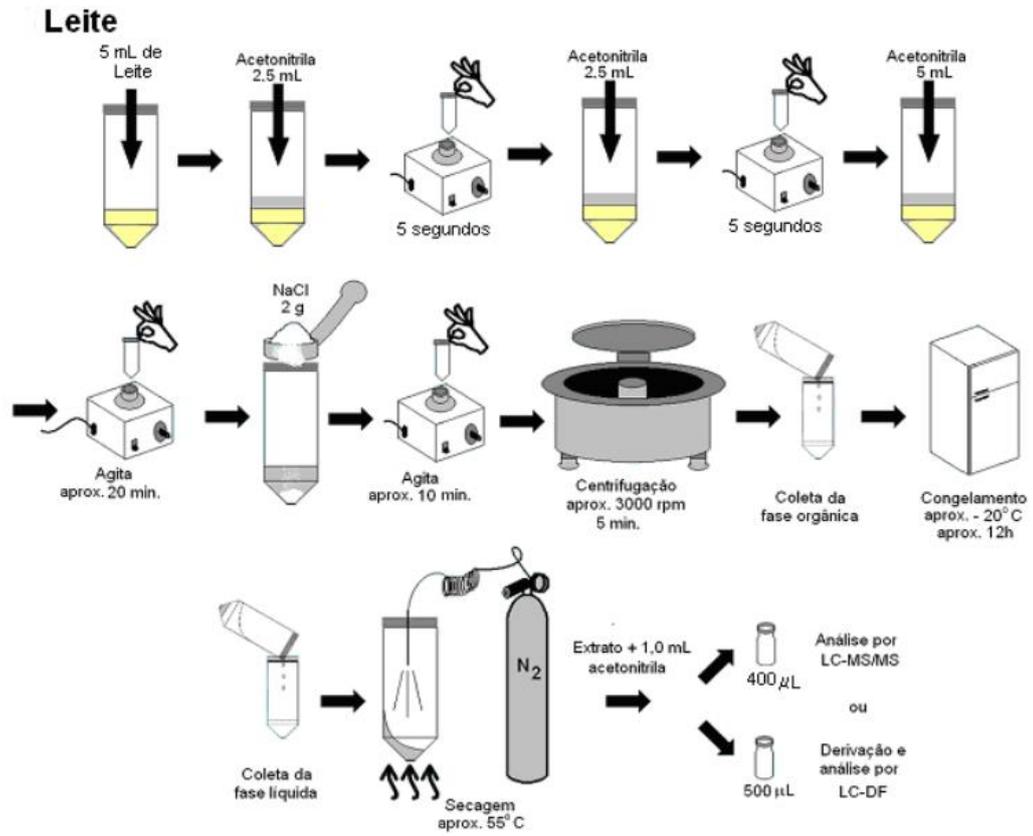
Não

Sim

SR

**ANEXO**

ANEXO 1-Fluxograma de extração de lactonas macrocíclicas em amostras de leite... 58



Fonte

: Gabriel Rubensam