

RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM LEITE

Rochelli Maluf da Silva¹, Renato Castro da Silva², Alessandra Braga Ribeiro³

RESUMO

A presença de resíduos de antibióticos representa a principal contaminação química em leite e produtos lácteos. O leite com antibióticos é considerado impróprio para o consumo, representando riscos para a saúde, além da possibilidade de interferência nos processos tecnológicos de produção. Considerando a importância em saúde pública e para a indústria, o objetivo do trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico das metodologias mais adequadas para detecção de resíduos de antibióticos no leite, relatar quais os microrganismos causadores de mastite bovina e quais os antibióticos utilizados na terapia, além de analisar o risco do uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos e seus mecanismos de controle sanitário no Brasil. Inúmeros microrganismos podem causar mastite, sendo a bactéria *Staphylococcus aureus* a mais frequentemente detectada. Para o tratamento utilizam-se principalmente antibióticos do grupo dos beta-lactâmicos, sendo o leite contaminado por antibióticos quando o produtor não respeita o período de carência destes medicamentos. As metodologias utilizadas para teste de antibióticos priorizam a rapidez de resultado, pois é necessário viabilizar a liberação do lote o mais rapidamente para o processamento. O Brasil conta com o Programa de Controle de Resíduos em Leite (PCRL) o qual realiza ações de vigilância para controle do uso indevido de medicamento veterinário. No entanto, devido aos graves problemas de saúde pública advindos da ingestão de leite contaminado com antibióticos, verifica-se a necessidade de legislações e ações mais restritivas e efetivas, para garantir um produto que não ofereça risco à saúde do consumidor.

Palavras-chave: Leite; Antibióticos; Contaminação química; Saúde pública.

RESIDUES OF ANTIBIOTICS IN MILK

ABSTRACT

The presence of antibiotic residues represents the main chemical contamination in milk and dairy products. The milk contaminated with antibiotics is considered inappropriate for consumption and represents risk for public health. Besides, there is the possibility of interference in technological production processes. Considering the importance concerning to public health and food industry, this study aims to report a bibliographical research about: a) the most appropriate methodologies to detect antibiotic residues in milk; b) report which microorganisms cause bovine mastitis and which antibiotics are used in therapy of this disease; c) analyze the risk of veterinary medicines in animals that provide food and the sanitary control mechanisms used in Brazil. Several microorganisms cause mastitis. *Staphylococcus aureus* is the most frequently detected and antibiotics of beta-lactam group are mainly used in the treatment. Thus, the milk could be contaminated with antibiotics when the producer does not respect the drug elimination period. The methodologies used to test antibiotics prioritize the promptness of results due to the need to release faster a lot for processing. In Brazil the "Programa de Controle de Resíduos em Leite" conducts surveillance actions to control the misuse of veterinary medicines. However, due to the serious public health problems arising from drinking milk contaminated with antibiotics, there is a need for laws and more stringent and effective actions to ensure a product without risks to consumer health

Keywords: Milk; Antibiotics; Chemical contamination; Public health.

¹ Acadêmica do Curso de Farmácia-Faculdade Integrado de Campo Mourão-Paraná.

² Professor do Departamento do Curso de Nutrição-Faculdade Integrado de Campo Mourão-Paraná.

³ Professor do Departamento do Curso de Farmácia e Nutrição-Faculdade Integrado de Campo Mourão-Paraná.

INTRODUÇÃO

O leite é um produto com alto valor nutritivo e considerado um dos mais completos alimentos *in natura*. Sua equilibrada composição de nutrientes resulta em elevado valor biológico, constituindo-se principalmente de proteínas, gorduras, sais minerais, vitaminas e água (1). Devido à importância que representam na alimentação humana, o leite e seus derivados estão entre os alimentos mais testados e avaliados em relação à qualidade no Brasil (2).

De modo geral, são avaliadas características físico-químicas e sensoriais como sabor, odor e são definidos parâmetros de baixa contagem de bactérias, ausência de microrganismos patogênicos, baixa contagem de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antibióticos, pesticidas ou outras drogas (2; 3).

A presença de resíduos de antibióticos representa a principal contaminação química em leite e produtos lácteos e está diretamente relacionada ao tratamento de mastite. A adoção da antibioticoterapia deve visar à eficácia terapêutica e benefícios econômicos, onde o tratamento ideal seria aquele que não deixasse resíduos no leite (4; 5).

No Brasil, a Instrução Normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002, exige a pesquisa periódica de antibióticos em leite, os quais não devem ser superiores aos Limites Máximos de Resíduos (LMRs) previstos para cada grupo químico específico (6; 7; 8). A presença destas substâncias pode interferir na fabricação de diversos produtos lácteos, além de diminuir a produção de ácidos e compostos responsáveis pelo sabor na produção de queijo, manteiga e iogurte (2; 9; 10).

A principal fonte de resíduos de antibióticos no leite é originada do manejo inadequado de drogas. Essas substâncias são eliminadas pelo leite durante seu período de carência e a persistência de resíduos varia com o antibiótico e depende de vários fatores como dose e via de administração (1; 9).

Antibióticos do grupo dos beta-lactâmicos, principalmente a penicilina, são os mais utilizados no tratamento da mastite, sendo assim os mais frequentemente detectados no leite (4; 11). Este problema está ligado diretamente à saúde pública e se deve

à possibilidade de desenvolvimento de reações alérgicas ou tóxicas nos indivíduos que ingerem o leite contaminado com resíduos de antibióticos (11; 12; 13; 14).

