

## **Resum**

Els residus d'antibiòtics en la llet i altres productes d'origen animal constitueixen un aspecte de gran importància per a la salut pública, ja que poden causar problemes toxicològics en consumidors sensibles i contribuir a la generació de resistències antimicrobianes. A més, la presència d'estos residus pot tindre un efecte negatiu en la indústria làctia, afectant els processos de fermentació necessaris per a elaborar determinats productes lactis, com són el iogurt i el formatge, que són el principal destí de la producció de llet de cabra. Per a protegir al consumidor la Unió Europea ha establert els Límits Màxims de Residus (UE-LMR) per a diferents medicaments veterinaris en la llet crua. No obstant això, la transferència d'estes substàncies de la llet al formatge ha sigut poc estudiada i, per tant, actualment es desconeix el possible impacte de la presència en la llet de quantitats admissibles d'antibiòtics sobre el procés d'elaboració i la seguretat del formatge.

L'objectiu de la tesi ha sigut avaluar la transferència dels antibiòtics més emprats en el bestiar caprí lleter, des de la llet a formatges frescos i curats, així com l'efecte sobre el procés de fabricació i la qualitat dels formatges durant la maduració. Per a aconseguir este objectiu diversos estudis han sigut realitzats utilitzant el ramat experimental de cabres de raça Murciano-Granadina i la planta pilot de la Universitat Politècnica de València (Espanya).

En el primer estudi, llet crua de cabra lliure d'antibiòtic va ser fortificada individualment amb set antibiòtics (amoxicilina, bencilpenicilina, cloxacilina, eritromicina, ciprofloxacina, enrofloxacina i oxitetraciclina) a una concentració equivalent d'UE-LMR que va ser utilitzada per a la fabricació de formatge Tronchón curat. Els anàlisis es van realitzar a diferents temps de maduració (0, 30 i 60 dies) per a determinar l'antibiòtic residual, pH, composició química, activitat proteolítica i lipolítica, paràmetres de textura i color, així com l'avaluació sensorial del producte final a 60 dies. La major part dels antibiòtics en la llet no van afectar al procés de fabricació. Només l'eritromicina i l'oxitetraciclina van incrementar significativament el temps requerit en el procés d'elaboració del formatge ( $122\pm 29$  i  $108\pm 25$  min, respectivament). Respecte a les característiques del formatge, les poques diferències trobades es van referir a la concentració d'àcids greixos lliures, el color i les propietats de textura, però majoritàriament no van ser detectades en l'avaluació sensorial. No obstant això, quantitats variables d'antibiòtics, de 7,4 a 68%, es van transferir de la llet que contenia concentracions equivalents al MRL, al formatge. Les quinolones i l'oxitetraciclina van presentar les més elevades taxes de retenció, així com persistència al llarg de la maduració,

amb altes concentracions de quinolones (enrofloxacina:  $148\pm 12$  µg/kg; ciprofloxacina:  $253\pm 24$  µg/kg) i d'oxitetraciclina ( $20\pm 5,7$  µg / kg) després dels 60 dies de curació.

Atés que l'oxitetraciclina és un dels antibiòtics més emprats en el bestiar caprí lleter, un estudi semblant va ser realitzat usant diferents concentracions d'oxitetraciclina pròximes al LMR (0, 50, 100, and 200 µg/kg) en la llet de cabra destinada a la fabricació de formatge. Igual que en l'estudi anterior, la presència d'oxitetraciclina va augmentar el temps requerit per a la fabricació formatge, el temps va ser major conforme la concentració d'antibiòtic augmentava ( $26\pm 7,2$ ;  $117\pm 23,6$ ;  $217\pm 28,4$  min, respectivament). La presència d'oxitetraciclina a penes va modificar les característiques organolèptiques dels formatges madurats, com la textura, el color i la microestructura, les diferències de la qual van ser pràcticament indetectables, encara que la concentració d'antibiòtic en la llet fora el doble del LMR establert. D'altra banda, la concentració d'oxitetraciclina no va afectar el perfil de compostos volàtils dels formatges Tronchón, els quals van ser comparats cada quinze dies durant un període de maduració de 60 dies, encara que el dit perfil sí es va modificar a causa del temps de maduració. No obstant això, l'oxitetraciclina es va transferir àmpliament de la llet al formatge, amb concentracions de residus de 3,5 a 4,3 vegades més altes que la concentració del fàrmac en la llet crua. Els residus d'oxitetraciclina van disminuir al llarg de la maduració del formatge en totes les concentracions estudiades, encara que, quantitats variables d'esta substància ( $6,6$ - $79$  µg/kg), es van trobar en els formatges curats de 60 dies el que podria ser un problema per a la salut pública.

