

FLÁVIA BERNARDI PAES LEME

**Presença de resíduos de antimicrobianos em amostras
de diferentes tipos de leite comercializados no município de
São Paulo**

São Paulo
2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FLÁVIA BERNARDI PAES LEME

**Presença de resíduos de antimicrobiano em
amostras de diferentes tipos de leite
comercializados no município de São Paulo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian

São Paulo
2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1491
FMVZ

Leme, Flávia Bernardi Paes

Presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de diferentes tipos de leite comercializados no município de São Paulo / Flávia Bernardi Paes Leme. – São Paulo : F. B. P. Leme, 2005.
102 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2005.

Programa de Pós-graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian.

1. Agentes antimicrobianos. 2. Leite. 3. Resíduos. 4. Laticínios. 5. São Paulo. I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: LEME, Flávia Bernardi Paes

Título: Presença de resíduos de antimicrobiano em amostras de diferentes tipos de leite comercializados no município de São Paulo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: __/__/____

Banca Examinadora

Prof. Dr: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais José (*in memoria*) e Marlene e, ao meu irmão Adriano, pelo carinho e amor inacabáveis, constante dedicação, compreensão, apoio, incentivo, paciência, por estarem sempre ao meu lado e, por tudo que representam e significam para mim. Por acreditarem nos meus sonhos e objetivos e estarem sempre me incentivando a realizá-los, custe o que custar. O amor de vocês foi de fundamental importância para a construção do meu caráter e, responsável pelo que sou hoje. Sem vocês, eu não teria chegado onde cheguei e nem, tão pouco, a execução desta obra teria sido possível....

..... Ao meu namorado Jorge pelo seu carinho, companheirismo, paciência, zelo, respeito, atenção, apoio e incentivo; além dos conselhos e palavras de conforto nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que aconteceu em minha vida, por colocar sempre pessoas maravilhosas em meu caminho, que de alguma forma me auxiliaram a me tornar uma pessoa melhor e, por permitir a realização deste trabalho.

Aos amigos e mentores espirituais por estarem sempre presentes nos momentos mais difíceis, por me auxiliarem na minha trajetória terrena, esclarecendo meu espírito e ensinando a ter sempre muita paciência e amor ao próximo.

Ao meu pai pelo que sou e consegui até hoje.

À minha mãe por tudo que fez e faz por mim, por me ajudar a crescer e ser quem sou. Pela ajuda na execução do meu trabalho e compreensão nos momentos mais difíceis.

Ao meu irmão por acreditar em mim e me incentivar e apoiar sempre, além de seu amor imensurável.

Aos amados e queridos: tia Tereza, Ítalo, Mauro, Naima, Marisa, Bruno e aos meus filhinhos de coração Bianca e César, pelo amor, apoio e dedicação.

Ao Jorge por dividir e compartilhar momentos inesquecíveis da vida, pela paz que me proporciona, pelo carinho e afeto que tem por mim. Além de sua valiosa ajuda na etapa final da realização desta obra.

Ao meu grande amigo Cléber por tudo que fez e faz por mim.

Aos queridos amigos José Basílio (Vitor) e Weyner pela amizade, carinho, afeto e por me proporcionarem momentos de diversão agradáveis e inesquecíveis.

Aos tios de coração Nicanor (Nicky), Heitor, Sidney, Eduardo, Paulo, João e Luís.

À minha orientadora Simone pela oportunidade, orientação, paciência, respeito, dedicação, compreensão, incentivo, confiança, amizade.

Ao amigo e Prof. Titular João Palermo Neto pelo carinho, atenção, oportunidade, confiança, contatos e valiosa ajuda na realização deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) que contribuíram para a realização desta obra.

A Profa. Dra. Myrna Sabino (Instituto Adolfo Lutz - IAL) pela oportunidade de participação em trabalhos científicos.

A Profa. Dra. Janete Alaburda (IAL) pelas informações e esclarecimentos.

Aos Técnicos do Laboratório de Higiene Alimentar Sandra Abelardo Sanches e Orlando Bispo de Souza pelo auxílio, incentivo, apoio e carinho.

À Maria Virgínia, Ana Cristina e Danival pela paciência, atenção, dedicação, amizade, ajuda e carinho, e agradáveis momentos de descontração.

Aos amigos de pós-graduação, Esther, Esequiel, Paula (Cuca), Paula (Larica), Luís Ivan, Ricardo, Fábio, Gisele, Maurício, Leandro, Cristina Brito, Daniel, Cristina, Patrícia (Pat Lira), Renata Paixão, Aline, Letticie, Adriano, Simone, Iara, Eugênia, Tatiana, Silvio, Albério, Jeniffer, Patrícia (Pink), Sabrina, Laura, Paulo, Alexandre (Cubatão), Ricardo Cabrera, pelos esclarecimentos, ajuda nos momentos de maior tensão e dificuldade e, principalmente, pelos agradáveis momentos de lazer que desfrutamos no decorrer destes anos.

Ao Ricardo Dias, que além da valiosa amizade, teve fundamental importância na realização desta obra.

À Suely, Theresa, Francisco pela oportunidade de aprendizado e crescimento.

À Aline Florio pela oportunidade e incentivo ao ingresso na pós-graduação.

Este trabalho teve apoio financeiro da FAPESP Auxílio Pesquisa nº 02/07052-1

RESUMO

RESUMO

LEME, F. B. P. **Presença de resíduos de antimicrobiano em amostras de diferentes tipos de leite comercializados no município de São Paulo.** [presense of antibiotic residues in differents types of comercial milk is São Paulo city]. 2005. 102 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

O setor de produtos lácteos transforma-se constantemente, uma vez que exigências feitas tanto pelo consumidor como por órgãos fiscalizadores, requerem produtos inócuos e com elevado padrão de qualidade, provocando mudanças significativas em toda a cadeia produtiva. Para tanto, medicamentos veterinários, em especial os antimicrobianos, têm sido amplamente utilizados na pecuária, quer para tratamento e prevenção de doenças, quer para incremento da produção. No entanto, quando utilizados em desrespeito às boas práticas, colocam em risco tanto a saúde animal como a humana, predispondo a população a eventuais reações alérgicas e expressão de resistência microbiana. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de resíduos de antimicrobianos de uso veterinário em amostras de diferentes tipos de leite comercializados na cidade de São Paulo, verificando se a frequência de ocorrência observada para essa contaminação correspondia à estimada de 1%. Foram analisadas, através do Delvotest[®] SP, 1.500 amostras de leite, durante os meses de abril de 2003 a março de 2004 e obteve-se dez amostras positivas, o que significa uma frequência de ocorrência de antimicrobiano no leite de 0,66%, com intervalo de confiança entre 0,32 a 1,22%, valor este, menor que o estimado.

Palavras-chave: Agentes Antimicrobianos. Leite. Resíduos. Laticínios. São Paulo.

ABSTRACT

ABSTRACT

LEME, F. B. P. **Presense of antibiotic residues in differents types of comercial milk is São Paulo city.** [Presença de resíduos de antimicrobiano em amostras de diferentes tipos de leite comercializados no município de São Paulo]. 2005. 102 f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

The dairy industry have been transformed day by day, because the consumer and the competent inspection groups that have been demanded good products without contamination and them have to be a increasing quality, so, this facts provokes significants chances in all dairy segment. About that, the antimicrobians had to been used in large scala in animals to terapy and to increase the weight quickly, so is necessary to be careful to use those products because theirs residues may be cause irritation or allergy and bacteria resistense. The presense of the antimicrobial in the milk is a very important theme since the pecuary untill the public health, because that, this assignment (work) had like objetive research the presense of residues of veterinary antimicrobial in milk sample salled in the Sao Paulo city and check if the observaded frequence is similar to the stimated frequence like 1%. The results was ten positives samples of the 1.500, that means occurence of frequency 0,66% with break between 0,32 to 1,22%, this result was smaller than hope for.

Key words: Antibiotic. Milk. Residues.

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Componentes do quite comercial Delvotest [®] SP	68
Figura 2 - Resultado Positivo: presença de resíduo de antimicrobiano no leite.....	69
Figura 3 - Resultado Negativo: ausência de resíduo de antimicrobiano no leite.....	69
Figura 4 - Ampola-teste contendo tablete de nutriente e identificada com número da amostra de leite a ser testada.....	73
Figura 5 - Distribuição de leite durante o ano e quantidade de positivos.....	76
Figura 6 - Total de Amostras positivas para presença de antimicrobiano.....	77
Figura 7 - Amostras de leite tipo A positivas para presença de antimicrobiano.....	79
Figura 8 - Amostras de leite tipo B positivas para presença de antimicrobiano.....	79
Figura 9 - Amostras de leite tipo C positivas para presença de antimicrobiano.....	80
Figura 10 - Amostras de leite UHT, marca Y, positivas para presença de antimicrobiano.....	80
Figura 11 - Amostras de leite UHT, marca X, positivas para presença de antimicrobiano.....	81

LISTA DE QUADROS

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Limites máximos de resíduos - LMRs estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* e praticados no Brasil; Canadá; UE e EUA para leite.....**34**
- Quadro 2 - Nível de detecção mínimo do teste Delvotest[®] SP para diferentes princípios ativos de substâncias utilizadas como antibióticos. Concentração em partes por bilhão - ppb ($\mu\text{g/L}$ de leite). Leitura realizada em 3 horas.....**56**
- Quadro 3 - Nível de detecção mínimo do teste Delvotest[®] SP para substâncias químicas utilizadas como detergentes e desinfetantes. Concentração em por milhão – ppb ($\mu\text{g/L}$ de leite).....**57**

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados obtidos	75
-------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIACES

LISTA DE ABREVIACOES

NOEL	<i>no effect level</i>
TGI	trato gastrointestinal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
°C	graus centígrados
EU	União Européia
EUA	Estados Unidos da América
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
IDA	Ingestão Diária Aceitável
LMR	Limite Máximo de Resíduo
L	litro
µg	micrograma
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MS	Ministério da Saúde
OIE	Organizao Internacional de Epizootias
ppb	Partes por bilhão (µg/L; µg/Kg)
ppm	Partes por Milhão (µg/mL; g/L)
PNCR	Plano Nacional Controle Resíduos Produtos de Origem Animal
PCRL	Programa de Controle de Resíduo em Leite
R\$	reais (moeda brasileira)
RIISPOA	Regulamento Inspeo Industrial e Sanitária Produtos Origem Animal
spp	espécies
TTC	cloreto 2,3,5 trifeniltetrazlico
US\$	dólares (moeda internacional)
UHT / UAT	<i>ultra high temperature</i> / ultra alta temperatura
WHO/OMS	<i>World Health Organization</i> / Organizao Mundial de Saúde

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO LITERATURA	31
2.1	CADEIA PRODUTIVA DO LEITE NO BRASIL.....	31
2.2	MASTITE BOVINA E PRODUÇÃO DE LEITE	37
2.3	ANTIMICROBIANOS NA AGROPECUÁRIA	40
2.3.1	Eliminação de Antimicrobianos pelo Leite	42
2.4	CONSEQÜÊNCIAS DO USO DE ANTIMICROBIANOS	46
2.4.1	Resistência Microbiana Induzida por Antimicrobianos	46
2.4.2	Conseqüência do Uso de Antimicrobianos na Saúde Pública	47
2.4.3	Conseqüências do uso de Antimicrobianos para a Indústria de Produtos Lácteos Fermentados	50
2.5	METODOLOGIA DISPONÍVEL PARA DETECÇÃO DE ANTIMICROBIANO.....	53
2.6	DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE	59
3	OBJETIVOS	64
3.1	OBJETIVO GERAL.....	64
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	64
4	MATERIAIS E MÉTODOS	66
4.1	MATERIAL - PROCEDIMENTO DE ANÁLISE	70
4.1.1	Teste de viabilidade do Delvotest® SP	70
4.2	MÉTODO - PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	71
5	RESULTADOS	75
6	DISCUSSÃO	83
7	CONCLUSÕES	92
	REFERÊNCIAS	94

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo per capita de leite vem se mantendo em torno de 128 litros/habitante/ano (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004; NALESSO, 2004), sabe-se que o leite fluido corresponde a 47% do total de produtos alimentícios disponíveis para o consumo humano (GOMES, 1999).

Em 2001 o Brasil ocupava o sexto lugar na produção mundial de leite (OLIVAL et al., 2002), em 2002 a produção de leite atingiu 21,64 bilhões de litros, representando um incremento de 1,13 bilhão de litros, em relação ao ano anterior, já em 2003, a produção foi de 22,3 bilhões de litros de leite (FAGUNDES, 2004).

Nos últimos 20 anos, a cadeia produtiva de lácteos teve como grande desafio, alcançar e sustentar padrões excelentes de qualidade e inocuidade dos produtos, desde a obtenção da matéria prima até o consumidor final. Fatos estes exigidos tanto pela legislação normatizadora do setor, quanto pelo mercado consumidor (BRITO; DIAS, 1998).

Um dos problemas mais freqüentes e importantes na produção leiteira é a mastite, inflamação da glândula mamária das vacas leiteiras, que causa uma baixa produtividade e reduz a qualidade do leite. De fato, Coetzer e Thomson (1994) chegaram mesmo a afirmam que 17 a 20% da população mundial de vacas leiteiras apresentam mastite em algum momento de sua vida produtiva, podendo, esta patologia reduzir a produção de leite em 10 a 15%.

Com exceção dos sistemas de produção de leite orgânico, o uso de substâncias antimicrobianas tem se tornado indispensável (COELHO; COSTA, 2002). Palermo Neto (2001) afirma que o aumento do risco da presença desses resíduos no leite pode ser causado pelo uso incorreto dos fármacos, por tratamentos desnecessários, pela administração de doses acima daquelas recomendadas, pelo uso de substâncias proibidas e pelo não cumprimento do período de carência exigido pelo princípio ativo utilizado.

O uso inadequado ou prolongado de antimicrobianos pode, também, corroborar para o aumento da ocorrência de bactérias resistentes, cujas conseqüências negativas repercutem tanto na saúde humana quanto animal (SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 1999). Este uso pode, ainda, promover pressão de seleção, favorecendo o aparecimento de um desequilíbrio na microbiota natural do trato gastrointestinal (TGI) dos animais, gerando distúrbios e conseqüentemente queda na produção (BRITO; DIAS, 1998). Barberio, Gielt e Dalvit (2002) relataram, neste sentido, que a resistência dos microrganismos frente a determinados antibióticos vem aumentando significativamente, nos últimos 10 anos, em decorrência do uso abusivo, tanto na terapêutica humana quanto animal.

Entre as conseqüências indesejáveis da presença de resíduos de antimicrobianos no leite para o consumo humano, Souza (1998) cita as irritações, especialmente aquelas que se manifestam no sistema digestório e as alergias, benignas ou malignas, que podem levar até mesmo ao choque anafilático com edema de glote.