Para uma melhor qualidade do leite destinado à população, deve-se avaliar a exposição aos resíduos de antibióticos, com o objetivo de orientar ações eficientes de controle sanitário e aumentar a segurança deste produto (15). Fica evidente que para maior segurança no consumo de leite é necessário o estabelecimento de políticas de segurança alimentar e controle desses resíduos em leite e derivados (1; 6; 11; 15).

Considerando a importância em saúde pública e para a indústria, o objetivo do presente trabalho é realizar um levantamento bibliográfico das metodologias mais adequadas para detecção de resíduos de antibióticos no leite, relatar quais os microrganismos causadores de mastite bovina e quais os antibióticos mais utilizados na terapia, além de analisar o risco do uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos e seus mecanismos de controle sanitário no Brasil.

METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de uma revisão bibliográfica e abrange as informações disponíveis em bibliografia pública. O conteúdo apresentado neste trabalho foi obtido por meio de artigos publicados em revistas indexadas entre os anos de 1985 e 2010, obtidos pelas bases SciELO, LILACS e Periódicos Capes, dissertações de mestrado, documentos eletrônicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Codex Alimentarius, livros e trabalhos apresentados em eventos.

Os dados foram selecionados a partir das palavras-chave: leite, resíduos de antibióticos, contaminação química, saúde pública, gerando um levantamento de 3 dissertações, 28 artigos, 5 livros, 6 documentos eletrônicos e 2 trabalhos. Após a identificação e seleção dos materiais, os mesmos foram submetidos à análise e interpretação, sendo fichadas as ideias centrais dos artigos selecionados para posterior utilização na presente revisão bibliográfica.

REVISÃO DA LITERATURA

LEITE

O leite por seu alto valor nutritivo é considerado um dos mais completos alimentos in natura. O equilíbrio na sua composição de nutrientes resulta em elevado valor biológico, constituindo-se principalmente de proteínas, gorduras, sais minerais, vitaminas e água (1). Do ponto de vista de saúde pública, ocupa lugar de destaque em nutrição humana, pois constitui um alimento essencial para todas as idades, principalmente recém-nascidos, o mesmo se aplicando para todos os derivados lácteos (16). No entanto, a sua composição química pode ser alterada por uma série de fatores, tais como raça, idade e alimentação do animal, estágio de lactação, variações climáticas, ou ainda por infecções do úbere da vaca (17).

Devido à relevância que representam na alimentação humana, o leite e seus derivados estão entre os alimentos mais testados e avaliados em relação à qualidade, devendo apresentar condições sanitárias adequadas (18).

Segundo Walstra (17) o leite é produzido durante a lactação na glândula mamária da vaca, a partir de elementos que passam do sangue para as células especializadas da glândula. De acordo com Guedes et al. (19), durante este processo podem passar também medicamentos ou drogas veterinárias que foram administrados às vacas para o controle de alguma doença.

Para determinar a qualidade geral do leite, são avaliadas características físico-químicas e sensoriais como sabor e odor, e são definidos parâmetros de baixa contagem de bactérias, ausência de microrganismos patogênicos, baixa contagem de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antibióticos, pesticidas ou outras drogas (2; 3).

MASTITE BOVINA E PRODUÇÃO DE LEITE

Um dos problemas mais frequentes e importantes na produção leiteira que exerce influência prejudicial sobre a composição e as características físico-químicas do leite é a mastite. Esta doença se caracteriza por um processo inflamatório da glândula mamária, provocada principalmente por bactérias, que

interfere diretamente na produtividade tanto em quantidade como em qualidade do leite (20). Estas alterações são relevantes do ponto de vista nutricional, tecnológico e de saúde pública (4; 21).

Tanto as legislações normatizadoras de produtos lácteos, quanto o mercado consumidor, têm sido cada vez mais rigorosos no que diz respeito à qualidade dos alimentos. De acordo com as legislações vigentes, a cadeia produtiva destes derivados deve ter comprometimento em alcançar e sustentar padrões de excelência em qualidade e inocuidade dos produtos, desde a obtenção da matéria-prima até o consumidor final (22).

A garantia da permanência de pequenos produtores na cadeia produtiva do leite está relacionada ao volume de produção e à qualidade do leite produzido, tornando-se necessário uma maior especialização e adaptação às novas necessidades de mercado. Devido à exigência dos consumidores, os produtores devem assumir um maior compromisso com a higiene e qualidade dos alimentos (23).

No leite é possível que estejam presentes resíduos de substâncias administradas aos animais ou usadas no ambiente da fazenda, tais como, antibacterianos, antiparasitários, desinfetantes e detergentes, herbicidas (24). Um fato agravante da presença destas substâncias no leite é que a maior parte é resistente à pasteurização, entre as quais algumas não são inativadas mesmo quando submetidas a temperaturas acima de 100°C (25). O tratamento UHT a 130°C-140°C por 2 a 4 segundos não é suficiente para destruir resíduos de antibióticos (2). A pasteurização, fervura e esterilização do leite têm pouca ou nenhuma influência sobre o conteúdo destes resíduos, constituindo risco para o consumidor e problema para a indústria. Para eliminar a penicilina do leite é necessário manter a temperatura de 100°C durante três horas (26).

Brito e Dias (22) afirmam que a pasteurização e a esterilização comercial (UHT) não inativam os antimicrobianos supostamente presentes no leite. Os mesmos autores relataram em seu trabalho que a fervura (tempo não relatado) foi capaz de inativar até 50% das penicilinas e 66% das estreptomicinas, 90% das oxitetraciclinas e tetraciclinas, não demonstrando qualquer ação sobre cloranfenicol.

A adoção da antibioticoterapia deve visar à eficácia terapêutica e benefícios econômicos, onde o tratamento ideal seria aquele que não deixasse resíduos no leite (4; 5).

