

Plano Amostral e Inferência Estatística na Detecção de Antibióticos no Leite

Eric B Ferreira

2º Workshop Qualidade do Leite Brasileiro

29 de abril de 2019

Por que

...um estatístico?





DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO



Publicado em: 30/11/2018 | Edição: 230 | Seção: 1 | Página: 9

Órgão: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Gabinete do Ministro

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 76, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018

CAPÍTULO I

REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE LEITE CRU REFRIGERADO

Art. 6º O leite cru refrigerado não deve apresentar substâncias estranhas à sua composição, tais como agentes inibidores do crescimento microbiano, neutralizantes da acidez e reconstituintes da densidade ou do índice crioscópico.

Parágrafo único. O leite cru refrigerado não deve apresentar resíduos de produtos de uso veterinário e contaminantes acima dos limites máximos previstos em normas complementares.

Problemas dos resíduos (NETTO et al., 2005)

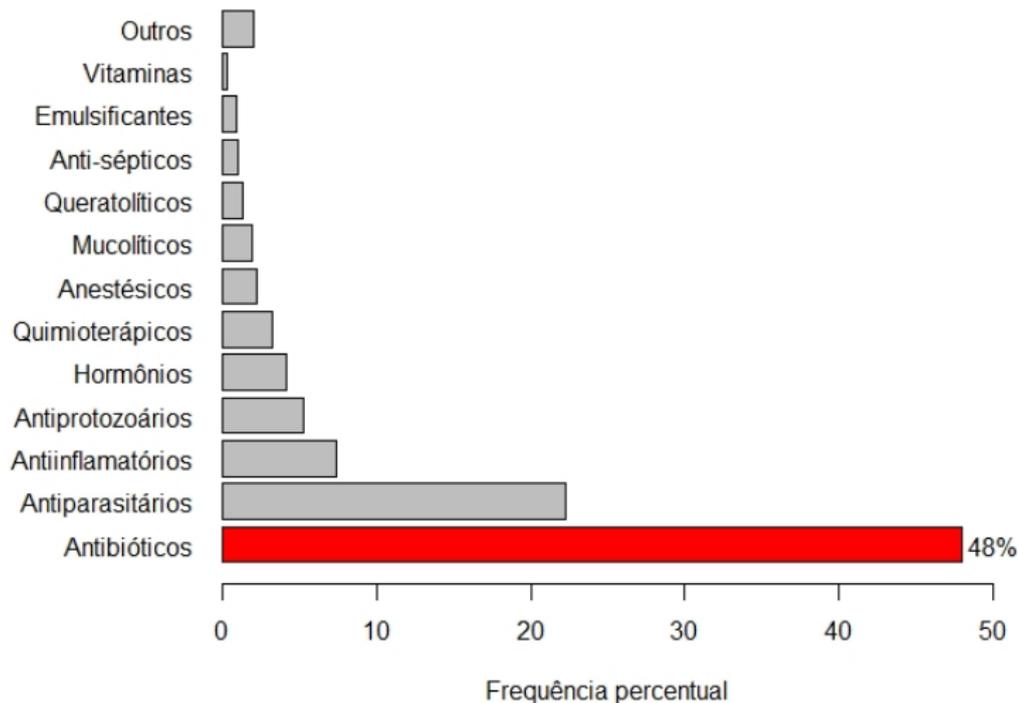
1 Segurança alimentar

- reações de hipersensibilidade
- resistência à antibioticoterapia
- indesejáveis pelos consumidores

Problemas dos resíduos (NETTO et al., 2005)

- 1 Segurança alimentar
 - reações de hipersensibilidade
 - resistência à antibioticoterapia
 - indesejáveis pelos consumidores
- 2 Tecnológico: inibição de culturas lácteas

Famílias de antibióticos (NETTO et al., 2005)



Nascimento, Maestro e Campos (2001)

Tabela 1. Resíduos de substâncias antimicrobianas em amostras de leites comercializados na cidade de Piracicaba.