Com o objetivo de reduzir o risco dos efeitos danosos à saúde do consumidor, em virtude da presença de resíduos de compostos químicos no leite, em especial, de antimicrobianos, estipulou-se para cada princípio ativo um Limite Máximo de Resíduo permitido – LMR, isto é, a quantidade máxima do resíduo de uma substância química que pode ser encontrada no alimento, sem que represente risco ao indivíduo que o ingere. Este valor é obtido a partir da relação entre o valor de Ingestão Diária Aceitável (IDA) e um Fator de Segurança da ordem de dez, considerando-se que uma pessoa possa ingerir até dez vezes mais alimento do que outra. Entende-se por IDA, a quantidade máxima do antimicrobiano que pode ser ingerida por um indivíduo durante toda sua vida, sem que lhe cause qualquer prejuízo à saúde. Este valor, por sua vez, deriva da divisão da NOEL - “no effect level”, obtida por ensaios de toxicidade, por um fator de segurança da ordem de 100. Entende-se por NOEL, a maior dose de uma substância química que se usada não produz qualquer tipo de efeito tóxico ou indesejável na mais sensível das três espécies de animais analisadas. Desta maneira, quantidades de resíduos de antimicrobianos presentes nos alimentos de origem animal inferiores ao LMR microbiológico são seguros para o consumo humano (PALERMO NETO, 2001). Neste sentido, o estabelecimento da IDA leva em conta a possível pressão de seleção exercida pelo antimicrobiano sobre a microbiota do TGI humano. Em outras palavras, a presença de resíduos de antimicrobianos, nos alimentos, abaixo dos LMRs não tem qualquer possibilidade de interferir com a microbiota intestinal do consumidor.

O uso de medicamentos veterinários está previsto na legislação brasileira desde o final da década de 60. Uma legislação específica estabelece a obrigatoriedade da fiscalização do emprego desses produtos, em todo o território nacional, estendendo esta fiscalização da manipulação dos produtos, ao acondicionamento e à utilização ou venda dos mesmos (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001).

O mercado brasileiro de produtos e medicamentos veterinários de uso na pecuária é bastante amplo. Sabe-se que atualmente, existem mais de 50 empresas fabricantes de medicamentos veterinários, entre eles, os antimicrobianos. Estes possuem cerca de 121 princípios ativos diferentes, dos quais apenas 52 têm utilização permitida para fins terapêuticos (PALERMO NETO, 2001). Desta maneira, torna-se evidente a necessidade da implementação de um programa de controle da ocorrência de resíduos de antimicrobianos em alimentos de origem animal.

Pelo fato da ocorrência de antimicrobianos em alimentos ser um tema de alta relevância, tanto para a pecuária quanto para a saúde pública, o presente trabalho teve por objetivo pesquisar a presença de resíduos de antimicrobianos de uso veterinário em amostras de diferentes tipos de leite comercializados na cidade de São Paulo, coletadas em grandes redes de supermercado da cidade; além de confrontar a frequência de ocorrência de resíduos observada com aquela estimada, em 1%.

2 REVISÃO LITERATURA

2 REVISÃO LITERATURA

2.1 CADEIA PRODUTIVA DO LEITE NO BRASIL

Nos últimos anos, a questão da qualidade e da segurança dos alimentos tem recebido maior atenção por parte das autoridades, dos produtores, dos industriais, dos profissionais responsáveis pela qualidade dos alimentos e por parte dos consumidores.

O setor de produtos lácteos em especial vem sendo pressionado cada vez mais, pelos consumidores, a oferecer produtos de excelência, respeitando os quesitos ligados à inocuidade dos alimentos. O grande desafio que se apresenta é alcançar e sustentar padrões de identidade e qualidade em toda a cadeia produtiva, de forma competitiva, ou seja, racionalizando a produção de forma a atingir o máximo rendimento industrial (BRITO; DIAS, 1998).

Na década de 50, o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, aprovado pelo Decreto Federal nº 30.691 de 29 de março de 1952, determinou a classificação do leite pasteurizado em tipos A, B e C, de acordo com o sistema produtivo, tipo de instalações para a ordenha, controle sanitário do rebanho e padrões microbiológicos e físico-químicos do leite. Assim, padrões microbiológicos foram determinados para o leite cru e para o produto final

destinado à produção dos leites tipos A e B. Para o leite tipo C, determinou-se somente o padrão microbiológico para o produto beneficiado (BRASIL, 1997).

Em 18 de setembro 2002, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicou a Instrução Normativa nº 51, aprovando os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite produzido no país. Este documento definiu os procedimentos para a coleta do leite cru resfriado e seu transporte a granel, determinou novos requisitos para a qualidade e inocuidade dos leites tipo A, B e C e definiu leite pasteurizado, estabelecendo seus parâmetros microbiológicos e físico-químicos (BRASIL, 2002). O objetivo desta norma é harmonizar, em termos legais, as condições higiênico-sanitárias do leite na sua cadeia produtiva.

No relativo aos contaminantes físico-químicos potencialmente presentes no leite, há instruções muito bem definidas sobre o que pode ou não estar presente no leite, principalmente sobre os LMRs permitido. Neste sentido, os LMRs de antimicrobianos em alimentos são estabelecidos nos países a partir da realização previa de vários testes e análises, que são realizados segundo protocolos e exigências oficiais, que se fundamentam nas recomendações e diretrizes emanadas do *Codex Alimentarius* da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação - FAO e da Organização Mundial da Saúde - OMS (FAO/OMS, 2002; WHO, 2002) ou, na ausência destes, à partir de valores constantes das diretivas da União Européia (EU) e/ou da *Food and DrugsAdministration* - FDA dos Estados Unidos da América (EUA) (BRASIL, 1999). Porém, em virtude de situações como, por exemplo, a presença de resistência microbiana por um determinado antibiótico,

os países são soberanos para restringir ou mesmo vetar a utilização destes, como ocorreu, por exemplo, com a avoparcina (MITCHELL et al., 1998; PALERMO NETO, 2001).

No âmbito nacional, qualquer medicamento para uso veterinário deve ser previamente aprovado pelo MAPA e deve-se respeitar o período de carência, de modo que, quando da permanência de resíduos no produto final, estes ocorram em concentrações menores do que os LMRs fixados para os mesmos (BRASIL, 2002; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001).

No Brasil, o MAPA lançou em 1999 o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR, onde está inserido o Programa de Controle de Resíduo em Leite – PCRL (BRASIL, 1999). A Portaria nº 78 de 19 de dezembro de 2002, aprovou os programas para o Controle de Resíduos em Carne, Mel, Leite e Pescado em pontos de distribuição, estabelecendo LMRs para tais produtos (BRASIL, 2003). Esta Portaria está em vigor desde 2003. O quadro 1 apresenta os LMRs de resíduo de antimicrobianos de uso em animais produtores de leite estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* e praticados no Brasil; Canadá; UE e EUA, que tem por objetivo comparar os LMRs praticados nos diferentes países, por ser fator limitante na exportação de produtos.

A Instrução Normativa nº 51 do MAPA obriga o monitoramento mensal da ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite, cuja responsabilidade é das indústrias e, afirma ainda que as análises devem ser realizadas somente por laboratórios oficiais ou credenciados no MAPA (BRASIL, 2002).

Princípio ativo	LMR ($\mu\text{g}/\text{kg}$)				
	Brasil	Codex	Canadá	EU	EUA
Amoxicilina	4	-	-	4	4
Ampicilina	4	-	10	4	10
Oxacilina	-	-	-	30	-
Ceftiofur	100	100	100	100	50
Cefquinone	-	-	-	20	-
Cefapirina	-	-	20	60	20
Cloxacilina	-	-	30	30	10
Cloranfenicol	0	0	0	0	0
Dicloxacilina	-	-	-	30	-
Penetamato	-	-	-	4	-
Etracilina	100	100	-	100	80
Dihidroestreptomicina	200	200	125	200	125
Eritromicina	40	-	50	40	50
Espectinomicina	-	200	-	200	30
Estreptomicina	200	200	125	200	125
Gentamicina	-	200	-	100	30
Neomicina	500	500	250	500	150
Novabiocina	-	-	125	50	100
Tetraciclina	100	-	-	100	-
Clortetraciclina	100	100	-	100	30
Oxitetraciclina	100	100	150	100	30
Penicilina G	4	-	6	4	5
Benzilpenicilina procaína	4	-	-	4	-
Sulfonamida	-	-	-	100	-
Sulfadimidina	-	25	-	-	10
Sulfadimetoxina	100	-	10	100	10
Sulfadoxina	-	-	10	100	-
Sulfamerazina	-	-	-	-	10
Sulfadiazina	-	-	-	-	10
Sulfametazina	100	-	10	100	10
Sulfatiazol	100	-	-	-	10
Trimetropin	-	-	-	50	-
Tylosina	-	-	-	50	50
Espiramicina	200	-	-	200	-

Fonte: ANVISA, 2001; MAPA, 2003; MITCHELL et al., 1998.

Quadro 1 - Limites máximos de resíduos - LMRs estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* e praticados no Brasil; Canadá; UE e EUA para leite

A qualidade do leite é definida por características relativas a sua composição, aspectos físico-químicos e microbiológicos, além do estado de higiene e sanidade do rebanho, que envolve desde a saúde animal até as boas práticas de manejo, passando pela ordenha, refrigeração, acondicionamento, transporte, beneficiamento e embalagem até chegar na distribuição final do produto para sua comercialização (BRITO; DIAS, 1998; OLIVEIRA; GERMANO, 1999). Assim, para que o leite seja considerado um alimento de alta qualidade, deve apresentar sabor agradável, alto valor nutritivo, conformidade com os padrões físico-químicos e microbiológicos definidos pela legislação, reduzida contagem de células somáticas, ausência de patógenos e contaminantes físicos e químicos, aquém dos LMRs estabelecidos (FONSECA; PEREIRA; CARVALHO, 1999).

No Brasil, o consumo *per capita* de leite cresceu 25%, de 1994 até 1998, atingindo o valor de 128 litros no ano de 1998 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004), apesar deste índice se manter até os dias de hoje (NALESSO, 2004), o leite e seus derivados tem uma relevante e crescente participação na dieta do brasileiro (GOMES, 1999), uma vez que o mercado interno de leite fluido, corresponde a 47% do total dos produtos alimentícios comercializados.

No ano de 2003, a produção nacional de leite foi de 22,3 bilhões de litros, o que representou um incremento de 3,2% na produção, em relação ao ano de 2002, com esta produção, em 2003, o país contribuiu com 5,8% da produção mundial de leite (FAGUNDES, 2004). Em 2002, a produção nacional atingiu a cifra de 21,64 bilhões de litros, o que representou um incremento de 1,13 bilhões de litros, em relação ao ano anterior (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2004). Até o

ano de 2001, o Brasil ocupava o sexto lugar na produção mundial de leite (OLIVAL et al., 2002).

Em concordância com a viabilidade econômica da produção e comercialização do produto exige-se a manutenção de um padrão higiênico-sanitário aceitável no leite, isto é, o controle de vários parâmetros, dentre os quais o monitoramento da presença de antimicrobianos (OLIVEIRA; GERMANO, 1999). A implementação de um procedimento de controle de resíduos químicos na produção é fundamental, pois é o único momento possível de se evitar a ocorrência, seja de resíduos de drogas veterinárias ou mesmo de toxinas fúngicas no leite. As etapas posteriores da cadeia produtiva de lácteos não são capazes de reduzir ou inativar tais compostos, quando, uma vez, presentes.

A mastite é uma das ocorrências mais comuns, na produção leiteira, e que compromete a saúde dos animais, diminuindo o rendimento produtivo e a qualidade do leite e, até mesmo, a viabilidade econômica da produção. Esse é um processo inflamatório da glândula mamária (COSTA, 1998), que segundo Coetzer e Thomson (1994) acomete aproximadamente 17 a 20% da população mundial de vacas leiteiras, provocando uma queda na produção de 10 a 15%. Para exemplificar o impacto desta patologia, no ano de 1997, os EUA perderam cerca de 8 bilhões de litros de leite, em decorrência da mastite, o equivalente a toda produção brasileira de leite, daquele ano (COSTA, 1991).

2.2 MASTITE BOVINA E PRODUÇÃO DE LEITE

De acordo com alguns autores, a mastite pode ser classificada em sub-clínica, clínica ou aguda e crônica. Brito e Dias (1998) afirmam que estes três tipos de mastite ocorrem em todo o mundo.

A mastite sub-clínica, se caracteriza pela diminuição da produção leiteira, uma vez que as alterações inflamatórias da glândula mamária, como dor, calor, rubor e edema, são pouco visíveis; na mastite clínica, as alterações de características do leite (formação de grumos), assim como o processo inflamatório da glândula mamária é bastante evidente; já na mastite crônica há o fibrosamento da glândula mamária, sem sinais inflamatórios, sendo difícil a visualização de alterações no leite. O avanço do processo leva à perda de função da glândula. (COELHO; COSTA, 2002; COSTA, 1998).

As mastites são causadas por microrganismos patogênicos, pertencentes à microbiota natural dos animais e do ambiente; pode-se citar: *Actinomyces pyogenes*, alguns representantes da família Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* spp, várias espécies de fungos e algas do gênero *Prototheca*. Os microrganismos mais freqüentemente isolados de leite de vacas com mastite são: o *Staphylococcus aureus*, o *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae* (BRITO; BRITO, 2001).

Cerca de 137 espécies diferentes de bactérias e fungos já foram relacionados à mastite, e estão categorizados como patogênicos e oportunistas (WATTS, 1988). No estado de São Paulo/Brasil, Araujo (1998) aponta o *S. aureus*, como o principal causador da mastite bovina.

Sabe-se ser a ocorrência das mastites, multifatorial, podendo do ter como fatores colaboradores e pré-determinantes o manejo excessivo e a aglomeração dos animais, além de situações estressantes, práticas inadequadas de ordenha, o contato com manipuladores infectados e o uso de utensílios contaminados e mal higienizados (BRITO; BRITO, 2001).

Bramley et al. (1996) observaram que a ocorrência de mastite causada por microrganismos provenientes do meio ambiente é influenciada pelo estágio de lactação do animal, pela estação do ano, pela existência de estabulação e pelo manejo. No Brasil, a mais alta frequência de ocorrência de mastite tem sido constatada durante os meses mais quentes do ano (período de chuvas) principalmente entre a primavera e o verão (RIBEIRO, 2001; SMITH; HOGAN, 1992). De fato, é nessa época que os animais passam por maior estresse (calor) e, também, é o período em que os microrganismos ambientais encontram melhores condições de sobrevivência e multiplicação (SMITH; HOGAN, 1992).