Coetzer e Thomson (27) afirmam que 17% a 20 % da população mundial de vacas leiteiras apresentam mastite em algum momento de sua vida produtiva, podendo reduzir a produção de leite em 10 % a 15 %.

A mastite é causada por microrganismos patogênicos, pertencentes à microbiota natural dos animais e do ambiente, sendo geralmente ocasionadas por *Staphylococcus aureus* (28). Por se tratar de um microrganismo patogênico pode causar inflamações no úbere das vacas, além de estar presente em superfícies de utensílios e equipamentos de ordenha (29).

No Brasil, diferentes autores têm se preocupado em determinar parâmetros de qualidade no leite convencional quanto à presença de resíduos de antibióticos. Isto indica que deve haver maior controle da mastite, priorizando medidas voltadas aos microrganismos contagiosos, incluindo noções de higiene do ordenhador, manejo adequado na ordenha, adoção de pós-dipping e descarte de animais com mastite crônica. É necessária também a padronização das práticas voltadas à ordenha higiênica, garantindo melhor qualidade do leite comercializado ou mesmo da matéria-prima utilizada na elaboração de derivados lácteos (30).

MICROORGANISMOS CAUSADORES E TRATAMENTO DA MASTITE

Verifica-se que apesar da disponibilidade de vários antimicrobianos para tratamento da mastite, o problema de resistência dos microrganismos acentuou-se pelo uso indiscriminado e inadequado, particularmente no Brasil (31). O uso de

antimicrobianos é justificado pelos prejuízos do produtor, tendo em vista que a mastite leva à redução da produtividade de leite.

Os consumidores vêm exigindo qualidade nos produtos colocados no mercado e, com isto, impondo as indústrias a elaborarem produtos com matéria-prima de melhor qualidade.

O tratamento dos animais com antimicrobianos, de uso interno e externo, implica no estabelecimento do tempo de carência para o consumo dos alimentos obtidos do mesmo, isto é, para que a droga administrada seja totalmente eliminada (12).

O período de carência de um antimicrobiano é o prazo de eliminação deste no leite, após a última aplicação. Esse período de eliminação da substância administrada deve ser respeitado para prevenir resíduos de drogas nos alimentos provenientes dos animais tratados (32). No entanto, na maioria das vezes, a dosagem recomendada, a frequência de tratamento e o período de carência dos antimicrobianos não são respeitados (9).

Os resíduos de antimicrobianos podem ser detectados no leite após o animal ter sido tratado, por qualquer via de administração (intramamária, intramuscular, intrauterina, intravenosa, oral ou subcutânea) (24). A persistência do mesmo no leite varia com o produto e depende de uma série de variáveis, tais como: a dose, a via de administração, a solubilidade e o estado de saúde do animal (4). Na Tabela 1, estão apresentadas as principais vias de administração dos medicamentos utilizados em vacas leiteiras e a duração média da sua eliminação pelo leite.

Tabela 1: Persistência de eliminação de medicamentos pelo leite de acordo com a via de administração utilizada.

Via de administração	Persistência média (horas)
Oral	86
Intramuscular	72 a 96
Intravenosa	44
Intrauterina	31
Intramamária	48 a 144

Fonte: Costa, 1996 (9).

Fagundes (33), estudando 24 vacas holandesas em lactação, sendo oito com mastite e 16 saudáveis, observou que após a aplicação de penicilina G e de clortetraciclina, as vacas com mastite eliminaram resíduos, respectivamente, entre 126 e 141 horas após a aplicação, enquanto que, as vacas saudáveis, eliminaram penicilina G nas primeiras 72 horas após a aplicação e clortetraciclina, nas primeiras 96 horas.

Este estudo mostra que o período de carência necessário para a ausência de resíduos de antibióticos no leite deve ser definido levando-se em consideração a

farmacocinética e a farmacodinâmica do fármaco na glândula mamária, assim como o estado fisiológico da mesma.

Segundo Jones (10), muitos medicamentos são eliminados por tempo maior que o estabelecido. A penicilina possui recomendação de descarte até 72 horas após o uso, porém, resíduos têm permanecido no leite por até 18 dias.

Na Tabela 2 é mostrada a duração mínima de eliminação pelo leite, em dias, de alguns antimicrobianos frequentemente utilizados no tratamento da mastite.

Tabela 2 - Duração mínima de eliminação de antimicrobianos pelo leite.

Antimicrobiano (via intramamária)	Período mínimo de eliminação (dias)
Penicilina (procaína)	2
Clortetraciclina	6
Oxitetraciclina	4
Cloranfenicol	3
Estreptomicina	4

Fonte: Costa, 1996 (9).

Os microrganismos envolvidos na ocorrência de mastite são classificados, com base nas fontes de infecção e vias de transmissão, em contagiosos e ambientais. A maior frequência de mastite em animais de produção está relacionada aos microrganismos contagiosos, representados principalmente pelos gêneros *Staphylococcus* (*S. aureus*), *Streptococcus* (*S. agalactiae*) e *Corynebacterium* (*C. bovis*). Dentre os ambientais, assumem importância as enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes*), *Nocardia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, algas (*Prototheca zopfii*), fungos e leveduras (34).

O *Staphylococcus aureus* tem sido apontado como o principal patógeno responsável pela mastite, o qual produz toxinas contribuindo para a patogênese da mastite e também exerce influência em doenças alimentares, mesmo com leite pasteurizado, devido à produção de enterotoxinas termo-estáveis (35).

S. aureus é um coco gram-positivo coagulase positivo, beta-hemolítico e classificado como um microrganismo mesófilo apresentando crescimentos em temperaturas entre 7,0°C e 47,5°C. Entretanto, as enterotoxinas estafilocócicas são produzidas entre 10°C e

46°C, podendo sobreviver aos tratamentos térmicos, como a pasteurização (36).