Marcas	n	Penicilina		Outros inibidores		Indeterminados		Total	
		F	%	F	%	F	%	F	%
A	16	5	31,25	1	6,25	1	6,25	7	43,75
B	16	1	6,25	1	6,25	-	-	4	25,00
C	16	8	50,00	-	-	-	-	10	62,50
D	16	6	37,50	1	6,25	1	6,25	8	50,00
E	16	6	37,50	2	12,50	-	-	9	56,25
F	16	1	6,25	8	50,00	-	-	10	62,50
Total	96	27	28,12	15	15,62	2	12,50	48	50,00

Marcas de leite: A e B = tipo B; C e E = tipo C; D = tipo A; F = longa vida.
F = Frequência de aparecimento de resíduos de antibióticos.



DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO



Publicado em: 30/11/2018 | Edição: 230 | Seção: 1 | Página: 10
Órgão: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Gabinete do Ministro

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 77, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018

Art. 33. Para detecção de resíduos de produtos de uso veterinário a análise deve ser realizada no **leite do conjunto dos tanques ou dos latões de cada veículo transportador**.

§ 1º Para cada recebimento do leite, deve-se realizar análise de **no mínimo dois grupos** de antimicrobianos.

§ 2º O estabelecimento deve realizar, em **frequência determinada em seu autocontrole**, análise do leite para **todos** os grupos de antimicrobianos para os quais existam especificações de triagem analíticas disponíveis.

Art. 37. O estabelecimento que constatar não conformidade no leite analisado no caminhão ou compartimento de tanque ou conjunto de latões na recepção do leite deve proceder à **avaliação individualizada** das amostras dos produtores individuais ou dos tanques de uso comunitário referentes ao leite implicado, para fins de rastreabilidade e identificação de causas da não conformidade.

Antimicrobianos



Famílias de antibióticos

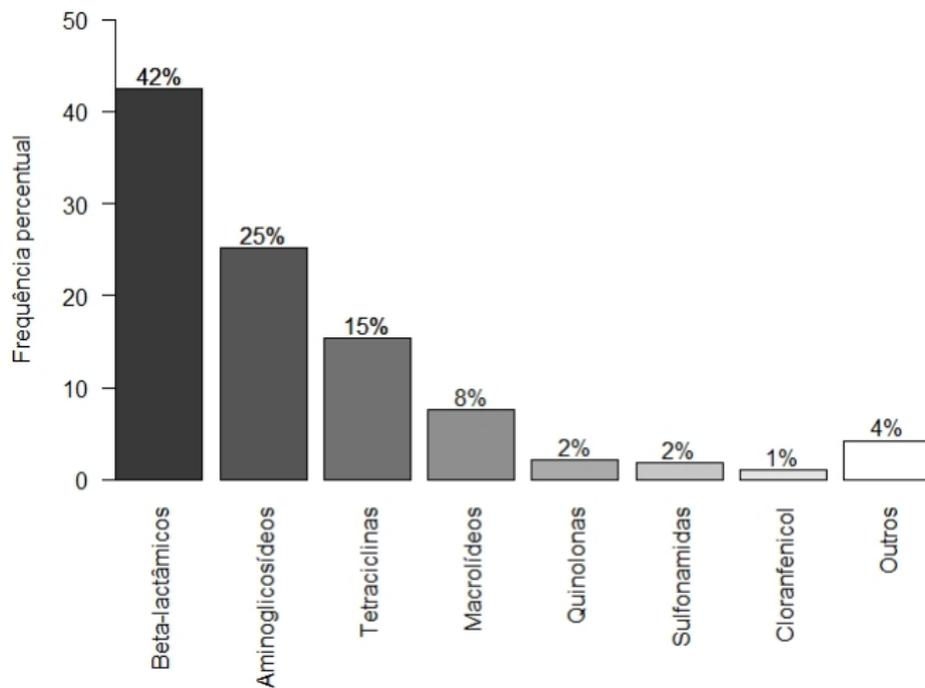
- 1 β -lactâmicos
- 2 Tetraciclinas
- 3 Quinolonas
- 4 Sulfonamidas
- 5 Macrolídios
- 6 Cloranfenicóis
- 7 Aminoglicosídeos

Famílias de antibióticos (NETTO et al., 2005)