O tratamento medicamentoso (halopático) de vacas com mastite utiliza essencialmente antimicrobianos por via sistêmica, oral e/ou intra-mamária. A terapêutica deve ser realizada por profissional competente respeitando-se as boas práticas de manejo, para que se consiga a resolução da infecção e processo

inflamatório e não ocorra a presença de resíduos de medicamentos no leite destinado ao consumo humano em níveis inaceitáveis, ou seja, acima do LMR estabelecido. O uso é justificado em razão dos prejuízos e/ou redução dos lucros que o produtor tem, uma vez que, conforme já salientado, a mastite leva à redução da produtividade leiteira. Vale lembrar que durante o tratamento o produtor não poderá fazer o aproveitamento do leite de nenhum dos quartos da glândula mamária, devendo respeitar o período de carência estipulado para cada princípio ativo utilizado.

2.3 ANTIMICROBIANOS NA AGROPECUÁRIA

Desde 1950, os antimicrobianos vem sendo amplamente utilizados na cadeia produtiva de alimentos de origem animal, desde o campo até a indústria de transformação. Na pecuária são usados para fins terapêuticos, profiláticos e para aumento da produtividade, isto é, como aditivos zootécnicos ou de alimentação (EVANGELISTA, 1994). O uso incorreto ou indiscriminado de antimicrobianos na pecuária pode levar à ocorrência de níveis de resíduos acima dos LMRs permitidos pela legislação nacional, e, colocando em risco a saúde do consumidor (BRASIL, 1999; BRITO; BRITO, 2001; FAO/WHO, 2002), enquanto que para a indústria poderá levar a falhas de caráter tecnológico à produção de determinados tipos de alimentos, causando transtornos na fermentação de bebidas lácteas, iogurtes, queijos, entre outros problemas (MARTINS; VAZ, 2000).

Parece oportuno colocar, neste momento, que os antimicrobianos podem ser utilizados na alimentação animal com finalidade de promover o crescimento ou o aumento da produção (PALERMO NETO, 2001; PESSANHA; GONTIJO FILHO, 2001; SOARES, 1996). De fato, seu uso como aditivo melhora a conversão alimentar e aumenta, de forma significativa, o ganho de peso e o rendimento da produção. Tem-se tornado, assim, uma alternativa interessante na avicultura, suinocultura e na bovinocultura de corte, uma vez que neste tipo de criação busca-se aumentar a produtividade (PESSANHA; GONTIJO FILHO, 2001). Para esta finalidade, são fornecidos associados à alimentação dos animais (YOUNG, 1994).

Exceto nos sistemas de produção de leite orgânico, os antimicrobianos fazem parte dos compostos de uso na terapêutica das doenças que acometem os animais (COELHO; COSTA, 2002; OLIVEIRA; GERMANO, 1999). Estão disponíveis no mercado e são utilizados diversos princípios ativos isoladamente ou em associação, administrados por diferentes vias, em dosagem e veículos distintos e, em períodos diferentes da vida do animal - seco ou lactação (BRITO; DIAS, 1998; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 1999).

Meerk et al. (1986) estudando 110 propriedades leiteiras em Ontário (Canadá); observaram que no período de um ano, foram utilizadas, aproximadamente, 3,85 doses de antibiótico por animal, no tratamento de mastite. Segundo Almeida et al. (2003), o custo médio por aplicação (dose) de antibiótico em cada teto com mastite, estava em torno de R\$ 4,50, no ano de 2003.

Os derivados da penicilina e da sulfa são os princípios ativos mais freqüentemente utilizados na pecuária leiteira, em virtude dos efeitos, bactericida e bacteriostático sobre um amplo espectro de bactérias Gram-positivas e negativas (BRITO; DIAS, 1998). São comumente administrados pelas vias intramamária, intravenosa e, ambas (COELHO; COSTA, 2002; RAIA JÚNIOR, 2001). Em vários países, como no Brasil, a decisão na escolha de um princípio ativo para fins terapêuticos fundamenta-se no conhecimento da sensibilidade do agente alvo e no custo do produto (PANNUTI; GRINBAUM, 1995).

Deve-se considerar que o uso contínuo dos antibióticos pode favorecer ao aumento da ocorrência de estirpes de bactérias resistentes (SHLAES et al., 1997).

Esse fenômeno, freqüente em hospitais e UTIs humanos, dificulta a obtenção do resultado desejado em tratamentos de doenças infecciosas, o que exige a busca de novos princípios ativos, muitas vezes de alto custo (PANNUTI; GRINBAUM, 1995). Segundo Manie et al. (1998) e Grady (1999) o uso prolongado de antimicrobianos como aditivos zootécnicos pode interferir com a eficácia do tratamento de algumas infecções, tanto no ser humano, quanto nos animais, em virtude do aumento de estirpes de bactérias resistentes e multirresistentes a estas substâncias. Corrêa et al. (2003) complementam afirmando que a utilização indiscriminada dos antibióticos pode levar, até mesmo, a um desequilíbrio na simbiose que existe entre os microrganismos da microbiota entérica de animais e humanos.

2.3.1 Eliminação de Antimicrobianos pelo Leite

Alguns pesquisadores relataram que o nível de produção leiteira e o estado fisiológico da glândula mamária podem exercer influência sobre a eliminação de resíduos de antimicrobianos no leite (COSTA, 1999; MERCER et al., 1970; RAIÁ JUNIOR, 2001). De fato, as alterações fisiopatológicas por que passa a glândula mamária, podem interferir com a farmacocinética dos antimicrobianos, favorecendo sua eliminação através do leite. Visto que, existem nessas condições uma maior difusão do composto do sistema circulatório para o parênquima da glândula, (COSTA et al., 2000). Em conjunto, estes fatos acabam por possibilitar o aparecimento de resíduos de antimicrobianos no leite, acima dos LMRs

estabelecidos para os mesmos (COELHO; COSTA, 2002), ou até mesmo, após o período de carência para ele estipulado (FAGUNDES, 2003).

Brito (2004) relatou que, independentemente do princípio ativo e da via de administração, a transferência de antimicrobianos por difusão direta ou passiva para o leite ocorre entre todos os quartos mamários adjacentes, paralelos, diagonais e colaterais. Esta constatação reforça a necessidade de se descartar todo o leite, isto é, de todos os quartos da glândula mamária de animais com mastite, durante o período de tratamento somado ao período de carência exigido para cada princípio ativo administrado (COELHO; COSTA, 2002).

Fagundes (1981) estudando 24 vacas holandesas em lactação, sendo oito com mastite e 16 saudáveis, constatou que após a aplicação de penicilina G e de clortetraciclina, em ambos os grupos, as vacas com mastite eliminaram resíduos, respectivamente, entre 126 e 141 horas após a aplicação do medicamento; enquanto que as vacas sadias eliminaram penicilina G somente nas primeiras 72 horas após a aplicação do medicamento e clortetraciclina, nas primeiras 96 horas. Este trabalho evidencia que o período de carência necessário para a ausência de resíduos de fármacos no leite deve ser definido levando-se em consideração a farmacocinética e a farmacodinâmica da droga na glândula mamária e o estado fisiológico da mesma.

De acordo com Fagundes (2003), após o término de um ciclo de lactação, inicia-se o período denominado seco, cujo tempo mínimo necessário para uma nova lactação é de 60 dias. Quando o tratamento da mastite é realizado neste período, o medicamento é aplicado na glândula mamária com veículo oleoso tendo, portanto, sua ação prolongada. Em seu estudo, após administrar o antibiótico para tratamento de mastite em 65 vacas, em período de secagem, constatou que foi possível detectar a presença do resíduo do antiótico 60 dias após sua administração em aproximadamente 29,1% dos animais; que no período entre 60 e 70 dias, após a administração, 19,4% dos animais continuava excretando tais resíduos; e, após 70 dias da administração, havia resíduo no leite de 7,1% dos animais. Estes resultados mostram que o cumprimento do período de carência (60 dias), para tratamentos realizados no período seco pode não ser suficiente para que o leite esteja isento de resíduos. Neste sentido, é possível que os resíduos encontrados após 60 dias, da aplicação, estejam abaixo dos LMRs fixados para eles, pelo *Codex Alimentarius* e/ou pelo MAPA. De fato, a metodologia usada por Fagundes (2003) foi qualitativa. Ressalta-se, neste momento, que o autor defende, ainda, o fato de ser o período seco de fundamental importância para que se evite tal ocorrência.

Jones e Seymour (1988) relacionam as seguintes causas para que se constate resíduos de antimicrobianos no leite: 1) tratamentos aleatórios; 2) problemas ou falhas na identificação dos animais tratados; 3) ausência de separação de vacas em tratamento no momento da ordenha; 4) uso de dosagens múltiplas; 5) uso de dosagem acima da recomendada; 6) falhas na observação ou não cumprimento dos períodos de carência dos antimicrobianos administrados; 7) uso de medicamentos por períodos muito prolongados ou excessivos; 8) uso de

medicamentos com períodos de excreção prolongados; 9) descarte do leite apenas dos quartos tratados; 10) mistura acidental de leite não contaminado com leite contaminado; 11) uso de equipamentos de ordenha contaminados; 12) vacas que tiveram seu período seco reduzido ou parto precoce; 13) uso indevido de medicamento destinado a vacas secas em vacas lactantes.

A literatura a cerca deste tema evidencia a necessidade de se implementar e manter boas práticas de manejo e produção leiteira. Dentre essas práticas a pesquisa de resíduos de antimicrobianos no produto final, ou seja, no leite beneficiado é um procedimento de verificação da eficácia dos sistemas de controle da qualidade higiênico-sanitária do produto, em especial dos perigos químicos.

2.4 CONSEQÜÊNCIAS DO USO DE ANTIMICROBIANOS

Como já visto anteriormente, os antimicrobianos são indispensáveis, porém seu uso deve ser criterioso, ou seja, devem ser usados para não provocarem efeitos indesejáveis como por exemplo, o desenvolvimento de resistência dos microrganismos, em especial de bactérias, a princípios ativos utilizados em terapêutica humana e animal (BARBERIO; GIELT; DALVIT, 2002; COELHO; COSTA, 2002; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 1999); também, podem oferecer risco para a saúde pública, visto que podem desencadear reações alérgicas em indivíduos sensíveis e, além disso, podem gerar, também, problemas tecnológicos à indústria de produtos lácteos fermentados (COELHO; COSTA, 2002).

2.4.1 Resistência Microbiana Induzida por Antimicrobianos

Pessanha e Gontijo Filho (2001), assim como Barberio, Gielt e Dalvit (2002) afirmaram que nos últimos anos, a resistência dos microrganismos frente aos antimicrobianos vem aumentando significativamente, devido ao uso incorreto ou indiscriminado de antimicrobianos tanto em medicina humana, quanto animal. Barberio, Gielt e Dalvit (2002) afirmaram, ainda, que quando do surgimento de estirpes resistentes em uma determinada localidade, esta pode circular e se disseminar por um período de dois a três anos. A expressão de resistência depende de vários fatores, sendo de importância, que o microrganismo disponha de genes

para tal e que tenha sido exposto ao antimicrobiano por um período de tempo prolongado (LEVY,1999). De fato, bactérias que possuem genes de resistência quando em contato persistente com antimicrobianos podem vir a expressar esta resistência transmitindo-a as gerações futuras de bactérias.

Trolldenier (1985) constatou que diferentes espécies e gêneros de bactérias podem desenvolver resistência cruzada em relação a diferentes princípios ativos, transmitindo-a, de forma parcial ou total aos seus descendentes; observou ainda, que quando da utilização simultânea de penicilinas e tetraciclina ocorre resistência aos mais diversos tipos de antibióticos. O autor relatou ainda, que representantes da família Enterobacteriaceae (*E.coli*; *Salmonella* spp) e estirpes de *S. aureus* podem desenvolver resistência simultânea ou multirresistência a diversos antimicrobianos que não possuam o mesmo mecanismo de ação.

Estirpes de *S. aureus* isoladas do leite de vacas com mastite em diferentes partes do mundo, como Espanha, Inglaterra, Índia e Brasil mostraram-se resistentes à penicilina em diferentes porcentagens (ARAUJO, 1998; LOPES et al., 1990).

2.4.2 Conseqüência do Uso de Antimicrobianos na Saúde Pública

Como já salientado, uma das conseqüências indesejáveis da presença de resíduos de antimicrobianos nos alimentos é a ocorrência de alergias (COSTA, 1999; PAIGE; TOLLEFSON; MILLER, 1998). Neste sentido, o princípio ativo mais

freqüentemente envolvido com esta reação é a penicilina, e outros compostos do grupo dos antibióticos β -lactâmicos (COSTA 1999). As penicilinas são altamente alergênicas. Estima-se que 10% da população mundial apresente reação de hipersensibilidade a essa substância (BRASIL, 1999; MARTINS; VAZ, 2000). Fagundes (1997) relata que quando presente no leite, mesmo em quantidades bastante baixas, podem provocar erupções eczematosas, ou vesículas e erupções orais e cutâneas.

Souza (1998) relatou que as reações alérgicas são dependentes do indivíduo e que geralmente ocorrem após prévia sensibilização do mesmo; classificou ainda, as reações adversas como irritativa e alérgica, podendo estas serem benignas e/ou malignas. A reação irritativa é freqüentemente observada no trato gastrointestinal e nos músculos lisos, enquanto que as reações alérgicas benignas são geralmente observadas na forma de rinites alérgicas, pruridos ou urticárias; e as reações alérgicas malignas, por sua vez, caracterizam-se pelo aparecimento de discrasias sangüíneas, choque anafilático e/ou edema de glote.

Outro tipo de reação adversa pode advir, por exemplo, de um desequilíbrio na microbiota intestinal produzido pelo antimicrobiano que, desta forma pode favorecer o aparecimento de microrganismos patogênicos resistentes, interferindo diretamente com a eficácia de outros medicamentos (PAIGE; TOLLEFSON; MILLER, 1998). Como já comentado, não há qualquer possibilidade de níveis de resíduos de antimicrobianos abaixo dos LMRs, para ele estabelecidos, produzir alterações na microflora do TGI.

Segundo Costa (1999), a idade do indivíduo exposto é de extrema importância, para o aparecimento de reações adversas. Sendo assim, deve-se atentar para a presença de resíduos de antimicrobianos no leite, por ser este o alimento mais consumido por crianças, gestantes e idosos (exatamente os grupos mais susceptíveis a estas reações adversas).

Em 1956, a FDA, nos EUA, estimou que 10% da população norte-americana era sensível à penicilina e/ou a seus metabólitos, enquanto que 3,5% das pessoas tratadas com sulfonamida apresentavam reações adversas; e 20% dos pacientes que procuravam algum tratamento médico eram alérgicos a algum tipo de antimicrobiano (FONSCECA, 2000).