Os mecanismos de ação dos antimicrobianos compreendem: inibição da parede celular do microrganismo, inibição da biossíntese protéica, rompimento do metabolismo do ácido desoxirribonucléico (DNA), alteração da função normal da membrana celular e inibição da síntese de alguns metabólitos essenciais.

Os antimicrobianos mais usados em animais produtores de alimentos, baseados em seu modo de ação, são: beta-lactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos, tetraciclina, cloranfenicol, quinolonas e sulfonamidas (4).

O cloranfenicol foi proibido para uso veterinário no Brasil, por meio da Portaria nº 448, de 10 de setembro de 1998 (MAPA), pois, foi considerado que resíduos potenciais na carne, leite e ovos, oferecem risco para a saúde pública (37). Esta medida foi tomada em virtude da sua toxicidade e capacidade de provocar anemia aplástica em indivíduos hipersensíveis, discrasia sanguínea, supressão reversível da medula e neurite óptica (4).

A Portaria nº 56, de 07 de dezembro de 1999, que trata da proposta de regulamentação para o setor lácteo inclui nos testes do leite cru a detecção de resíduos de antibióticos beta-lactâmicos. Os beta-lactâmicos são motivos de preocupação devido ao uso indiscriminado para tratamento de mastite. Fazem parte do grupo dos antibióticos beta-lactâmicos as penicilinas (naturais, semi-sintéticas e de amplo espectro) e as cefalosporinas (primeira, segunda, terceira e quarta geração) (24).

Os beta-lactâmicos, em especial a penicilina, são os antibióticos mais comumente administrados em virtude dos efeitos bactericidas e bacteriostáticos sobre um amplo espectro de bactérias gram-positivas e negativas (22; 29), sendo assim, os mais detectados no leite (4; 11).

Considerando-se a alta porcentagem de pessoas alérgicas à penicilina e seu amplo uso em fazendas produtoras de leite, seus resíduos constituem a maior preocupação com relação aos riscos oferecidos aos consumidores (29).

Cerca de 5 a 10% da população é hipersensível à penicilina e apresentam reações alérgicas em concentrações de 1 ppb. Além disso, existe a preocupação de que pequenas quantidades de certos antibióticos podem mudar os padrões de resistência de microrganismos presentes no trato intestinal humano (10; 12).

Este problema está ligado diretamente à saúde pública e se deve à possibilidade de desenvolvimento de reações alérgicas ou tóxicas, além de resistência bacteriana nos indivíduos que ingerem o leite contaminado com resíduos de antibióticos (11; 12; 13; 14).

USO INADEQUADO DE ANTIMICROBIANOS E SAÚDE PÚBLICA

Em função das infecções, os antibióticos têm sido bastante utilizados nas fazendas, de maneira indiscriminada, para fins terapêuticos, principalmente para cura de mastite, visando à proteção da saúde e bem-estar dos animais e também na prevenção da transmissão de doenças dos animais ao homem. Podem ser também incorporados à alimentação animal como suplemento dietético, pois, seu uso como aditivo melhora a conversão alimentar e

umenta, de forma significativa, o ganho de peso e o rendimento da produção (1).

Tais procedimentos realizados de maneira inadequada conduzem à presença de resíduos de antibióticos representando um risco ao consumidor e sendo, portanto, um sério problema na área econômica e de saúde pública. A utilização incorreta dos antibióticos pode induzir ao aparecimento de resíduos potencialmente nocivos nos alimentos de origem animal, sendo, desta forma, essencial assegurar seu uso racional, conservando a segurança do alimento (19).

No Brasil, o uso destes medicamentos é indiscriminado, não havendo controle eficaz em sua comercialização (38). A ANVISA realizou pesquisa por meio da Consulta Pública nº 58, de 17 de junho de 2010, sobre a implantação de medidas mais restritivas para a prescrição e comércio de antibióticos, isolados ou em associações de uso, sob prescrição médica. O intuito desta consulta é criar uma normativa que amplie o controle sobre esses medicamentos e contribua para a redução da resistência bacteriana na comunidade (39).

Segundo Brito et al. (40), o sucesso dos programas de controle do uso de medicamentos veterinários depende de mudanças de atitude e de manejo, em que o produtor e os funcionários desempenham um papel primordial.

A existência de resíduos de antibióticos no leite acarreta uma série de problemas para a classe médica, agrícola e a população em geral. Pode ser citado, por exemplo, o aparecimento de cepas bacterianas resistentes devido à utilização inadequada, ocorrência de reações alérgicas, repercussões em nível de tecnologia de alimentos, e, conseqüências econômicas para os produtores (13; 41).

Para o público infantil, o leite e seus derivados, representam uma importante porção da ingestão diária de alimentos. Estes indivíduos, juntamente com os idosos, são mais vulneráveis e mais sensíveis a uma menor concentração de resíduos ingerida. A criança pode não apresentar sintomas imediatos, mas podem ocorrer conseqüências futuras (9).