D'altra banda, l'ús excepcional (extralabel) d'antibiòtics registrats per a altres espècies en ramat caprí és una pràctica comuna a causa de la limitada disponibilitat de medicaments registrats per a esta espècie. En estos casos el període de supressió legalment establert és de set dies com a mínim. Els antibiòtics macròlids s'apliquen àmpliament d'esta manera extralabel per a tractar la mastitis i altres malalties infeccioses com l'agalàctia contagiosa en àrees endèmiques, la qual cosa augmenta el risc de residus de medicaments en la llet, ja que no sempre es coneix el període d'eliminació requerit. Per a verificar si l'ús excepcional de macròlids (eritromicina, tilosina i espiramicina) en cabres lleteres generava residus en la llet i els formatges es va dur a terme un estudi in vivo. Els formatges es van elaborar a partir de llet de mescla d'animals tractats, abans de l'administració del fàrmac, 24 hores després del tractament i al final del període de supressió recomanat. Concentracions residuals d'eritromicina ( $234,9\pm 52,7$  µg/kg), tilosina ( $198,7\pm 57,8$  µg/kg) i espiramicina ( $1539,8\pm 469,4$  µg/kg) que superaven àmpliament els LMR establerts es van trobar en la llet a les 24 hores

després del tractament, fent impossible l'elaboració de formatge en la majoria dels casos. Després del període de set dies, només es va detectar espiramicina en la llet de cabra ( $79,6 \pm 19,2$  µg/kg) encara que no es van trobar residus d'antibiòtics en els formatges. Els resultats en este estudi suggerixen que el període de supressió de set dies pareix adequat per a garantir la seguretat de la llet després de l'administració d'eritromicina i tilosina de forma extralabel, sense cap efecte negatiu sobre la llet ni sobre les propietats del formatge. Encara que per als tractaments amb espiramicina es recomana avaluar un període de supressió més prolongat.

Finalment, l'últim estudi va tindre com a objectiu avaluar la presència de residus de medicaments en la llet pasteuritzada i en els formatges frescos a partir de llet de cabra amb antibiòtics (amoxicilina, bencilpenicilina, cloxacilina, neomicina, eritromicina, ciprofloxacina, enrofloxacina i oxitettraciclina) a nivells de seguretat (UE-LMR). També es va avaluar el marge de seguretat d'estos productes lactis per als consumidors. Els resultats van mostrar que altes quantitats d'antibiòtics, entre el 71 i el 100% de la concentració inicial en la llet crua, van romandre en la llet de cabra pasteuritzada i que van ser transferides al formatge en gran manera, amb percentatges de retenció que van oscil·lar entre 37,5 i 75%. Respecte als marges de seguretat d'estos productes lactis, es van calcular tenint en compte diferent grups d'edats (xiquets, adolescents i adults), i els efectes negatius d'estos antibiòtics sobre la salut, els resultats van indicar que el mínim marge de seguretat en la llet pasteuritzada ho van presentar la ciprofloxacina, la enrofloxacina, i l'eritromicina per al grup de xiquets. En relació al formatge fresc, es va obtindre un elevat marge de seguretat per a tots els antibiòtics i grups d'edat considerats, la qual cosa suggereix que este producte probablement no tinga efectes negatius en la salut del consumidor.

En resum, dels estudis realitzats es pot concloure que el procés d'elaboració i les propietats de qualitat dels formatges Tronchón curats 60 dies només es van veure lleugerament afectats per la presència d'antibiòtics en la llet de cabra a una concentració equivalent d'UE-LMR. No obstant això, elevades quantitats d'antibiòtics altament estables, com les quinolones, romanen en el producte final. De manera semblant, és important emfatitzar que concentracions relativament altes d'antibiòtics podrien romandre en la llet de cabra pasteuritzada i productes relacionats, com els formatges frescos i de curta maduració. La presència d'estos antibiòtics podria contribuir al desenrotllament i propagació de la resistència als antimicrobians que actualment constitueix un greu problema a nivell mundial.

Els resultats d'este treball podrien servir les autoritats de salut pública per a avaluar si els sistemes actuals de control d'antibiòtics en la llet i els productes lactis són adequats o haurien de ser revisats. Considerant les diferències en la composició de la llet de les diferents espècies i la gran varietat de formatges existents, seria aconsellable continuar l'estudi de la transferència dels antibiòtics durant els processos d'elaboració per a augmentar el marge de seguretat dels productes lactis i garantir la seguretat alimentària.