O cloranfenicol foi proibido para uso veterinário no Brasil, através da Portaria Ministerial 448, publicada em 10 de setembro de 1998, pelo MAPA, por se considerar que resíduos potenciais na carne, leite e ovos, oferecem risco para a saúde pública (BRASIL, 1998). Em virtude da sua toxicidade e capacidade de provocar anemia aplástica em indivíduos hipersensíveis, discrasia sanguínea, supressão reversível da medula e neurite óptica (COSTA, 1999; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 1999).

2.4.3 Conseqüências do uso de antimicrobianos para a Indústria de Produtos Lácteos Fermentados

Na indústria de produtos lácteos fermentados, como iogurtes, bebidas lácteas, queijos e manteiga a presença de resíduos de antimicrobianos na matéria-prima interfere com os processos de fermentação, altera os fatores de qualidade e impede a manutenção do padrão de identidade e qualidade dos produtos nas diferentes partidas e lotes (FAGUNDES, 1997).

Os antimicrobianos retardam a acidificação do leite (FONSECA, 2000). Assim, no iogurte, ocorre um desequilíbrio do fermento lácteo fato que proporciona sabor desagradável de peptona e aspecto anormal no produto, em virtude do excesso de soro que se acumula na superfície do mesmo. No queijo, provocam má dessoragem da coalhada, fermentação indesejada com produção de gás e má maturação, além de sabor anormal, textura alterada, tornando o produto friável. Na manteiga, inibem a fermentação láctea parcial ou total, induzindo uma menor produção de diacetil, que é responsável pelo aroma característico do produto (FAGUNDES, 1997).

Outro aspecto relevante com relação aos antimicrobianos é o fato dos tratamentos térmicos utilizados no beneficiamento e processamento de leite e derivados não serem eficazes para inativá-los. Vários trabalhos comprovam esta afirmação.

Schenck e Friedman (2000) estudaram a manutenção da atividade da ampicilina no leite cru frente a baixas temperaturas, e constataram que após

estocagem durante seis dias a temperatura de 4°C não houve perda da concentração inicial de 20 ppb de ampicilina colocada no leite. Erskine et al. (1995), em trabalho semelhante, observaram a manutenção da atividade do ceftifour inoculado no leite, quando estocado à -20°C, durante três semanas. De acordo com estes dois trabalhos, pode-se afirmar, como Rosário (2002), que as baixas temperaturas não são suficientes para inativar os resíduos de antimicrobianos.

Brito e Dias (1998) afirmam que a pasteurização e a ultrapasteurização - *Ultra High Temperature* (UHT), não inativam os antimicrobianos, supostamente presentes no leite. A fervura foi capaz de inativar até 50% das penicilinas e 66% das estreptomicinas, mas inativou 90% das oxitetraciclinas e tetraciclinas, não demonstrando qualquer ação sobre cloranfenicol. Davidson e Branen (1993), relataram sendo os antimicrobianos estáveis ao processo de cocção (por 20 minutos), fervura (por 10 minutos) ou fritura (por 10 minutos), mantendo-se nestas condições de atividade detectáveis antes destes procedimentos. De fato, o ponto de fusão da maioria dos antimicrobianos utilizados, é superior à temperatura de 210°C.

A este respeito, Van Egmond et al. (2000), estudaram a estabilidade de 16 princípios ativos de antibióticos e constataram a perda de atividade em maior ou menor quantidade da maioria dos princípios ativos testados, após terem sido eles submetidos a um tratamento térmico de 80°C durante 15 minutos. Alguns dos princípios ativos testados, até mesmo perderam sua capacidade inibidora, após um processo de esterilização (temperatura de 134°C durante 20 minutos), como por exemplo: penicilina, amoxicilina, ampicilina, cloxacilina, oxitetraciclina, doxicilina, colistina, dihidroestreptomicina e sulfametazole.

Em relação ao congelamento foi relatado, ser este capaz de causar uma redução da atividade das penicilinas, quando armazenadas sob temperatura de congelamento por mais de oito dias, porém, não se dispõe de informações precisas na literatura sobre este tema (DAVIDSON; BRANEN, 1993). Dados do *Association of Official Analytical Chemistry* (AOAC) relatam que a penicilina quando estocada a temperatura de 76°C negativos (-76°C) mantém-se estável, ou seja, não perde sua capacidade inibitória a microrganismos sensíveis; o que não ocorre quando é armazenada à temperatura de -18°C (OKA; NAKAZAWA, 1995).

2.5 METODOLOGIA DISPONÍVEL PARA DETECÇÃO DE ANTIMICROBIANOS

São disponíveis várias metodologias para a detecção de resíduos de antimicrobianos em alimentos de origem animal. São exemplos, a inibição microbiológica, os testes enzimáticos, os testes imunológicos, a cromatografia gasosa, a cromatografia em camada delgada e a cromatografia líquida de alta resolução (FONSECA, 2000; KANG; SEYMOUR, 2001).

Os testes comerciais disponíveis para aplicação a campo são, na sua maioria, qualitativos ou semi-qualitativos, sendo mais conhecidos como testes de triagem (MITCHELL et al., 1998).

A detecção qualitativa de resíduos de antimicrobianos é um importante recurso nos levantamentos da ocorrência desses compostos em alimentos prontos para o consumo sendo o ponto de partida para implementação de programas de controle e supervisão oficiais (FAO/WHO, 2002). Estão oficialmente aceitos na comunidade internacional para triagem os testes: TTC - cloreto 2,3,5 trifenil-tetrazólico, Método de Difusão em Disco e Delvotest[®] (BRASIL, 1999). Os métodos quantitativos, por outro lado, como os que se valem de cromatografia são capazes de detectar a presença de antimicrobianos em partes por milhão - ppm - e em partes por bilhão - ppb (PALERMO NETO, 2001).

Dentre as metodologias disponíveis para os testes qualitativos (triagem), existem variações quanto à classe do antimicrobiano detectável, a sensibilidade e o tempo de realização do teste (MITCHELL et al., 1998).

Para pesquisa de antimicrobianos tem sido bastante utilizado o método da inibição da multiplicação microbiana em meio de cultivo específico, em virtude de sua praticidade e capacidade de evidenciar uma ampla gama de princípios ativos (BARBERIO; SGNORINI, 1996; KUKUROVA; HOZOVA, 2003). Este tipo de teste consiste na observação da capacidade de multiplicação de um determinado microrganismo na presença do antimicrobiano (FONSECA, 2000; MITCHELL et al., 1998).

O método do cloreto 2,3,5 trifeniltetrazólico, mais conhecido como TTC, baseia-se na redução do cloreto de 2-3-5 trifenil-tetrazólico pelo *Streptococcus thermophilus* sensível a antibióticos do grupo β -lactâmicos, sendo necessário um período de incubação de duas horas e meia à temperatura de 37°C. O limite de detecção deste teste para a penicilina é de 0,04 UI/mL.

O método de Difusão em Disco baseia-se na inibição do crescimento do microrganismo *Bacillus subtilis*, sensível a antibióticos do grupo dos β -lactâmicos. Para a obtenção dos resultados é necessário incubar a amostra, a ser analisada, por um período de 12 horas, à temperatura de 32°C. O limite de detecção do teste para a penicilina é de 0,05 UI/mL.

O Delvotest[®] SP tem como princípio a inibição da multiplicação do microrganismo *Bacillus stearothermophilus* variedade calidolactis C953, sensível a antibióticos do grupo β -lactâmicos, principalmente à penicilina, com limite de detecção de 2,5 ppb. O agente é semeado em meio de crescimento ágar onde, a amostra de leite, é inoculada. Para obtenção do resultado é necessário incubação à temperatura de 64°C por um período três horas. Neste período, a amostra se difunde pelo meio e a presença de substância inibidora impede ou reduz o crescimento do microrganismo, e o meio, que contém indicador de pH, não muda de cor (MITCHELL et al., 1998). Este teste é capaz de detectar antibióticos β -lactâmicos, sulfas, aminoglicosídeos (Quadro 2), além de substâncias como dicromato de potássio e iodo (Quadro 3), entre outras. É um teste para triagem e levantamento qualitativo aprovado pelo FDA, reconhecido e aprovado pelo AOAC, desde 1982. É recomendado, pelo *Codex Alimentarius* e pela Anvisa para este tipo de análise, tendo sido validado pelo MAPA, desde 1984 (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001).

De acordo com o princípio ativo presente na amostra de leite, o limite de detecção do teste é bastante variado. Enquanto que para a penicilina G a concentração mínima para detecção é de 2,5 ppb, para a kanamicina é de no mínimo 7.500 ppb. Para detectar a presença de outras substâncias, como derivados quaternários da amônia, é necessário que sua concentração mínima esteja em torno de 10.000.000 ppb. Os quadros 2 e 3 mostram os limites de detecção do Delvotest[®], fornecidos pelo fabricante.

DELVOTEST[®] SP

Antibióticos	Nível de detecção em partes por bilhão – ppb
Penicilina G	2,5
Penicilina G * *	3,0 - 4,0
Cloxacilina	20,0 - 25,0
Dicloxacilina	10,0 -15,0
Oxacilina	10,0
Nafcilina	10,0
Ampicilina	3,0 - 5,0
Amoxicilina	3,0 - 5,0
Cefapirina	5,0 - 10,0
Cefalonio	15,0 - 25,0
Cefalexina	60,0 - 100
Cefacetil	20,0 - 40,0
Cefaperazon	60,0 - 100
Tetraciclina	300 - 600
Oxitetraciclina	400 - 500
Clortetraciclina	300 - 600
Tilosina	100
Eritromicina	250
Lincomicina	300 - 400
Spiramicina	n. s.
Gentamicina	400 - 500
Neomicina	400 - 2000
Dihidroestreptomicina	2500 - 10000
Kanamicina	7500
Cloramfenicol	7500 -10000
Sulfametazina	100 - 200
Sulfadimetoxina	100
Sulfatiazol	100 - 150
Sulfadiazina	100
Dapsone	4,0 - 8,0
Trimetoprima	500

Fonte: GIST-BROCADES[®]

* * concentração em Unidades Internacionais por L de leite
n.s.: não sensível, limite de detecção acima de partes por bilhão - p.p.b.

Quadro 2 - Nível de detecção mínimo do teste Delvotest[®] SP para diferentes princípios ativos de substâncias utilizadas como antibióticos. Concentração em partes por bilhão - ppb ($\mu\text{g/L}$ de leite). Leitura realizada em 3 horas

DELVOTEST[®] SP

Desinfetantes e Detergentes	Nível de detecção em partes por bilhão - ppb
Calgonita (5% potássio dicloro-iso-cianureto)	100.000
Cetrimida (bromato de amônia quaternário)	100.000
Cloro Ativo	200.000
Dicromato de Potássio	20.000
Farmquat (5% cloridato de amônia quaternário)	10000.000
Iodo	150.000
Niroklar (baseado em ácido fosfórico-agente limpeza)	500.000
Nitrato de Sódio	50.000
Peróxido de Hidrogênio (30%)	600.000
Rodalon (cloridato de amônia quaternário)	30.000
Sublimato (cloridato de mercúrio)	20.000

Fonte: GIST-BROCADES[®]

Quadro 3 - Nível de detecção mínimo do teste Delvotest[®] SP para substâncias químicas utilizadas como detergentes e desinfetantes. Concentração em por milhão – ppb ($\mu\text{g/L}$ de leite)

Segundo Coelho (2003), o Delvotest[®] é um teste simples de ser realizado, sensível e relativamente rápido, quando comparado aos outros testes, seu limite de detecção é cerca de 10 vezes menor que o do método TTC e o método da difusão em disco. Além de ser amplamente utilizado por produtores de leite no Canadá, é recomendado para programas de segurança da qualidade do leite e carne nos EUA; e também, indicado para controlar o período de carência dos antimicrobianos aplicados em animais produtores e, garantir que o leite de cada animal medicado ou o tanque de resfriamento esteja isento de resíduos de antimicrobianos acima dos LMRs estabelecidos. Busca-se assim, garantir que o leite pronto para consumo seja seguro para a saúde dos consumidores de nosso país (BRASIL, 2002). Outra vantagem é o baixo custo da análise por amostra de alimento a ser testado para presença de antimicrobiano, ou seja, cerca de US\$ 1,50. Por estas razões, o Delvotest[®] é um dos testes mais comumente utilizados para a detecção da presença de resíduos de antimicrobianos no leite.

Coelho (2003) relatou, ainda, que o teste pode gerar alguns resultados falso-positivos, porém, Kang e Seymour (2001) afirmaram que os indicies destes resultados (falso-positivos) podem ser minimizados quando a leitura do teste é realizada em duas horas e cinqüenta minutos. Para Hillerton et al. (1999) os resultados falso-positivos encontrados por alguns autores poderiam estar ligados à falhas humanas, tanto na realização quanto na interpretação do teste; ressalta, além disso, que as amostras testadas, só podem ser consideradas positivas, quando são aquecidas a 80° C por cinco minutos, e mantém a coloração azul inicial do meio após o período de leitura (três horas).

2.6 DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE

Encontram-se na literatura vários trabalhos de autores que pesquisaram a presença de resíduos de antimicrobianos no leite. Estes autores valeram-se de metodologias distintas daquela usada no presente trabalho, que estimou uma frequência de ocorrência, e a confrontou com a observada. Trabalhos desta natureza são necessários e importantes para que se possa iniciar um programa de controle, definir estratégias, estabelecer prioridades e trabalhar de forma tal a obter resultados que sejam eficazes e eficientes.

Um dos aspectos mais importantes para assegurar a correta identificação da presença de antimicrobianos no leite é o tipo de metodologia utilizada para análise. No momento da escolha do teste, deve-se levar em consideração:

- a) princípio do teste e os compostos que detecta, os limites de detecção, a praticidade de realização, o tempo despendido com a análise e o custo;
- b) o fato de que só serão acusadas como positivas as amostras que contenham resíduos que sejam detectáveis pela metodologia e que estejam presentes em concentrações superiores ao limite de detecção do teste;
- c) a presença de resultados positivos não significa invariavelmente risco de comprometimento da saúde do consumidor daquele produto, pois a concentração dos mesmos, quando presente no leite podem estar abaixo dos LMRs estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* ou pela legislação vigente para eles.

Barros e Preches (1981), analisaram um total de 32 amostras de leite pasteurizados tipo B (pronto para consumo), comercializadas na cidade de São Paulo, utilizando o teste TTC e, encontraram sete amostras positivas para a presença de antimicrobianos (21,87%). Melo Filho (1969) pesquisando resíduos de antimicrobianos em 100 amostras de leite tipo C, e utilizando também o teste TTC, detectou duas amostras positivas (2%).

Gelei, Jakabi e Souza (1984), estudaram, em São Paulo, a presença de antimicrobianos em 404 amostras de leite, e encontraram 47 resultados positivos (11,63%), utilizando o teste microbiológico, Delvotest[®] e; apenas 16 amostras positivas (3,96%) utilizando o teste de difusão em disco.