Segundo Costa (9) e Albuquerque et al. (12), os problemas ligados à saúde pública são relacionados a:

1. Seleção de cepas bacterianas resistentes. É comum o aumento gradativo das dosagens de antibióticos utilizadas na terapia de animais, tendo em vista que o emprego dessas drogas possibilita a seleção de bactérias resistentes, principalmente quando seu uso é irracional. A ingestão de resíduos de antibióticos presentes nos alimentos oferece risco para a saúde humana, seja sobre a flora intestinal, favorecendo o crescimento de microrganismos com resistência natural ou adquirida, ou para o desenvolvimento de resistência em bactérias enteropatogênicas. Esta resistência é principalmente causada pelo uso inadequado e freqüentemente indiscriminado de antibióticos. Como consequência, tanto as drogas consideradas clássicas, como aquelas recentes no comércio, vêm se tornando ineficientes, havendo possibilidade de transferência de resistência entre bactérias, inclusive em espécies diferentes;

2. Hipersensibilidade e possível choque anafilático em indivíduos mais sensíveis;

3. Alterações nos processos fermentativos (produção de queijos e iogurtes). As bactérias lácticas são mais sensíveis aos antibióticos, impedindo que a fermentação ocorra adequadamente;

4. Modificação dos resultados de análises laboratoriais. Induzir a uma falsa ideia da boa qualidade do produto;

5. Desequilíbrio da flora intestinal. Isto pode ocorrer principalmente em crianças abaixo de um ano de idade, que ainda se encontram em formação;

6. Discrasias sanguíneas associadas ao cloranfenicol;

7. Efeito teratogênico. O risco do consumo de antibióticos (metronidazol, rifampicina, trimetropim, estreptomicina e tetraciclina), por gestantes, se deve ao potencial teratogênico destes que podem causar ototoxicidade e alteração no desenvolvimento ósseo fetal. Demais efeitos adversos que determinados antimicrobianos podem causar em gestante e fetos estão relatados na Tabela 3.

Tabela 3: Antimicrobianos que apresentam efeitos adversos para gestantes e fetos

Antimicrobiano	Potencial Toxicidade
Aminoglicosídeos	Ototoxicidade
Eritromicina	Hepatite colestática
Metronidazol	Possível teratogenicidade
Nitrofurantoína	Anemia hemolítica
Sulfonamidas	Hemólise no recém-nascido pode apresentar desordens do sistema nervoso central
Tetraciclina	Alteração no desenvolvimento ósseo do feto e alteração na coloração dos dentes, posteriormente.
Trimetropim	Possível teratogenicidade
Quinolonas	Anormalidade na formação das cartilagens
Vancomicina	Possível ototoxicidade

Fonte: Costa, 1996 (9).

Nos laticínios, a presença desta droga no leite acarreta dificuldades técnicas, interferindo nos caracteres organolépticos e tecnológicos dos produtos lácteos industrializados, principalmente no processamento tecnológico do iogurte, manteiga e queijo, devido à inibição da flora bacteriana (2; 9; 10).

O principal problema para a indústria é a interferência no crescimento das culturas iniciadoras durante a elaboração de queijos e leites fermentados, alterando os fatores de qualidade e impedindo a manutenção do padrão de identidade e qualidade dos produtos (42). Isto pode resultar em coagulação inadequada do leite, maturação inadequada de queijos durante sua produção,

e redução da acidificação durante a produção de leites fermentados (43).

No iogurte, ocorre um desequilíbrio do fermento lácteo proporcionando um sabor desagradável e aspecto não característico do produto. No queijo, os resíduos provocam fermentação indesejada e maturação incompleta, além de sabor anormal, tornando o produto com características indesejáveis. Na manteiga, inibem a fermentação láctea parcial ou total, alterando o aroma característico do produto (42). A presença de antibióticos no leite, mesmo em pequenas quantidades pode, portando, gerar perdas na produção de derivados lácteos, causando prejuízos econômicos à indústria (43).

Para uma melhor qualidade do leite destinado à população, deve-se avaliar a exposição aos resíduos de antibióticos, com o objetivo de orientar ações eficientes de controle sanitário e aumentar a segurança deste produto (15). Para maior segurança no consumo de leite é, portanto, necessário o estabelecimento de políticas de segurança do alimento e controle desses resíduos em leite e derivados (1; 6; 11).

Outro tipo de reação adversa pode surgir 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 (44).

Segundo Costa (4), 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.

A avaliação da exposição da população a resíduos de antibióticos é necessária para direcionar as ações de controle sanitário visando à proteção do consumidor (45).

Sendo assim, trata-se de um problema de saúde pública que merece consideração especial, pois os efeitos tóxicos de resíduos de antibiótico no leite à saúde humana favorecem o desenvolvimento de formas de resistência de microrganismos patogênicos (32).

MÉTODOS DE DETECÇÃO

Para a detecção de antimicrobianos em leite podem ser utilizados métodos de análise baseados na inibição do crescimento microbiano, imunológicos, testes que usam receptores e enzimas e físico-químicos, por exemplo, a Cromatografia em Camada Delgada (CCD) (19). Existem vários kits comerciais disponíveis para a pesquisa de resíduos de antimicrobianos em leite (Tabela 4).

Tabela 4: Kits para pesquisa de resíduos de antimicrobianos no leite

Princípio do Teste	Nome do Teste
Inibição do crescimento microbiano	Teste do Disco BR-Test (Brilliant Black Reduction Test); BR-Test Charm Farm Test, Charm inhibition assay Delvotest-P, Delvotest-SP Copan® ATK P & S Microplate; Copan® ATK P & S Charm Cowside Test; Charm I Test, Charm II Test
Receptor	CITE Probe (β-lactâmico)
Ligação à proteína	CITE Probe® (Tetraciclina); CITE Probe®
ELISA	Lactek (Beta-lactâmicos); Lactek (sulfametazina); Signal (gentamicina); Signal (sulfametazina); Signal
Enzima	Penzyme® Snap™ (Beta-lactâmicos); Snap™ (tetraciclina)
	Método de bioluminescência

Fonte: Cullor, 1992 (46); Costa, 1996 (9).