Antimicrobianos	% do total de antimicrobianos
Penicilinas*	38,22
Aminoglicosídeos*	25,19
Tetraciclinas*	15,41
Macrolídeos*	7,59
Cefalosporinas*	4,19
Quinolonas**	2,22
Sulfonamidas**	1,87
Diaminopiridinas**	1,28
Análogos do	
Cloranfenicol*	1,04
Polimixinas*	0,77
Isoniazida**	0,59
Novobiocina*	0,48
Nistatina*	0,40
Nitrofuranos**	0,37
Bacitracina*	0,37
Total	100,00

*Antibióticos; ** Quimioterápicos

Famílias de antibióticos



Famílias de antibióticos

HEXIS
CIENTÍFICA

CHARM
SCIENCES INC

NOVO KIT CHARM ED BRASIL



UM TESTE COMPLETO CRIADO PARA SEU ESTUDO DE DROGAS, QUE CONTÉM:

Um kit capaz de monitorar os principais grupos e drogas existentes (betalactâmico, tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas, aminoglicosídeos, macrolídeos e anfenicóis).

25 FITAS CHARM QUAD® 1

Grupo

Beta + Tetra + Sulfa +
Quinolonas

Drogas

Cefotiofur, Penicilina,
Tetraciclina, Enrofloxacina,
Norfloxacina, Danofloxacina,
Sulfonamidas, entre outros.

25 FITAS CHARM QUAD® 2 + GENTA

Grupo

Macrolídeos
Gentamicina

Drogas

Espiramicina, Lincomicina,
Eritromicina, Gentamicina,
entre outros.

25 FITAS CHARM QUAD® 3

Grupo

Aminoglicosídeos

Drogas

Neomicina, Estreptomicina,
entre outros.