Lopes, Gandara e Cristianini (1998), por sua vez, utilizaram o teste Delvotest[®], para pesquisar 178 amostras de leite pasteurizado comercializados na cidade de Campinas, relataram 14 amostras positivas (7,9%) para a presença de antimicrobiano, das quais 13 (14,1%) eram de leite A e uma (2,5%) de leite B.

Rosário (2002) pesquisou a ocorrência de resíduos de antimicrobianos em 193 amostras de leite pasteurizado e UHT, comercializados na cidade de Pirassununga, utilizou o Snap test[®] e, obteve duas amostras positivas (2,17%) para a presença de β -lactâmicos, sendo uma de leite A e uma de leite C; e 14 amostras positivas (7,25%) para a presença de tetraciclinas, sendo seis de leite B, seis de leite UHT, uma de leite A e uma de leite C.

Na cidade de Piracicaba, Nascimento, Maestro e Campos (2001), constataram a presença de resíduos de penicilina em 48 amostras de leites pasteurizados e UHT (50%), num total de 96 amostras analisadas, após a utilização do método difusão em disco; destas, 11 amostras eram de leite tipo B; 19 do tipo C; oito do tipo A e dez do tipo UHT.

Albuquerque, Melo e Martins (1996), na cidade de Fortaleza, Ceará, encontraram 209 amostras positivas (69,7%) para presença de resíduos, em um total de 300 amostras de leite, analisadas com o método de difusão em disco.

Na cidade de Salvador, Bahia, Cova (1984) analisou 160 amostras de leites, através de uma modificação do método de difusão em disco, identificando três amostras positivas (1,88%) para a presença de antimicrobianos.

Silva e Sena (1984), em Belo Horizonte, Minas Gerais, utilizaram três métodos para detectar resíduos de antimicrobianos em 384 amostras de leite; obtiveram os seguintes resultados: com o método clássico para detecção de antimicrobiano (disco de papel), encontraram cinco amostras positivas (1,30%); com o método TTC, identificaram quatro amostras positivas (1,04%); e, finalmente, ao utilizar o teste Delvotest[®] encontraram sete amostras positivas (1,82%). Do total de amostras analisadas, 96 eram de leite B; estas ao serem analisadas através do Delvotest[®] revelaram quatro amostras positivas (4,16%).

No ano de 2001, algumas propriedades leiteiras dos estados de São Paulo e de Minas Gerais foram pesquisadas por Raia Júnior (2001) que, ao analisar 60 amostras de leite dos tanques de resfriamento, com o teste Delvotest[®] encontrou nove amostras positivas (15%) para a presença de resíduos de antimicrobianos.

As considerações feitas nos parágrafos acima justificam a importância e necessidade de se manter procedimentos de controle e monitoramento da presença dos antimicrobianos na cadeia produtiva de alimentos. Este trabalho dá destaque especial para o leite, por se tratar de um alimento de ampla penetração na sociedade, por participar da dieta das diferentes faixas etárias, em especial das crianças, sob diferentes formas, e por servir como matéria prima na elaboração de uma ampla variedade de produtos derivados. Assim, o presente estudo propôs a pesquisa da presença de resíduos de antimicrobianos de uso veterinário em amostras de diferentes tipos de leite comercializados na cidade de São Paulo e, verificar se sua frequência de ocorrência observada corresponde à frequência de ocorrência estimada, de 1%.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Pesquisar a presença de resíduos de antimicrobianos de uso veterinário em amostras de diferentes tipos de leite comercializados no município de São Paulo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Pesquisar a presença dos seguintes antimicrobianos: Benzilpenicilina; Benzilpenicilina procaína; Oxitetraciclina; Clortetraciclina; Tetraciclina; Diidroestreptomicina; Estreptomicina; Neomicina; Eritromicina; Cloranfenicol; Sulfametazina; Sulfadimetoxina e Sulfatiazol, utilizando o Delvotest[®] SP.

- 2) Confrontar a frequência de ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite observada, com aquela estimada, em 1%.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram obtidas 1.500 amostras de diferentes tipos de leite, entre abril de 2003 e março de 2004. Foram assim distribuídas: 900 amostras de leite pasteurizado integral, subdivididas em três grupos de 300 amostras para cada tipo de leite pasteurizado (tipos A, B e C), e para cada grupo uma marca diferente; 600 amostras foram de leite integral tipo longa vida ou UHT - *ultra high temperatura*/ultra alta temperatura, de duas marcas diferentes (300 da marca X e 300 da marca Y). As indústrias beneficiadoras dos leites pasteurizados localizavam-se no estado de São Paulo. Entretanto, o leite UHT, marca X, adquirido para as análises foi beneficiado nos estados do Rio Grande do Sul, Goiás e São Paulo; enquanto que o da marca Y, foi beneficiado apenas no estado de Goiás.

A escolha das marcas de leite se deu após realizar entrevistas e consultas nos pontos de venda, identificar as marcas disponíveis e os locais de intensa comercialização desses produtos. Determinou-se cinco redes de supermercados, localizados no município de São Paulo, para a aquisição das amostras.

A determinação do número de unidades amostrais para cada tipo de leite tomou como base as recomendações do *Codex Alimentarius* (1993), do MAPA (1999) e da ANVISA (2001). Decidiu-se por 300 amostras de cada um deles, estimando-se uma frequência de ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite de 1% com grau de confiança de 95%.

Na colheita das amostras não se repetiu os lotes, ou datas de validade. No momento da aquisição das amostras, os leites pasteurizados foram imediatamente acondicionados em caixas isotérmicas vedadas, mantidos sob refrigeração com gelo reciclável; e, as amostras de leite UHT foram mantidas sob temperatura ambiente. Todas as amostras foram transportadas para o laboratório do Setor de Higiene Alimentar do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade de São Paulo (USP).

Utilizou-se o quite comercial Delvotest[®]SP (Figura 1) para a pesquisa qualitativa dos seguintes antimicrobianos: Benzilpenicilina; Benzilpenicilina procaína; Oxitetraciclina; Clortetraciclina; Tetraciclina; Diidroestreptomicina; Estreptomicina; Neomicina; Eritromicina; Cloranfenicol; Sulfametazina; Sulfadimetoxina e Sulfatiazol.

Na presença de antimicrobianos, o microrganismo é inibido e não há alteração do pH, o meio permanece azul, obtendo-se, assim, um resultado positivo (Figura 2); na ausência de antimicrobianos detectáveis pelo teste, o microrganismo se multiplica, acidificando o meio e alterando sua coloração que passa do azul para o amarelo, gerando um resultado negativo (Figura 3).



onde: 1: ampolas contendo esporos do microrganismo *Bacillus stearothermophilus* variedade calidolactis C953, em meio de cultura com indicador de pH Bromocresol púrpura;

2: pastilhas de nutriente, e seu respectivo frasco;

3: pinça para distribuição das pastilhas nutrientes nas ampolas;

4: seringa dosadora com pipeta descartável, capta 0,1 mL de leite

Figura 1 - Componentes do quite comercial Delvotest® SP



Figura 2 - Resultado Positivo: presença de resíduo de antimicrobiano no leite



Figura 3 - Resultado Negativo: ausência de resíduo de antimicrobiano no leite

4.1 MATERIAL - PROCEDIMENTO DE ANÁLISE

4.1.1 Teste de viabilidade do Delvotest[®] SP

Antes da utilização dos quites, testou-se a sua viabilidade, com duas soluções de penicilina, sendo uma Penicilina G Potássica MERCK[®] e outra *Penicilin 4 ppb Control* (DSM[®] - Delvotest).

- Solução de Penicilina a partir do Sal de Penicilina G Potássica (MERK[®]). Sal contendo 89% de penicilina, com pureza do sal 99,74%.

Pesou-se 27,5 miligramas (mg) do sal de penicilina, dissolvido em 100 mililitros (mL) de Metanol, obtendo-se a concentração de 250.000 µg/ L (250.000 partes por bilhão - ppb), denominada diluição inicial. Em seguida, fez-se diluições obtendo-se as concentrações: 2,5 ppb; 4 ppb; 5 ppb e 10 ppb. Procedeu-se à adição de 0,1 mL de cada uma das diluições em diferentes ampolas do Delvotest[®] SP, que foram incubadas à temperatura de 64°C ± 0,5°C por 3 horas. Em seguida, fez-se a leitura.

- *Penicilin 4 ppb Control* (DSM[®] - Delvotest)

O controle *Penicilin 4ppb Control* (DSM[®] - Delvotest) é fornecido pelo fabricante do quite. Procedeu-se à adição de 1,0 mL de leite, sabidamente negativo, no frasco, que foi homogeneizado. Retirou-se uma alíquota de 0,1 mL desta solução, colocou-se na ampola-teste do Delvotest[®] SP e incubou-se à temperatura de 64°C ± 0,5°C por 3 horas e fez-se a leitura.

4.2 MÉTODO - PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Cada amostra, identificada com um número de ordem de entrada no laboratório, foi homogeneizada com 10 movimentos vai e vem, em seguida foi aberta. Colheu-se 4 mL de leite, que foram colocados em um tubo plástico com tampa e identificado. As amostras não analisadas no dia da coleta foram congeladas em freezer comum (-18°C) e mantidas por, no máximo, seis dias (DAVIDSON; BRANEN, 1993), respeitado-se sempre, o prazo de validade do produto.

O tubo contendo a amostra foi pré-aquecido a 80°C por um período de cinco minutos e em seguida resfriado rapidamente até a temperatura de 37°C. Este procedimento teve por objetivo diminuir a ocorrência de resultados falso-positivos, pela interferência de substâncias inibidoras naturais do leite (HILLERTON et al., 1999; RAIA JÚNIOR, 2001).

Paralelamente cada ampola do Delvotest[®] SP, a ser utilizada para cada amostra foi identificada e adicionado um tablete de nutriente (Figura 4).

Após ser resfriada, a amostra foi novamente homogeneizada com 10 movimentos de vai e vem, retirou-se uma alíquota de 0,1 mL, que foi colocada na ampola-teste contendo o nutriente. Em seguida, esta foi incubada em banho-maria, à temperatura de $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 3 horas, quando realizou-se a leitura. As ampolas que se mantiveram com a cor azul são consideradas positivas; aquelas que sofreram alteração da cor para o amarelo são consideradas negativas. Até o momento da obtenção dos resultados, a quantidade de leite remanescente no tubo plástico foi mantida, no caso de ser necessário repetir o teste.

Quando obtinha-se resultado negativo a amostra era descartada, quando positivo, repetia-se a análise.



Figura 4 - Ampolas-teste contendo tablete de nutriente e identificada com número da amostra de leite a ser testada

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

No contexto geral de 1.500 amostras analisadas obteve-se 10 amostras positivas (0,67%) ($0,32\% < \text{IC } 95\% < 1,22\%$) (Tabela 1), das quais três (0,20%) foram de leite tipo A; duas (0,13%) de leite tipo B; uma (0,07%) de leite tipo C e quatro (0,26%) de leite UHT, marca Y. Não houve diferença estatisticamente significativa na detecção de resíduos de antimicrobianos entre os quatro tipos de leite analisados.

A tabela 1 mostra os resultados positivos obtidos por total de leite analisado e para cada um dos tipos de leite.

Tabela 1 - Resultados obtidos

Tipos de Leite	Total de Amostras	Número de Amostras Positivas	% de Positivos
A	300	3	1
B	300	2	0,66
C	300	1	0,33
UHT (marca x)	300	0	0
UHT (marca y)	300	4	1,33
Total	1.500	10	0,67

A figura 5, trás a distribuição mensal das amostras de leite com seus respectivos resultados positivos, e a figura 6 mostra a distribuição do total de amostras positivas.