Cada método analítico está baseado em um conjunto de critérios: sensibilidade, especificidade, exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, praticidade e aplicabilidade em condições normais de laboratório e susceptibilidade a interferentes. Para se obter uma matéria-prima isenta de resíduos, é necessária a utilização de métodos de diagnóstico seguros (47).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Resolução nº 02, de 12 de julho de 2002, criou o Comitê Técnico Consultivo, para executar a avaliação dos kits analíticos destinados à detecção de microrganismos, resíduos de drogas, medicamentos ou outras substâncias, no processo de Autorização de Uso de Produto – AUP (48).

Os testes comerciais disponíveis para aplicação a campo são, na sua maioria, qualitativos ou semi-quantitativos, sendo mais conhecidos como testes de triagem (11).

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. Estão oficialmente aceitos na comunidade internacional para triagem, os testes: TTC - cloreto 2,3,5 trifeniltetrazólico, Método de Difusão em Disco e Delvotest (49).

O método do TTC baseia-se na redução do cloreto de 2-3-5 trifenil-tetrazólico pelo *Streptococcus thermophilus* sensível a antibióticos do grupo beta-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 (50).

Magalhães (51), em estudo realizado em Belo Horizonte-MG, analisou 250 amostras de leite tipo A, tipo B, tipo C e Integral Fazenda por meio do método TCC obtendo 15,83 % de amostras positivas para presença de resíduos de antimicrobianos.

O Método de Difusão em Disco baseia-se na inibição do crescimento do microrganismo *Bacillus subtilis*, sensível a antibióticos do grupo dos beta-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 (50).

Nascimento et al. (1), na cidade de Piracicaba-SP, 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.

O Delvotest tem como princípio a inibição da multiplicação do microrganismo *Bacillus stearothermophilus* sensível a antibióticos do grupo beta-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 (50).

Leme et al. (52), na cidade de São Paulo-SP, encontraram 0,66% de amostras positivas para presença de resíduos, em um total de 1500 amostras de leite analisadas com o método Delvotest.

Para cada teste deve-se levar em consideração o seu princípio e os compostos que serão detectados, limite de detecção, praticidade de realização, tempo gasto com a análise e o custo. Os testes possuem limite de detecção, portanto, algumas amostras somente serão acusadas como “positivas” quando possuírem resíduos em concentrações acima das detectáveis pela metodologia. Deve-se dar importância, também, ao fato de que alguns testes podem apresentar resultados “positivos” e não necessariamente a quantidade detectada irá comprometer a saúde do consumidor, pois a concentração detectada pode estar abaixo dos Limites Máximos de Resíduos (LMR) estabelecidos pela legislação (52).

O LMR é baseado na Dose Diária Admissível (DDA) de um resíduo, que é definida como a dose diária que, se ingerida

durante toda a vida do indivíduo, não gera riscos aos consumidores (8).

Para assegurar a alta qualidade e a segurança dos produtos lácteos, em relação à presença de antibióticos, é necessário, portanto, determinado o LMR, que é a concentração máxima de resíduos presentes no alimento, resultante do uso de drogas veterinárias. Estes limites, recomendados pelo Codex Alimentarius, são legalmente permitidos ou reconhecidos como aceitáveis no alimento (7).

No Brasil, a Instrução Normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002, exige a pesquisa periódica de antibióticos em leite, os quais não devem ser superiores aos Limites Máximos de Resíduos (LMRs) previstos para cada grupo químico específico (6; 7; 8). A Tabela 5 apresenta os LMRs de antimicrobianos para uso em animais produtores de leite estabelecido pelo Codex Alimentarius e praticado no Brasil, Canadá, União Européia e Estados Unidos, tendo por objetivo comparar os LMRs praticados nos diferentes países, por ser fator limitante na exportação de produtos.

Tabela 5: Níveis máximos permitidos de resíduos de drogas aprovadas para uso veterinário no leite.

Droga	Nível máximo permitido de resíduos (ppb)			
	Brasil	Canadá	União Européia	Estados Unidos
Ampicilina	4	10	4	10
Ceftiofur	100	100	100	50
Cefapirina	-	20	60	20
Cloxacilina	-	30	30	10
Cloranfenicol	0	0	0	0
Diidroestreptomicina	200	125	200	125
Eritromicina	40	50	40	50
Estreptomicina	200	125	200	125
Neomicina	500	250	500	150
Novobiocina	-	125	50	100
Oxitetraciclina	100	150	100	30
Penicilina G	4	6	4	5
Sulfadimetoxina	100	10	100	10
Sulfadoxina	-	10	100	-
Sulfametazina	100	10	100	10

Fonte: MITCHELL et al., 1998 (50).

-: nível não definido.

LEGISLAÇÃO

O leite contaminado por substâncias químicas é considerado adulterado e impróprio para o consumo, pois representa um risco à saúde, e sua identificação constitui um dos princípios fundamentais para a aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (53).

Em 1998, a Portaria 46 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) obrigou a implantação gradativa, em todas as indústrias de produtos de origem animal, do sistema APPCC (54).

Em 1999, foi sancionada a Instrução Normativa 07 (IN 007) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a fim de regulamentar a produção de leite orgânico no Brasil, assegurar a qualidade do produto, garantir competitividade de mercado para os produtos de origem animal e vegetal, bem como nortear as exigências para o credenciamento das propriedades e Instituições certificadoras (55).

Apesar da regulamentação dos métodos e prerrogativas para a produção do leite orgânico no Brasil pela IN 007, são escassos os estudos no país voltados à avaliação da qualidade do leite orgânico (56). Ainda em

1999, o MAPA publicou o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCRA, onde está inserido o Programa de Controle de Resíduo em Leite – PCRL (57).