25 FITAS CHARM AMPH

Grupo

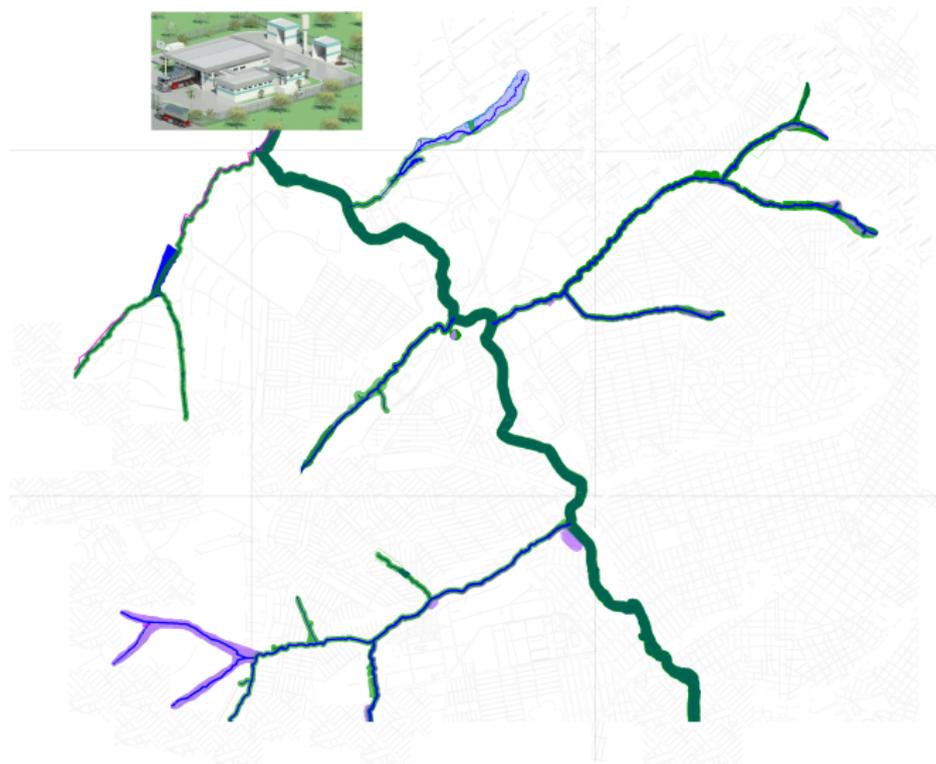
Anfenicóis
Cloranfenicol

Drogas

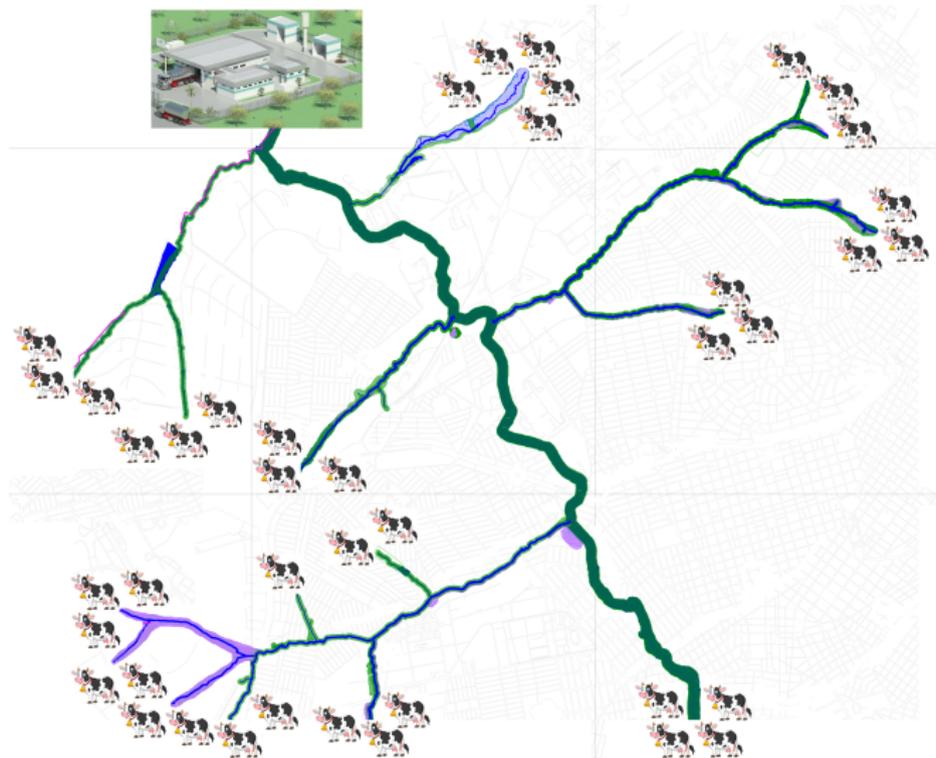
Cloranfenicol, Florfenicol
e Tianfenicol.

* Acompanha controle positivo para liberação do teste.