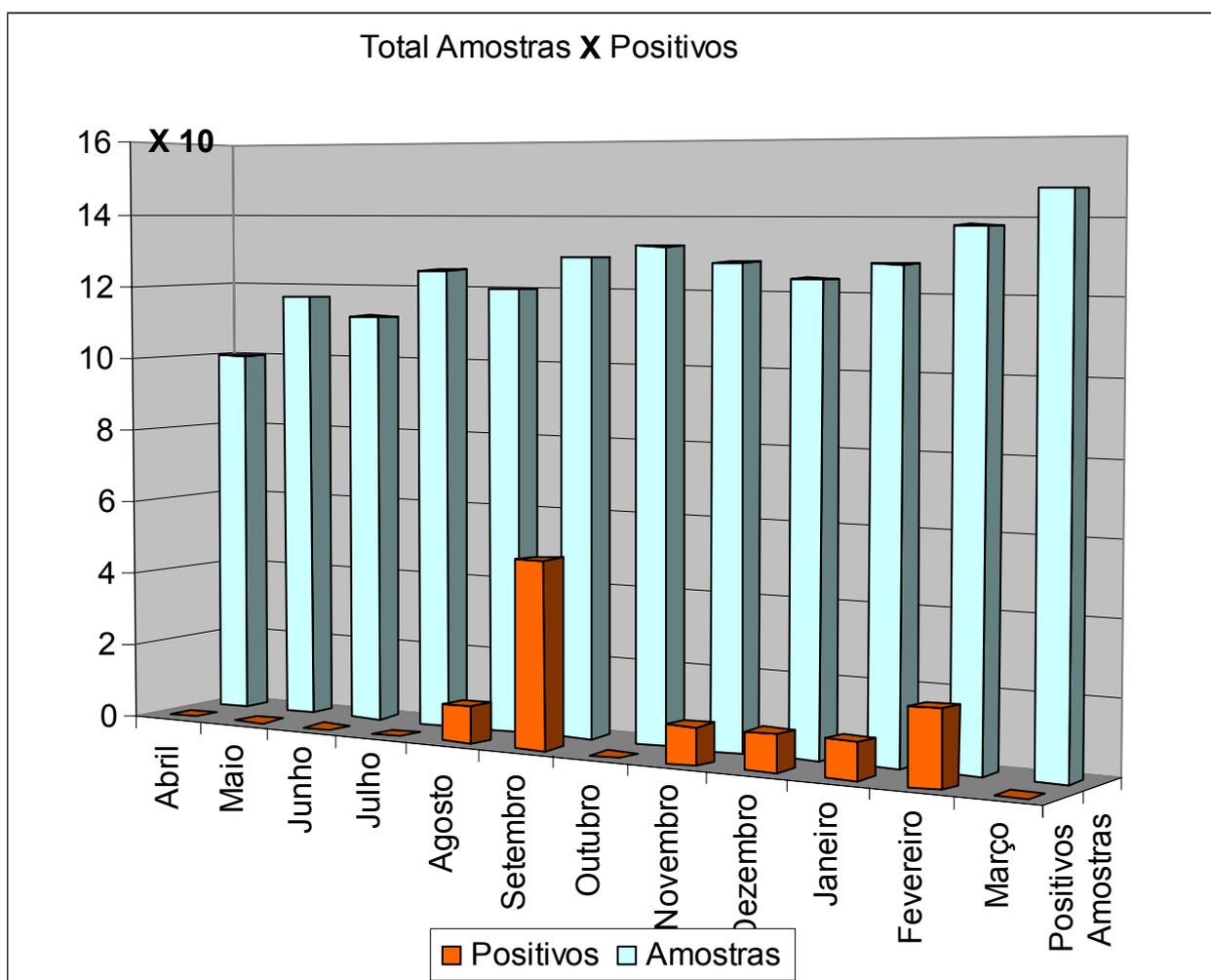


Figura 5 - Distribuição de leite durante o ano e quantidade de positivos

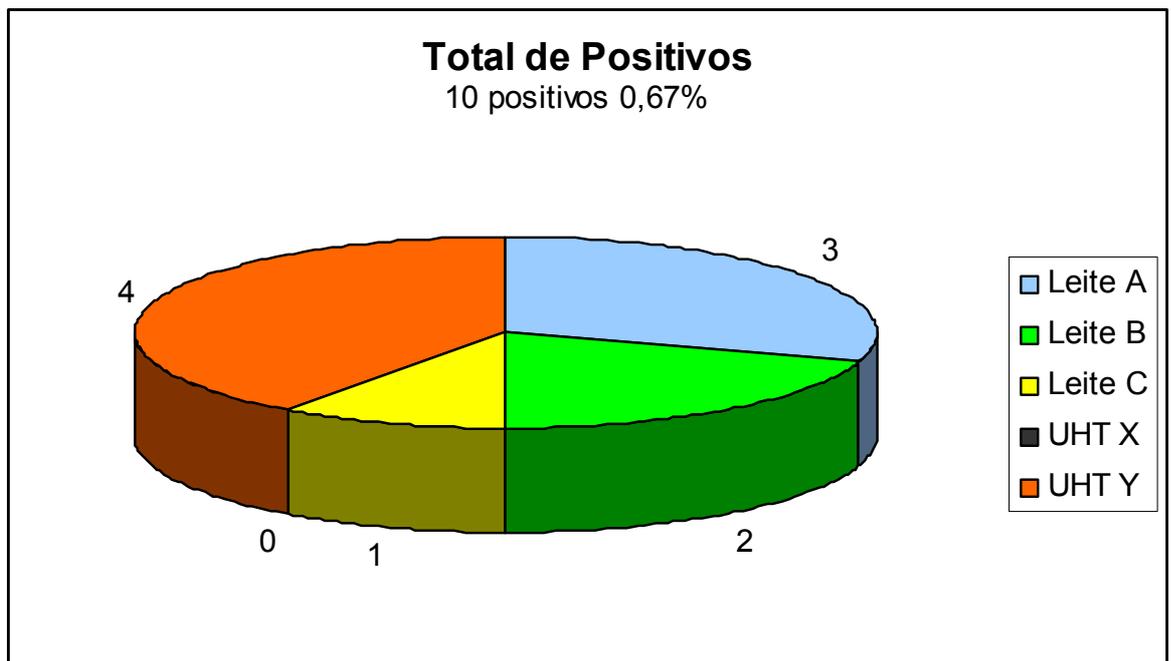


Figura 6 - Total de Amostras positivas para presença de antimicrobiano

Para o leite pasteurizado integral tipo A foram detectadas três amostras positivas (1%) ($0,21\% < \text{IC } 95\% < 2,89\%$) de um total de 300 amostras, o que representa 0,33% do total de leites pasteurizados e 0,2% no total geral de leites analisados (Figura 7).

Para o leite pasteurizado integral tipo B foram detectadas duas amostras positivas (0,67%) ($0,08\% < \text{IC } 95\% < 2,39\%$) de um total de 300 amostras, o que representa 0,22% do total de leites pasteurizados e 0,13% no total geral de leites analisados (Figura 8).

Para o leite pasteurizado integral tipo C foram detectadas uma amostra positiva (0,33%) ($0\% < \text{IC } 95\% < 1,84\%$) de um total de 300 amostras, o que representa 0,11% do total de leites pasteurizados e 0,06% no total geral de leites analisados (Figura 9).

Para o leite UHT integral marca Y foram detectadas quatro amostras positivas (1,33%) ($0,36\% < \text{IC } 95\% < 3,38\%$) de um total de 300 amostras, o que representa 0,66% do total de leites UHT e 0,26% no total geral de leites analisados (Figura 10).

Para o leite UHT integral marca X não foi detectada nenhuma amostra positiva (0%) ($0\% < \text{IC } 95\% < 1,22\%$) de um total de 300 amostras, o que representa 0% do total de leites UHT e 0% no total geral de leites analisados (Figura 11).

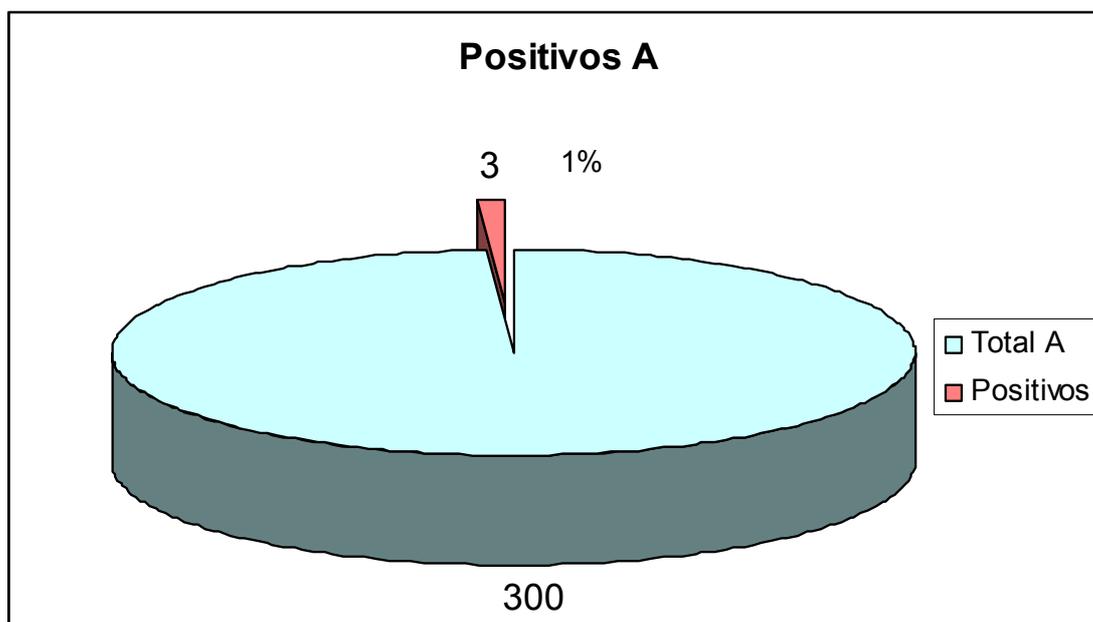


Figura 7 - Amostras de leite tipo A positivas para presença de antimicrobiano

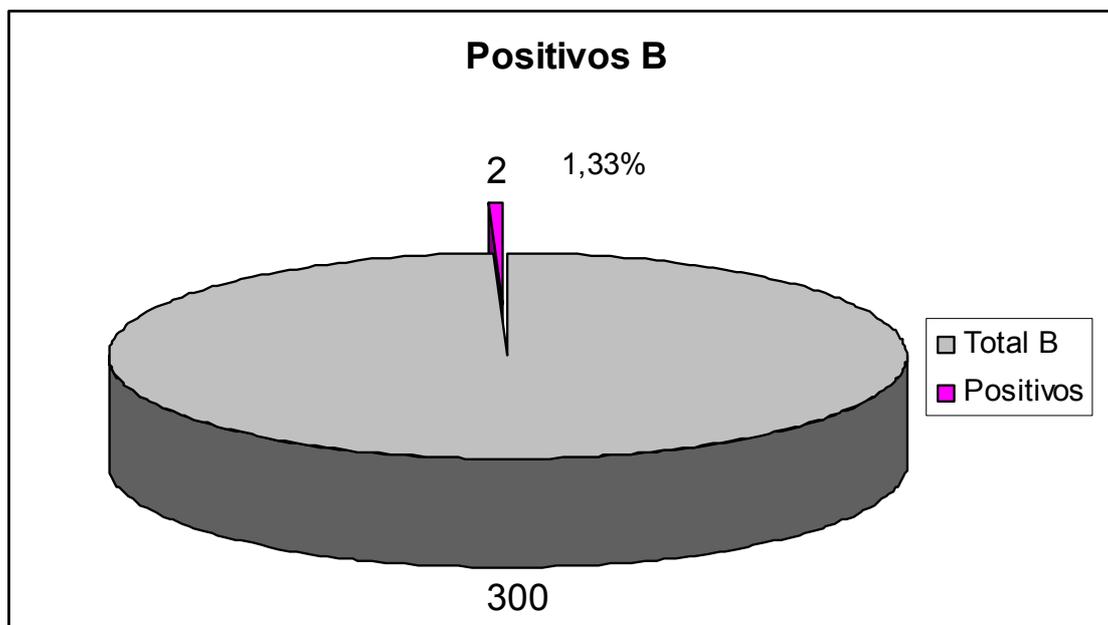


Figura 8 - Amostras de leite tipo B positivas para presença de antimicrobiano

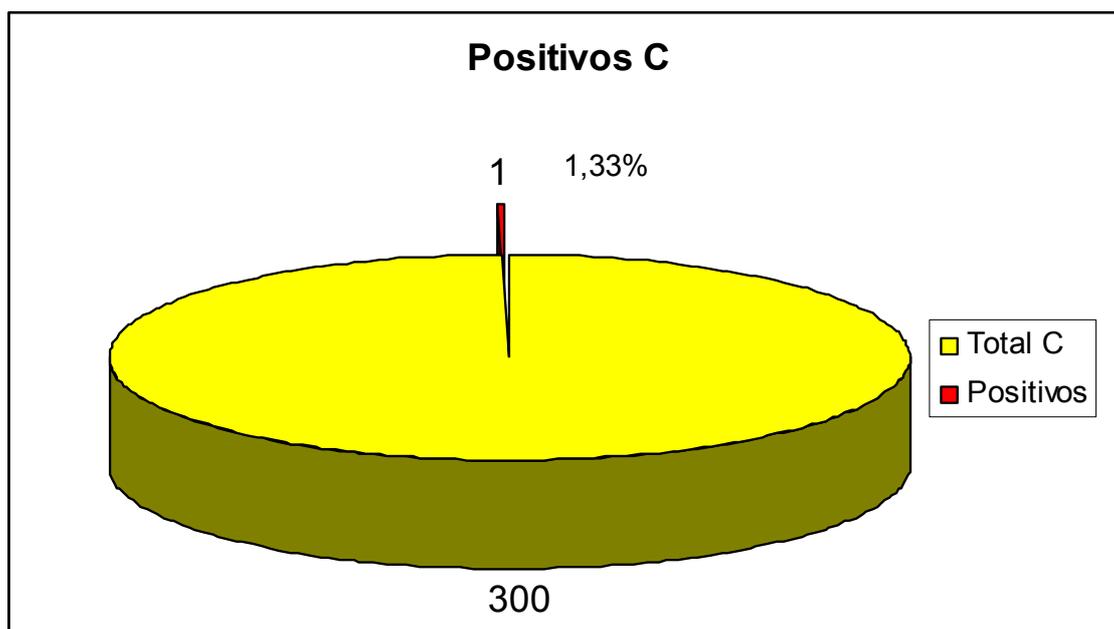


Figura 9 - Amostras de leite tipo C positivas para presença de antimicrobiano

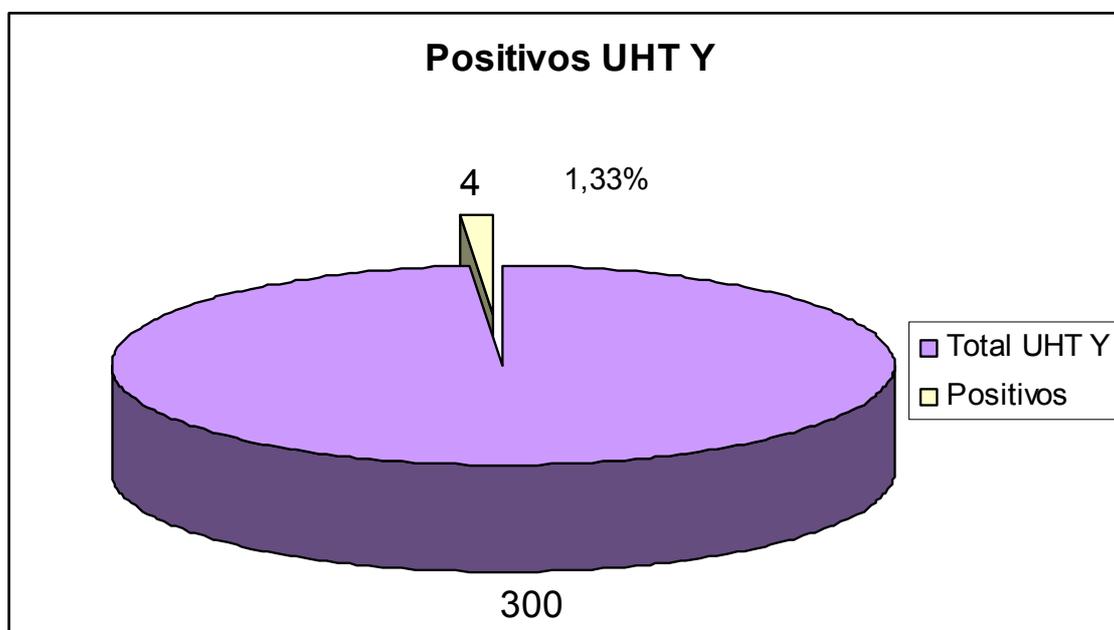


Figura 10 - Amostras de leite UHT, marca Y, positivas para presença de antimicrobiano

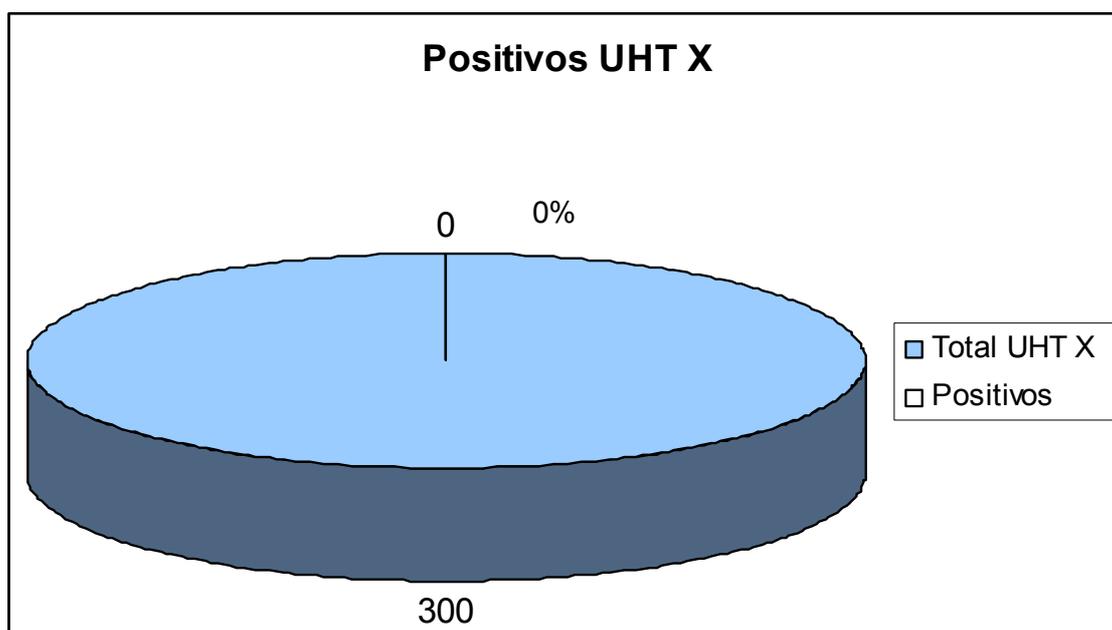


Figura 11 - Amostras de leite UHT, marca X, positivas para presença de antimicrobiano

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Na interpretação dos resultados obtidos nesta pesquisa há que se considerar que a frequência da ocorrência de resíduos na matéria-prima sofre influência do *status* sócio-econômico-cultural do produtor, do sistema de manejo e produção, das características climáticas, do ecossistema microbiano, entre outros, os quais são determinantes no estado de saúde da glândula mamária e conseqüentemente da necessidade do uso dos antimicrobianos e que, finalmente, todos esses fatores interferirão na possível presença de resíduos de antimicrobianos no produto pronto para o consumo, isto é, no leite beneficiado, alvo deste estudo.