O Programa de Controle de Resíduos em Leite (PCRL) tem por objetivo garantir a produção e a produtividade do leite no território nacional, bem como contribuir com os produtos similares importados. Suas ações estão direcionadas aos conhecimentos das violações em decorrência ao uso indevido de medicamento veterinário ou de contaminantes ambientais (57).

Em 2002, o MAPA aprovou a Portaria nº.78, de 19 de dezembro de 2002, que regulamenta os programas para o Controle de Resíduos em Carne, Mel, Leite e Pescado em pontos de distribuição, estabelecendo LMRs para tais produtos (58).

A Instrução Normativa número 51, de 18 de setembro de 2002, 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. Todo mês, o responsável pelos produtos oferecidos ao consumidor deve enviar amostras de leite a um laboratório da rede credenciada do Ministério da Agricultura para análise de monitoramento oficial (7). A IN 51 tem por objetivo estabelecer as condições higiênico-sanitárias do leite na sua cadeia produtiva.

O uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos, cujos resíduos poderiam significar risco à saúde pública, deu início ao PAMVet (Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo) em 2002 (59). O primeiro produto escolhido foi o leite, por ser o alimento de origem animal mais consumido pela população brasileira, além de ter relevante papel na alimentação de grupos populacionais mais susceptíveis, como crianças e idosos, e por ser a fonte proteica de origem animal mais consumida pela população brasileira.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem várias medidas que controlam a presença de resíduos de antibióticos no leite. Esta presença se deve principalmente à não obediência do período de carência e à falta de fiscalização adequada. Sabe-se que não existe uma legislação específica que restringe o uso de antibióticos em animais produtores de alimentos, porém, o leite contaminado por substâncias químicas é considerado adulterado e impróprio para o consumo representando um risco à saúde pública.

Conclui-se que é necessária a conscientização tanto dos produtores quanto do mercado consumidor, enfatizando todos os prejuízos causados pela presença destas substâncias. Sendo assim, o leite apresentará melhor qualidade tanto para as indústrias quanto para os consumidores.

Rochelli Maluf da Silva, Renato Castro da Silva, Alessandra Braga Ribeiro

Endereço para correspondência: Alessandra Braga Ribeiro

Av. Japurá, 190

Maringá - PR

87050-630

: E-mail: alessandra.bragaribeiro@gmail.com

Recebido em 15/06/10

Revisado em 13/03/11

Aceito em 19/04/11

REFERÊNCIAS

1. NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.14, n. 2, p. 119-124, mai./ago. 2001.
2. SANTOS, A. F. R.; RODRIGUES, M. A. M. Resíduos inibidores em leite UHT. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104-105, p. 174-175, jan./fev. 2003.
3. TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite**. 3 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2008.
4. COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 501-515.
5. REIS, S. R.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 6, p. 651-658, dez., 2003.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo – PAMVet**. Brasília, 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/pamvet.pdf>. Acesso em: 16 mar. 2010.
7. 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 de setembro de 2002.
8. CODEX ALIMENTARIUS. Veterinary Drug Residues in Food. Disponível em: http://www.codexalimentarius.net/mrls/vetdrug/s/jsp/vetd_q-e.jsp. Acesso em: 16 mar. 2010.
9. COSTA, E. O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 44, p. 15-16, jul./ago. 1996.
10. JONES, G. M. **On-farm tests for drug residues in Milk**. Petersburg: Virginia State University, 1999. 6 p.
11. NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BERLOTI, V.; BARROS, M. A. F.; FRANCO, B. D. G. M. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 391-393, abr./jun. 2007.
12. ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S. C. S. Investigação sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza – CE – Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 41, p. 29-31, jan./fev. 1996.
13. BIACCHI, N. C.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Detecção de resíduos de antibióticos em leite bovino na região do Vale

- do Paraíba, São Paulo. **Revista Biociência**, Taubaté, v. 10, n. 1-2, p. 47-49, jan./jun. 2004.
14. MARTINS, J. L. S.; MARTINS, I. S. Inibidores bacterianos no leite tipo "B" comercializado no município de São Paulo, SP (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 19, n. 5, out. 1985.
15. FONSECA, G. P.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; SILVA, R.; MOURA, M. R. L.; CARVALHO, L. M. J. Antibiotic residues in Brazilian UHT Milk: a screening study. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 451-453, abr./jun. 2009.
16. OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Aspectos relacionados a produtos que influenciam a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 62, p.10-16, 1999.
17. WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 2006.
18. COVA, W. G. Prática sensitiva de detecção de penicilina no leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.3, n.3/4, p.207-211, 1984.
19. GUEDES, C. C.; MATOS, C. M. ; MOUTINHO, C. G. ; SILVA, C. S. Avaliação de utilização da espectrofotometria de UV/VIS na quantificação de antibióticos em extractos de leite de vaca. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, Porto (Edições Universidade Fernando Pessoa), v. 6, p. 232-243, 2009.
20. SILVA, E. R.; ARAUJO, A. M.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; SAUKAS, T. N. Associação entre o Califórnia Mastitis Test e a Contagem de Células Somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v.38, p. 46-48, 2001.
21. CULLOR, J. S. The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. **Veterinary Medicine Food Animal Practice**, v.88, p. 571-579, 1993.
22. BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **Qualidade do leite**. Juiz de Fora: Embrapa – CNPGL. Tortuga, 1998. 98 p.
23. MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: DÜRR, J. W. et al. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: UPF Editora, 2004. p.11-37.
24. BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. Qualidade do leite. In: MADALENA, F. H.; MATOS, L. L.; HOLANDA JUNIOR, E. V. **Produção de leite e sociedade: uma análise crítica da cadeia do leite no Brasil**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2001. p. 61-74.
25. HOTTA, J. M. **Monitoramento de resíduos de antimicrobianos em diferentes pontos da cadeia produtiva do leite, comparando diferentes métodos de detecção**. 2003. 90 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.
26. MEDEIROS, N. G. A.; CARVALHO, M. G. X.; LEITE, E. O.; PEREIRA, J. M.; PONTES, M. P. S. Detecção de antibióticos no leite "in natura" consumido no município de Patos-PB. In: Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, 4, Recife. **Anais...** Recife: SPEMVE, 1999. p. 225-226.
27. COETZER, J. A. W.; THOMSON, G. R. **Infections diseases of livestock**. Oxford: University Press, v. 2, cap. 190, p. 1564-1595, 1994.
28. MORONI, P.; PISONI, G.; ANTONINI, M.; VILLA, R.; BOETTCHER, P.; CARLIT, S. Curta comunicação: susceptibilidade às drogas antimicrobianas de *Staphylococcus aureus* oriundos de mastites bovinas subclínicas na Itália. **American Dairy Science Association**, v. 89, p. 2973-2976, 2006.
29. FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.
30. RIBEIRO, M. G.; GERALDO, J. S.; LANGONI, H.; LARA, H. B.; SIQUEIRA, A. K.; SALEMO, T.; FERNANDES, M. C. Microorganismo patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 52-58, jan., 2009.
31. MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C. ; FREITAS, M. F. L. ; PORTO, W. J. N. ; SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal**