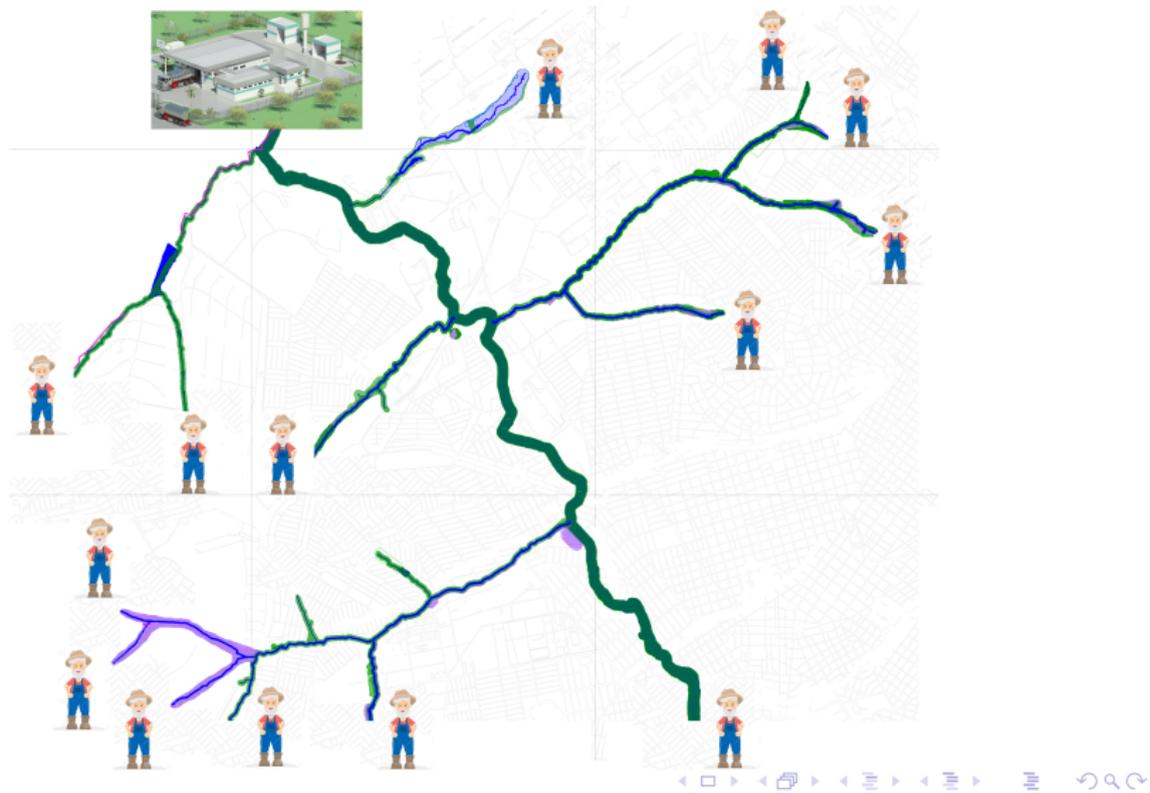
Definição do espaço amostral (Ω)



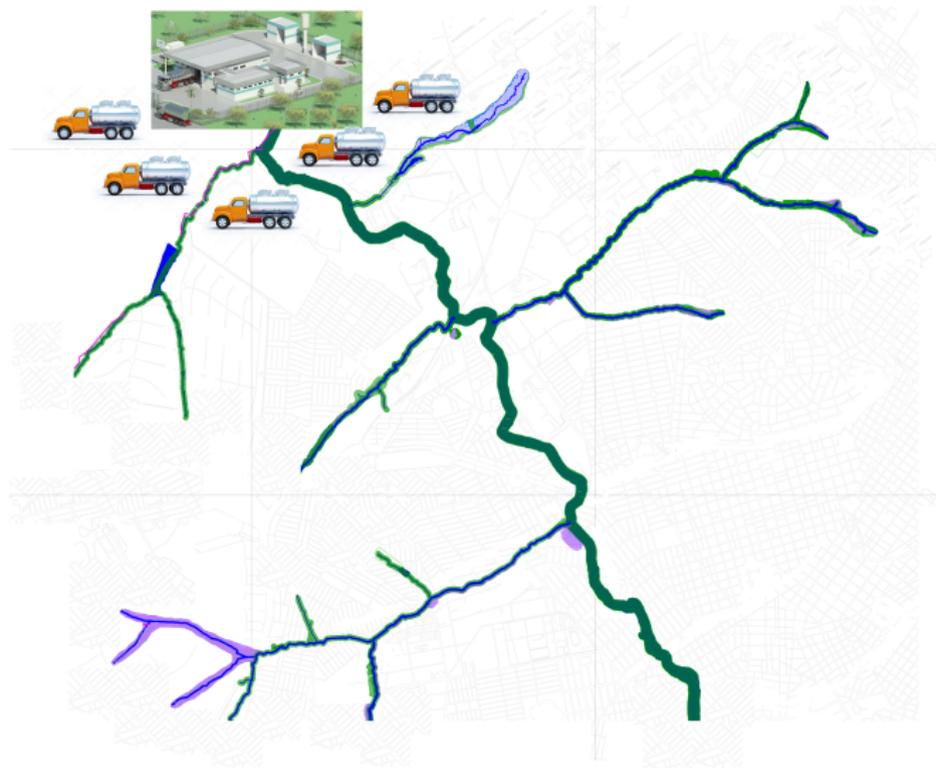
Definição do espaço amostral (Ω)



Definição do espaço amostral (Ω)



Definição do espaço amostral (Ω)



Amostragem

- Animal → Produtor → Compartimento → Caminhão
- Limites de detecção
- Falsos negativos
- Precisão \propto Custo

Plano amostral

1) Estabelecimento dos dois grupos mais frequentes.