Alguns autores têm relatado que a alta produtividade e o estado fisiológico da glândula mamária são capazes de alterar a farmacocinética e farmacodinâmica dos antimicrobianos. De fato, independentemente do princípio ativo e da via de administração, nos animais com mastite ocorre o aumento da permeabilidade tecidual, o que facilita a permanência e difusão do fármaco, levando ao aparecimento de resíduos em todos os quartos da glândula mamária (BRITO, 2004; COELHO; COSTA, 1996; COSTA, 1999; COSTA et al., 2000; COSTA, 2002; FAGUNDES, 1981; MERCER et al., 1970; RAIÁ JÚNIOR, 2001).

Autores como Coelho (2003) registram que em animais de alta produtividade os resíduos de antimicrobianos são detectados, no leite, mais precocemente, quando comparado com animais de baixa produtividade e, que desta forma, o cumprimento do período de carência determinado para o composto aplicado, reduz

a probabilidade de se detectar resíduos no leite. Para Fagundes (2003) o tratamento de animais com mastite no período seco é o mais indicado para se evitar a presença de resíduos de antibiótico nos leites.

Para evitar que resíduos de antimicrobianos estejam presentes no leite é de extrema importância que sejam seguidos os princípios de posologia recomendados e prescritos pelo médico veterinário, isto é, que os antimicrobianos sejam utilizados corretamente. Entretanto, no Brasil, muitas vezes, ocorrem más práticas em virtude da falta de compreensão ou entendimento para atender às prescrições do médico veterinário; neste sentido, é relevante lembrar que aproximadamente, 16% da população brasileira não é alfabetizada (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2001), sendo que estes índices podem subir para até 29%, nas zonas rurais.

Outro aspecto pode influenciar o aparecimento de resíduos de antimicrobianos no leite: a condição sócio-econômica-cultural da população. De fato, a falta de alimentos, a desnutrição infantil, o tipo de situação tecnológica e financeira das unidades produtoras de leite e o desconhecimento do risco que representa a contaminação do leite com resíduo de antimicrobiano para a saúde do consumidor, podem servir como justificativas para o aproveitamento do leite de todos os quartos da glândula mamária de animais com mastite e submetidos ao tratamento com tais substâncias.

Pode-se observar pelos resultados obtidos que, embora não haja significância estatística, houve um número crescente de amostras positivas segundo o tipo de leite: tipo C; tipo B; tipo A e UHT, marca Y.

Comparando-se os resultados dos leites pasteurizados, para os quais existem requisitos legais mínimos, a maior freqüência observada para os tipos A e B, em relação ao tipo C, poderia ser explicada pela exigência da utilização de ordenha mecânica que pode ocasionar mastite devido a má utilização dos equipamentos, determinando a necessidade do uso de antimicrobianos.

Quando se compara a maior freqüência de resultados positivos no leite tipo A em relação ao B, deve-se lembrar que esse leite é transportado a uma usina de beneficiamento, onde é misturado ao leite de outros produtores, o que reduz a possibilidade de detecção do resíduo no produto acabado.

Para a obtenção do leite UHT a indústria de beneficiamento pode utilizar-se do leite cru tipo B ou C, já que o regulamento técnico do produto não determina requisitos microbiológicos e/ou de sistema de produção para a matéria-prima. Esse fato somado à mistura de leite de diferentes produtores, determinando diluição de eventuais resíduos presentes, levaria a supor que a freqüência da detecção, destes fármacos, seria no máximo igual a encontrada nos leites pasteurizados tipos B ou C. No entanto, pode-se verificar que no leite UHT marca X, considerado marca líder de venda e de valor mais elevado, não houve detecção de resíduo de antimicrobiano, enquanto que as quatro amostras de leite UHT positivas para a presença de resíduo de antimicrobiano foram detectadas na marca Y, considerada pelo mercado varejista

como popular, de valor mais acessível as classes econômicas mais baixas. Esse fato poderia ser explicado por práticas diferentes no controle de qualidade realizado pelas empresas em questão e, pelo fato de ambas as indústrias receberem leite para serem beneficiados de regiões e bacias leiteiras diferentes. Ou seja, a marca X tem indústrias de beneficiamento localizadas no Rio Grande do Sul, São Paulo, Ceará e Goiás; enquanto que a marca Y é beneficiada apenas em Goiás.

Embora a frequência de ocorrência de resíduos de antimicrobianos presente no leite registrada nesta pesquisa tenha sido inferior à frequência estimada vale ressaltar que esta observação se deu no leite destinado ao consumo humano. Tal fato deve ser interpretado com critério, pois considerando-se o volume de leite consumido e, se a frequência aqui observada puder ser extrapolada para todo o leite comercializado, percebe-se que um volume considerável de litros de leite podem conter resíduos detectáveis de antibióticos. Esse leite poderá ser consumido por pessoas alérgicas e/ou desencadear, potencialmente, o desenvolvimento de resistência microbiana no campo, ou seja, através do uso incorreto de antibiótico nos animais, desencadeia-se o processo de desenvolvimento de resistência bacteriana existente em sua microbiota e, pode haver transmissão desta resistência para a microbiota humana (BARBERIO; GIETL; DALVIT, 2002; COELHO; COSTA, 2002; GRADY, 1999; MANIE et al., 1998; PALERMO NETO, 2001; PANNUTI; GRINBAUM, 1995; SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 1999); ou ainda, pode provocar desequilíbrio na simbiose existente entre os microrganismos da microbiota entérica de animais e humanos (CORRÊA et al., 2003).

Ao se comparar os resultados da presente pesquisa com aqueles obtidos por outros pesquisadores deve-se salientar que existem variações nos limites de detecção para cada antimicrobiano, segundo o método empregado para a análise.

Vários pesquisadores relatam freqüência de ocorrência de resíduo de antimicrobiano no leite mais alta do que a registrada por esta pesquisa.

Silva e Sena (1984), analisaram 384 amostras de vários tipos de leite prontos para o consumo, na cidade de Belo Horizonte, obtiveram com o Delvotest[®] uma freqüência de ocorrência de resíduo de antimicrobianos maior (1,82%) do que a registrada nesta pesquisa (0,67%).

Gelei, Jakabi e Souza (1984), estudaram, em São Paulo, a freqüência ocorrência de antimicrobianos em 404 amostras de leite e detectaram 47 positivas (11,63%), utilizando o Delvotest[®].

Lopes, Gandara e Cristianini (1998), ao utilizarem o Delvotest[®] SP em 178 amostras de leite pasteurizado comercializado em Campinas, encontraram 14 amostras positivas (7,9%), das quais 13 (14,1%) são de leite A e uma (2,5%) de leite B; a maior freqüência de ocorrência de resíduo de antimicrobiano no leite tipo A também foi registrada por este trabalho.

Alguns trabalhos apresentam freqüência de ocorrência de antimicrobiano no leite empregando outros testes. Silva e Sena (1984) analisaram 384 amostras de leite utilizando os métodos de difusão em disco, TTC e o Delvotest[®] e obtiveram

respectivamente, cinco (1,3%), quatro (1,0%) e sete (1,8%) amostras positivas. As freqüências de ocorrência de resíduos de antimicrobianos observadas, no leite, foram similares as encontradas por esta pesquisa.

No entanto, outros autores relatam freqüências de ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite diferentes, ao utilizarem métodos diferentes. Gele, Jakabi e Souza (1984) empregaram Delvotest e o teste de difusão em disco em 404 amostras de leite, detectaram respectivamente, 47 (11,63%) e 16 (3,96%) amostras positivas; este estudo alerta aos pesquisadores, para que ao comparem resultados provenientes de métodos distintos para a detecção de antimicrobianos, devem ser cautelosos, pois os resultados podem ser muito discrepantes.

Com relação ao uso de metodologias de difusão em disco, estudos realizados por Cova, na cidade de Salvador, em 1984, que ao utilizar um método modificado para a detecção de resíduo de antimicrobiano no leite, detectou três amostras de leite positivas (1,88%) em um total de 160 analisadas. Usando este mesmo método, Nascimento, Maestro e Campos (2001), na cidade de Piracicaba, analisaram 96 amostras de leite pasteurizado e UHT; obtiveram 48 amostras positivas (50%) para a presença de resíduos de penicilina. Deste total, 11 amostras foram de leite tipo B; 19 do tipo C; oito do tipo A e dez de leite UHT. Também, Albuquerque, Melo e Martins (1996) ao estudarem 300 amostras de leite, na cidade de Fortaleza, encontraram 209 resultados positivos (69,7%). Os resultados obtidos por Nascimento, Maestro e Campos (2001) e Albuquerque, Melo e Martins (1996) demonstram a alta freqüência de ocorrência de antimicrobianos no leite consumido naquelas regiões, visto que os resultados positivos estavam por volta de 50% das amostras analisadas. Neste

contexto, os achados de Cova (1984) e do presente trabalho, quando comparados aos destes autores foram bem inferiores.

Alguns autores pesquisaram a presença de antimicrobianos em leite pasteurizado, utilizando o método do TTC. Barros e Preches (1981), ao analisarem um total de 32 amostras de leite tipo, na cidade de São Paulo, obtiveram sete (21,9%) amostras positivas. Melo Filho (1969), analisou 100 amostras de leite tipo C e, obteve dois (2%) resultados positivos.

Empregando o Snap Test[®], Rosário (2002) pesquisou resíduos de β -lactâmicos e tetraciclinas em 193 amostras de leite e obteve uma amostra de leite tipo A e uma de leite tipo C positiva para a presença do primeiro grupo de antibiótico; já, a tetraciclina foi detectada em uma amostra de leite tipo A, seis do tipo B, uma do tipo C e seis de leite UHT.

Raia Júnior (2001), empregou o Delvotest[®] em 60 amostras de leite cru provenientes de tanques de resfriamento, e detectou nove (15%) amostras positivas. Essa constatação sugere que a detecção de antimicrobianos é mais freqüente em amostras provenientes da mistura do leite de poucos animais, quando comparada à mistura de grandes volumes. Esse fato reforça a necessidade da realização de testes para a pesquisa de antimicrobianos previamente à mistura do leite de diferentes tanques, para o transporte em caminhões-tanques.

Em seu conjunto, os presentes dados e os da literatura permitem sugerir que, ao menos no que diz respeito a presença de antimicrobianos existe um bom nível de segurança aos consumidores de leite da cidade de São Paulo. Detectou-se, no entanto, que esta segurança é relativa. Diz respeito a possíveis efeitos tóxicos decorrentes da ingestão de níveis residuais dos antimicrobianos acima dos LMRs para eles fixados. Nada indicam, no entanto, em relação aos pacientes alérgicos e à questão do desenvolvimento da presença de resistência bacteriana. De fato, no primeiro caso, o efeito é quantal (basta a presença do antimicrobiano para que exista a chance de reação com a imunoglobulina). Quanto ao segundo aspecto, pouco se pode dizer. De fato, o presente trabalho não foi delineado para busca de bactérias resistentes aos antimicrobianos. No entanto, parece-nos possível sugerir que isto deva ser feito e, com uma certa urgência. Primeiro porque, o presente trabalho ao mostrar a presença de antimicrobianos em amostras de leite já processado e, portanto, altamente diluído, sugere existência de uso indevido, pelo menos em algumas granjas. Segundo porque a questão da resistência é polêmica e não tem sido enfocada em nosso país através de metodologias internacionalmente reconhecidas e validadas nacionalmente (pelo MAPA e ANVISA) para este tipo de análise, o que torna impossível a tomada de decisões. De fato, não se pode extrapolar dados de outros países para a realidade do nosso. Finalmente e em terceiro, porque a questão da resistência bacteriana, embora não possa ser diretamente relacionada no uso de antimicrobiano em medicina veterinária, passa por este uso ou mal uso, devendo ser checada de forma sistematizada junto aos animais de produção e, em especial, nas granjas leiteiras.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

- 1) Nas condições de realização deste estudo, a frequência de ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite é rara; foi de 0,66%, inferior à estimada de 1%;

- 2) Na análise individual de cada um dos diferentes tipos de leite analisados, a frequência de ocorrência nos leites A e UHT da marca Y, coincidiu com aquela estimada; para os leites B, C e UHT da marca X, essas frequências obtidas foram menores do que a estimada.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S. C. S. Investigação sobre presença de resíduos de antibiótico no leite comercializado em Fortaleza – CE, Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 41, p. 29-32, 1996.