- of **Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.
32. BRITO, M. A. V. P. **Resíduos de antibióticos no leite: um problema que tem solução**. Juiz de Fora: Embrapa, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpq.embrapa.br>>. Acesso em: 12 set. 2010.
33. 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.
34. LANGONI, H.; SILVA, A. V.; CABRAL, K. G.; DOMINGUES, P. F. Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, p. 204-210, 1998.
35. CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.; MARCO, J.; PAAPE, M.; GONZALO, C. Mastitis in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 68, p.145-153, 2007.
36. FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, jul./ago. 2004.
37. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998. Regulamento Técnico de Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 1998, de 24/09/98, nº 165-E, Seção 1, p. 28 e 29.
38. WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida? In: **Uso Racional de Medicamentos: Temas Selecionados**. Brasília, v. 1, n. 4, mar., 2004.
39. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Consulta Pública nº 58, de 17 de junho de 2010**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/84a5128042e59c46a31fb7d90f4a3f31/CP+N%C2%BA+58+DIDBB.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 08 set. 2010.
40. BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. ; VEIGA, V. M. O. ; RIBEIRO, M. T. A pesquisa sobre mastite bovina na Embrapa gado de leite. In: PASSOS, L. P.; et al. **Gado de leite: 20 anos de pesquisa**. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1997.
41. NUNES, M. T.; D'ANGELINO, J. L.. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite, em fazendas produtoras e no leite pronto para consumo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, p. 57-61, mar., 2007.
42. FAGUNDES, C. M. **Inibidores e controle de qualidade do leite**. Pelotas: Universitária, 1997. 128 p.
43. BRITO, M. A. V. P. **Resíduos de antimicrobianos no leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. 28 p.
44. 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.
45. MORAIS, C. M. Q. J.; DURÃES, T. S. ; NÓBREGA, A. W. ; JACOB, S. C. Presença de resíduos de antibióticos em leite bovino pasteurizado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.01, p. 33-35, mai., 2009.
46. CULLOR, J. S. Tests for identifying antibiotic residues in milk: How well do they work? **Veterinary Medicine Food Animal Practice**, v. 87, n. 12, p. 1235-1241, 1992.
47. NOA, M.; VALCÁRCEL, L. Consideraciones Actuales de La Analítica de Residuos de Antibioticos y antiparasitários em La leche. **Revista de Salud Animal**, v. 22, n. 2, p. 77-85, 2000.
48. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Resolução nº 02, de 12 de julho de 2002. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 de julho de 2002.
49. 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 de fevereiro de 1999.
50. MITCHELL, J. M.; GRIFFITHS, M. W.; McEWEN, S. A. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and tests performance. **Journal of Food Protection**, v. 61, n. 6, p. 742-756, 1998.
51. MAGALHÃES, N. A. **Deteção de resíduos de inibidores bacterianos em leite pasteurizado tipos "A", "B", "C" e "Integral/Fazenda" comercializados na Grande Belo Horizonte**. 1995. 98 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1995.
52. LEME, F. B. P. **Presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de diferentes tipos de leite comercializados no município de São Paulo**. 2005. 102 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
53. SILVA, M. V. M.; SARMENTO, A. M. C.; FRANCA, A. P. **Resíduos de antibióticos no leite e seus efeitos na saúde pública: uma preocupação constante**. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35. Gramado, v. 35, p. 568-570, 2008.
54. RIBEIRO-FURTINI, L. L.; ABREU, L. R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.358-363, mar./abr., 2006.
55. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 007, de 17 de maio de 1999. Normas Disciplinadoras para a Produção, Tipificação, Processamento, Envase, Distribuição, Identificação e Certificação de Qualidade de Produtos Orgânicos, sejam de Origem Animal ou Vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 de maio de 1999.
56. CAMPOS, E. P. C. **Qualidade microbiológica, físico-química e pesquisa de resíduos de antibióticos e pesticidas no leite bovino produzido pelo sistema convencional e pelo sistema orgânico**. 2004. 58 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu-SP, 2004.
57. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999, que altera o Plano Nacional de Resíduos em Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 de dezembro de 1999.
58. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 78, de 19 de dezembro de 2002. Controle de Resíduos em Carne, Mel, Leite e Pescado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 de janeiro de 2003, Seção 1.
59. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Cria Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal - PAMVet Resolução nº 253, de 16 de setembro de 2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003, Seção 1.