Ex: β -lactâmicos e tetraciclinas.

Plano amostral

2) Análise de todo caminhão para os antimicrobianos mais frequentes: Amostragem Não-aleatória Proporcional.

Ex: Caminhão com 3 mil, 5 mil e 2 mil litros → Amostra composta: 3ml, 5ml e 2ml

Plano amostral

3) Investigação, para todos os grupos, dos m produtores presentes no caminhões positivados.

Ex: Em 10 caminhões, 2 positivos.

(1°) 5 produtores: 1 (+ β) e 1 (+*Tetra*);

(2°) 4 produtores: 1 (+*Amino*).

$m = 9$ produtores

Plano amostral

4) Cálculo do tamanho amostral (n):

$$n \geq \frac{z_{\alpha/2}^2 \hat{p} \hat{q} N}{(N-1)e^2 + z_{\alpha/2}^2 \hat{p} \hat{q}}$$

$$\hat{p} = 3\%$$

$$\hat{q} = 97\%$$

$$N = 100$$

$$\gamma = 90\%$$

$$z_{\alpha/2} = 1,96$$

$$e = 2\%$$

$$n = 67 \text{ produtores}$$

Plano amostral

5) Análise de todos os grupos em $n - m$ produtores sorteados por Amostragem Aleatória Simples.

Ex: $n - m = 67 - 9 = 58$ produtores

Inferência

6) Estimar as proporções diárias.

Ex:

Grupo	Positivos	Estimativa	IC(95%)
<i>β</i> -lactâmicos	5	7,46%	4,91%-10,00%
Tetraciclinas	2	2,98%	1,33%-4,64%
Quinolonas	0	0,00%	
Sulfonamidas	1	1,49%	0,31%-2,67%
Macrolídios	0	0,00%	
Cloranfenicóis	0	0,00%	
Aminoglicosídeos	1	1,49%	0,31%-2,67%
Total	9		

Plano amostral

7) Utilizar os dois mais frequentes para voltar ao passo (1).

Considerações Finais

- a. Rotineiramente devem ser investigados apenas os casos positivos.

Considerações Finais

- a. Rotineiramente devem ser investigados apenas os casos positivos.
- b. Recomenda-se que os casos positivos, mesmo rotineiramente, sejam investigados para todos os grupos.

Considerações Finais

- a. Rotineiramente devem ser investigados apenas os casos positivos.
- b. Recomenda-se que os casos positivos, mesmo rotineiramente, sejam investigados para todos os grupos.
- c. A frequência com que esse procedimento é feito depende da precisão que se deseja.

Considerações Finais

- a. Rotineiramente devem ser investigados apenas os casos positivos.
- b. Recomenda-se que os casos positivos, mesmo rotineiramente, sejam investigados para todos os grupos.
- c. A frequência com que esse procedimento é feito depende da precisão que se deseja.
- d. Aconselha-se que seja feito pelo menos 1 vez a cada 3 meses (estação do ano).

Considerações Finais

- a. Rotineiramente devem ser investigados apenas os casos positivos.
- b. Recomenda-se que os casos positivos, mesmo rotineiramente, sejam investigados para todos os grupos.
- c. A frequência com que esse procedimento é feito depende da precisão que se deseja.
- d. Aconselha-se que seja feito pelo menos 1 vez a cada 3 meses (estação do ano).
- e. Os casos positivos de resíduos podem ser acumulados para se estimar a proporção de incidência de cada grupo.

Referências

BRASIL. Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018.

BRASIL. Instrução Normativa nº 77 de 26 de novembro de 2018.

NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P.
Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. *Rev. Nutr.*, Campinas, 14(2): 119-124, maio/ago., 2001.

NETTO et al. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 2005.

eric.ferreira@unifal-mg.edu.br