ALMEIDA, L. A. B.; BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; PIRES, M. F. A.; BENITES, N. R. Comparação de intensidade do processo inflamatório de glândulas mamárias avaliado através do CMT (California Mastitis Test) em vacas leiteiras mestiças Holandês-Gir, inoculadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus* e tratadas com Cefaperazone e medicamento Homeopático. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE HOMEOPATIA, 1., 2003. **Anais...** 1 CD-Rom.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Medicamentos veterinários e saúde pública: uma proposta de ação para a ANVISA**. São Paulo: ANVISA, 2001. 19 p.

ARAÚJO, W. P. Fagotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos, isoladas de leite. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 35, n. 4, p. 4-9, 1998.

BARBERIO, A.; GIELT, H.; DALVIT, P. *In vitro* sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* e coliformes isolados de mastite bovina na região do Veneto, Itália, no período de 1996-1999. **Napgama**, v. 5, n. 1, p. 3-10, 2002.

BARBERIO, A. SGNORINI, F. Antibiotici e sulfamidici nel latte. **Obiettivi Document Veterinary**, v. 17, n. 12, p. 29-36, 1996.

BARROS, V. R. M.; PRECHES, E. M. G. Pesquisa de inibidores no leite tipo B distribuído ao consumo da grande São Paulo. **Revista de Laticínio do Instituto Cândido Tostes**, v. 36, n. 216, p. 39-42, 1981.

BRAMLEY, A. S. et al. **Current concepts of bovine mastitis**. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 78 de 19 de dezembro de 2002. Aprova os programas para o controle de resíduos em carne, mel, leite e pescado para o exercício de 2003, em conformidade aos ANEXOS da presente portaria. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 jan. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, em conformidade com os ANEXOS a esta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n.º 42, de 20 de dezembro de 1999. Aprovada pela Portaria Ministerial nº 574, de 06 de dezembro de 1998, tendo em vista a determinação do art. 6º da Portaria Ministerial n.º 527, de 15 de agosto de 1995 disposto no Processo MA 21000.003047/99-08 alterar o plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal - PNCR e os programas de controle de resíduos em carne - PCRC, mel - PCRM, leite - PCRL e pescado - PCRP. Revogar a Instrução Normativa nº 3, de 22 de janeiro de 1999. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 fev. 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 448, de 10 de setembro de 1998. Dispõe sobre a proibição de fabricação, importação, comercialização e o emprego de preparações farmacêuticas de uso veterinário, de rações, e de aditivos alimentares contendo cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona, em animais cujos produtos sejam destinados à alimentação humana. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 set. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, 1952. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto nº 1.255 de 25 de junho de 1962; pelo Decreto nº 1.236 de 02 de setembro de 1994; pelo Decreto nº 1.812 de 08 de fevereiro de 1996 e pelo Decreto nº 2.244 de 04 de junho de 1997. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 jun. 1997.

BRITO, J. R. F. **É possível transferir resíduos de antimicrobianos para quartos mamários não tratados após sua aplicação em outro quarto mamário ou por via parenteral?** Disponível em: <www.cbql.com.br/noticias.htm> Acesso em: 10 mar. 2004.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. Produção higiênica do Leite. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, n. 211, p. 91-93, 2001.

BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **Qualidade do leite**. Juiz de Fora: Embrapa – CNPGL. Tortuga, 1998. 98 p.

COELHO, V. R. P. **Avaliação de resíduos de antimicrobiano no leite de quartos mamários não tratados de vacas com mastite tratadas por via intramamária.** 2003. 102 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Produtiva Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

COELHO, V. R. P.; COSTA, E. O. Avaliação da influência da intensidade de mastite do quarto tratado por via intramamária na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite de quartos mamários não tratados. **Napgama**, v. 5, n. 1, p. 11-15, 2002.

COETZER, J. A. W.; THOMSON, G. R. **Infections diseases of livestock.** Oxford: University Press, 1994. v. 2, cap. 190, p. 1564-1595.

CORRÊA, G. S. S.; GOMES, A. V. C.; CORRÊA, A. B.; SALLES, A. S.; MATTOS, E. S. Efeito de antibiótico e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, 2003.

COSTA, E. O. A importância econômica da mastite infecciosa bovina. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 15, n. 1, p. 21-26, 1991

COSTA, E. O. Resíduo de antibiótico no leite: um risco a saúde do consumidor. **Higiene alimentar**, v.10, n.44, p.15-17, 1996.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada**, São Paulo. v. 1, n. 1, p. 3-9, 1998.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap. 42, p. 422-433.

COSTA, E. O.; RAI, R. B.; WATANABE, E. T.; GARINO JÚNIOR, F.; COELHO, V. R. P. Influência do tratamento intramamário de casos de mastite de bovinos em lactação em relação a presença de resíduos de antibióticos nos quartos sadios não tratados. **Napgama**, v. 3, n. 4, p. 14-17, 2000.

COVA, W. G. Prática simétrica de detecção de penicilina no leite. **Higiene alimentar**, v. 3, n. 3/4, p. 207-211, 1984.

DAVISON, P. M.; BRANEN, A. H. **Antimicrobials in food**. 2. ed. rev. e exp. Moscow: University of Ydaho, 1993. 647 p.

ERSKINE, R. J.; WILSON, R. C.; TYLER J. W.; McCLURE, K. A.; NELSON, R. S.; SPEARS, H. J. Ceftifour distributions in serum and milk from clinically normal cows and cows with experimental *Escherichia coli* induced mastitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 4, p. 481-485, 1995.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia dos Alimentos**, 2. ed. São Paulo, 1994. 98 p.

FAGUNDES, M. H. **Setor lácteo em 2003 alguns indicadores**. 2004. Disponível em: <www.conab.gov.br/download/cas/semanais/Semana12a16012004/14.pdf> Acesso: 17 nov. 2004.

FAGUNDES, H. **Ocorrência de resíduo de antibiótico utilizado no tratamento de interrupção de lactação no início da lactação subsequente em animais com período seco recomendado**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Produtiva Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

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

FAGUNDES, C. M. Persistência de antibiótico no leite bovino e em condição experimental. **Revista de Laticíneos do Instituto Cândido Tostes**, v. 36, n. 216, p. 27-30, 1981.

FONSECA, L. F. L. **A questão dos resíduos de antibiótico em 2000**. Disponível em: <www.milkpoint.com.br/mn/conjunturalactea> Acesso: 03 mar. 2004.

FONSECA, L. F. L.; PEREIRA, C. C.; CARVALHO, M. P. Qualidade microbiológica do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999. Caxambu. **Anais...** São Paulo: Instituto Fernando Costa, 1999. p. 36-43.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS / WORLD HEALTH ORGANIZATION - FAO / WHO. **EVOLUTION of certain veterinary drug residues in food**. Geneva: FAO, 2002.

GELEI, D. S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Inibidores microbianos em leite pasteurizado do comércio de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 44, n. 1, p. 19-24, 1984.

GOMES, S. T. Efeito da globalização na produção de leite no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 199, p. 93-102, 1999.

GRADY, D. EUA vai rever uso de antibiótico para animais. **Estado de São Paulo**, São Paulo, 9 mar, 1999. Geral, p. A13.

HILLERTON, J. E.; HALLEY, B. I.; NEAVES, P.; ROSE, M. D. Detection of antimicrobial substances in individual cow and quarter milk samples using delvotest microbial inhibitor test. **Journal Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 704-707, 711, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção nacional de leite**. Associação Brasileira Dos Produtores De Leite. Disponível em: <www.leitebrasil.org.br/estatisticas_03htm>. Acesso em: 24 fev. 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção nacional de leite**. Associação Brasileira Dos Produtores De Leite. Disponível em: <www.leitebrasil.org.br/estatisticas_03htm>. Acesso em: 09 mai. 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Analfabetismo no Brasil**. Disponível em: <www.caption.com.br/analfabetos.htm> Acesso em: 02 mai. 2002.

JONES, G. M.; SEYMOUR, E. H. Cowside antibiotic residue testing. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 1691-1699, 1988.

KANG, J. M.; SEYMOUR, E. H. Occurrence of false-positive results of inhibitor on milk samples using the Delvotest SP assay. **Journal Food Protection**, v. 64, n. 8, p. 1-5, 2001.

KUKUROVA, I.; HOZOVA, B. Interactions of antimicrobials in milk and their detection by the disk diffusion method and delvotest SP. **Journal of Association of Official Analytical Chemistry International**, v. 86, n. 3, p. 529-533, 2003.

LEVY, S. B. The challenge of antibiotic resistance. **Scientific American**. [online]. Disponível em: <www.sciam.com/1998/0398issue/0398levy.html> Acesso em: 21 fev. 2004.

LOPES, L. T.; GANDARA, A. L. N.; CRISTIANINI, M. Detecção de resíduo de antibiótico em leite comercial na cidade de Campinas. **Revista do Instituto Laticínio Cândido Tostes**, v. 53, n. 301/302/303, p. 64-67, 1998.

LOPES, C.A.; MORENO, G.; CURI, P. R.; GOTTSCHALK, A. F.; MODOLO, J. R.; HORACIO, A.; CORRÊA, A.; PAVAN, C. Characteristics of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Brazil. **British Veterinary Journal**, v. 146, n. 5, p. 443-448, 1990.

MANIE, T.; KHAN, S.; BROZEL, V. S.; et al. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in South America. **Lett. Appl. Microbiology**, v. 26, p. 253-258, 1998.

MARTINS, M. A.; VAZ, A. K. Comparação entre o delvotest® e o teste de coagulação pelo fermento lácteo para detecção de substâncias inibidoras no leite. **Hora Veterinária**, v. 19, n. 113, p. 53-55. jan/fev, 2000.

MARTINS, S. C. S.; ALBUQUERQUE, L. M. B. Qualidade do Leite Pasteurizado Tipo C Comercializado no Município de Fortaleza - CE. Bactérias Multiresistentes a Antimicrobianos. **Higiene Alimentar**, n. 59, v. 13, p. 39-42, 1999.

MEEK, A. H.; MARTIN, S. W.; STONE, J. B.; McMILLAN, I.; BRITNEY, J. B.; GRIEVE, D. J. The relationship among current management systems, production, disease and drug usage on Ontario dairy farms. **Canadian Veterinary Journal**, v. 50, n. 1, p. 7-14, 1986.

MELO FILHO, A. Penicilina no leite de consumo na cidade de São Paulo e risco de sensibilização. **Revista Paulista de Medicina**, v. 25, p. 21-34, 1969.

MERCER, H. D.; GELETA, J. N.; SCHULTZ, E. J.; WRIGHT, W. W. Milk-out rates for antibiotics in intramammary infusion products used in treatment of bovine mastitis: relationship of somatic cell counts, milk production level, and drug vehicle. **American Journal Veterinary Research**, v. 31, n. 9, p. 1549-1560, 1970.

MITCHELL, J. M.; et al. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and tests preformance. **Journal Food Protection**, v. 61, n. 6, p. 742-756, 1998.

NALESSO, R. Z. Leite Brasil sai em defesa do produtor brasileiro. **Revista Leite & Derivados**, v. 79, n. 8, p. 6-8; 10, 2004.

NASCIMENTO, G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, v. 14, n. 2, 2001.

OKA, H.; NAKAZAWA, H. **Chemical analysis for antibiotic use in agriculture**. Association of Official Analytical Chemistry International. The scientific association dedicated to analytical excellence. Allington, EUA, 1995. 452 p.

OLIVAL, A. A.; SPEXOTO, A. A.; CAMPOS, D. F. S.; FERREIRA, F.; FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V.; DIAS, R. A. Hábitos de consumo de leite informal, associados ao risco de transmissão de doenças no município de Pirassununga, SP. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 102-103, p. 35-40, 2002.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Aspectos relacionados a produtos que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62, p. 10-16, 1999.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. **Scientific Group on the Control of Bacterial Resistance**. Manila, Philippines, 1984. 32 p.

PAIGE, J. C.; TOLLEFSON, L.; MILLER, M. Public health impact on drug residues in animal tissues. **Journal Dairy Science**, v. 67, n. 12, p. 3081-3084, 1998.

PALERMO NETO, J. Resíduo de antimicrobianos em leite. **Revista CFMV**, Brasília-DF, v. 7, n. 22, p. 65-71, jan/fev/mar/abr, 2001.

PANNUTI, C. S.; GRINBAUM, R. S. An overview of nosocomial infection control in Brazil. **Infection Control Hospitalary Epidemiology**, v. 16, p. 170-174, 1995.

PESSANHA, R. P.; GONTIJO FILHO P. P. Uso de antimicrobianos como promotores de crescimento e resistência em isolados de *Escherichia coli* e de Enterobacteriaceae lactose-negativa da microflora fecal de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 1, 2001.

RAIA JÚNIOR, R. B. **Influência da mastite na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite**. 2001, 78 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

RIBEIRO, A. R. **Estudo da mastite bovina causada por microrganismos ambientais, influência do manejo e higiene**. 2001, 138 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

ROSÁRIO, T. R. **Avaliação da presença de resíduos de antibióticos no leite comercializado no município de Pirassununga**. 2002, 89 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Produtiva Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

SCHENCK, F. J.; FRIEDMAN, S. L. The effect of storage at 4 degrees C on the stability of ampicilin residues in raw milk. **Journal of the American Veterinary Association**, v. 217, n. 4, p. 541-545, 2000.

SHLAES, D. M., GERDING, D. N., CRAIG, W. A.; et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. **Clinical Infection Disease**, v. 25, p. 584-599, 1997.

SILVA, T. J. P.; SENA, M. C. Prevalência de antibiótico no leite pasteurizado tipo B e especial (3,2% de gordura) consumidos em Belo Horizonte entre 1982 e 1983. **Revista do Instituto Laticínio Candido Tostes**, v. 39, n. 235, p. 7-12, 1994.

SMITH K. L., HOGAN, J. S. Environmental mastitis. **Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice**, v. 9, p. 489-498, 1993.

SOARES, L. L. P. Restrições e uso de aditivos (promotores de crescimento) em rações para aves: visão do fabricante. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais....** Campinas: FACTA, 1996, p. 27-36.

SOGLIA, S. L. O.; ABREU, L. R.; BARCELOS, M. F. P. Aspectos tecnológicos e nutricionais de fortificação do leite com ferro. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 88, p. 50-55, 2001.

SOUZA, N. G. **Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite de consumo no estado de Santa Catarina**. 1998. 71 f. Dissertação (Mestrado) em Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1998.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, 646 p.

TROLLDENIER, H. **Antibióticos en medicina veterinaria**. Zaragoza: Acribia, 1985, 95 p.

VAN EGMOND, H. J et al. Stability of antibiotics in meat during a simulated high temperature destructions process. In: MAIN INDEX EURO RESIDUE, 4., 2000. Veldorven, 2000. 231 p.

WATTS, J. L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 16, p. 41-66, 1988.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food**. Geneve, 2002. 28 p.

YOUNG, H. K. Do nonclinical uses of antibiotics make a difference? **Infection Control Hospitalary Epidemiology**, v. 15, p. 484-487, 1994.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)