



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO

**Avaliação da Presença de Resíduos de Antimicrobianos em Leite e Bebida
Láctea UHT por Teste de Inibição Microbiana Comercial**

Aline da Silva Costa

2009



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE RESÍDUOS DE
ANTIMICROBIANOS EM LEITE E BEBIDA LÁCTEA UHT POR
TESTE DE INIBIÇÃO MICROBIANA COMERCIAL**

ALINE DA SILVA COSTA

Sob a orientação da Professora:
Verônica Lobato

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência do Alimento.

Seropédica, RJ
Março, 2009

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

ALINE DA SILVA COSTA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau **de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência do Alimento.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/03/2009

Verônica Lobato. Dra. UFRuralRJ.
(Orientadora)

Rosa Helena Luchese. Dra. UFRuralRJ.

Robson Maia Franco. Dr. UFF.

636.08842 Costa, Aline da Silva, 1981-
C837a Avaliação da presença de resíduos de
T antimicrobianos em leite e bebida láctea
UHT por teste de inibição microbiana
comercial / Aline da Silva Costa - 2009.
73 f. : il.

Orientador: Verônica Lobato, 1961-
Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa
de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Alimentos.
Bibliografia: f. 44-55

1. Leite - Microbiologia - Teses. 2.
Agentes antiinfecciosos - Teses. 3. Leite
- Qualidade - Teses. 4. Mastite - Teses.
I. Lobato, Verônica, 1961-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. III.
Título.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente À Deus, à minha família (Mãe, Mandy) e ao amor da minha vida, Bê, principalmente pelo suporte que todos vocês me deram, a palavra amiga e por não me deixar desistir diante dos obstáculos. Muito Obrigada por confiarem e acreditarem em mim.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo propósito debaixo do céu. Há tempo de nascer e tempo de morrer; tempo de plantar e tempo de colher o que plantou.”
Eclesiastes 3, 1:2

“Viver e não ter a vergonha de ser feliz
Cantar e cantar e cantar a beleza de ser um eterno aprendiz
Eu sei que a vida devia ser bem melhor e será
Mas isso não impede que eu repita
É bonita! É bonita! E é bonita!”

AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar por sempre estar comigo, me iluminando e concedendo bênçãos por cada dia de vida.

À minha família, mãe e irmã e ao meu pai, que esteja onde estiver sei que olha por mim. Vocês são os responsáveis por eu ser o que sou e ter conseguido chegar até aqui, por ter me dado forças e aquele colo nas horas de tristeza. Amo vocês!

Ao amor da minha vida, Bê, obrigada pelo seu amor, por fazer parte da minha vida tão intensamente, ser minha fortaleza, ter a palavra de carinho e me dar forças quando não as tinha mais, você também é parte desta minha vitória.

À minha irmã de coração (Neide) e aos meus queridos sobrinhos (Lipe, Nanan, e Teteus) beijos e abraços apertados!

À minha orientadora Dra. Verônica Lobato, pela paciência, serenidade, confiança, e ensinamentos, vamos em direção a mais uma etapa!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, todos os professores e técnicos que me ajudaram a concluir este trabalho, pela compreensão e colaboração, muito obrigada de coração!

À Lane que me ajudou incansavelmente nas análises, tão prestativa, a ponto de trabalharmos aos finais de semana!

À prefeitura Municipal de Seropédica, em especial a Secretaria Municipal de Saúde por ter me dado a oportunidade de me capacitar e permitir que eu cursasse este caminho tão sonhado.

Aos proprietários dos estabelecimentos que liberaram as amostras para análise, sempre receptivos, cordiais e compreensivos.

Aos funcionários do MAPA que gentilmente me cederam informações, orientações, colaboraram imensamente para esta pesquisa, e para perspectivas futuras.

À FAPERJ pelo financiamento do projeto, custeando os materiais utilizados na realização das análises.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente vivenciaram estes momentos comigo (amigos, tios e tias emprestados!), torceram por mim, acreditam em mim. Dedico esta vitória a vocês!

RESUMO

COSTA, Aline da Silva. Avaliação da Presença de Resíduos de Antimicrobianos em Leite e Bebida Láctea UHT por Teste de Inibição Microbiana Comercial. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

A ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite tem sido objeto de preocupação constante por parte das autoridades sanitárias constituindo um sério problema na saúde coletiva, devido aos efeitos tóxicos destes compostos ocasionando alergias, e até mesmo alguns tipos de câncer, além da possibilidade de favorecer o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e alterar a constituição da microbiota do trato gastrointestinal. A presença de resíduos de antimicrobianos no leite representa o principal ponto crítico de controle de contaminação química do leite, devendo ser observada na recepção da matéria prima nas plataformas das indústrias de laticínios. Para fiscalização e monitoramento eficientes dos níveis de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal, são necessários métodos analíticos validados que garantam a segurança e confiabilidade dos resultados gerados. Os objetivos deste trabalho foram: avaliar a incidência de resíduos de antimicrobianos leite UHT comercializado em Seropédica, Rio de Janeiro e avaliar o método de análise por kits comerciais de acordo com a sensibilidade. Para o teste de resíduo antimicrobiano foram obtidos leites esterilizados pelo processo UHT, coletados em supermercados locais, entre Março de 2007 a Julho de 2008 sendo estes armazenados sob congelamento. As análises das 175 amostras foram realizadas com teste microbiológico comercial Delvotest®SP-NT com *G. stercorophilus* var. *calidolactis*, em meio ágar com indicador. Do total de amostras analisadas, 2 (duas) foram positivas perfazendo um total de 1,1% de incidência em leite já processado e ofertado ao consumo. Os kits foram testados quanto a sua eficácia, confrontando doses de alguns fármacos que compõem o “pool” de sensibilidade do kit. Foram realizadas diluições dos seguintes antimicrobianos: Amoxicilina, Ampicilina, Gentamicina, Eritromicina, e Trimetoprima em doses diferentes à sensibilidade indicada pelo fabricante, uma inferior, uma intermediária e outra superior ao limite de detecção do método e todas foram confirmadas pelo kit testado. Uma estratégia de controle voltada à correção do problema, com orientação zootécnica, extensão rural, noções higiênico-sanitárias, promoção de ações educativas pelos órgãos fiscalizadores é uma proposta diante dos resultados obtidos neste estudo, visto que a mastite é grande colaboradora para ocorrência destes antimicrobianos no leite. É de fundamental importância prevenir a presença de resíduos de antimicrobianos no leite para reduzir problemas técnicos no processamento de produtos lácteos e a possibilidade da transmissão desses resíduos ao consumidor, o que pode acarretar problemas de saúde coletiva. A presença de inibidores bacterianos encontrados nas amostras analisadas, contrariando a legislação em vigor, torna enfática a necessidade da atuação dos órgãos de saúde coletiva quer seja através da inspeção, quer seja através de amplos programas educativos junto à população envolvida na cadeia de produção.

Palavras-chave: Leite. Resíduos de antimicrobianos. Teste de inibição microbiana.

ABSTRACT

COSTA, Aline da Silva. Evaluation of the presence of antimicrobials residues in Milky Drink and UHT Milk by Microbial Inhibition Commercial Test. Dissertation (Master Science in Food Science and Technology, Food Science). Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

The occurrence of antimicrobials residues in milk has been the object of concern by the health authorities, it's a serious problem in public health due to toxic effects of these compounds, allergies and even some types of cancer, and the opportunity to promote the development of pathogenic microorganisms and change the constitution of the microbiota of the gastrointestinal tract. The presence of antimicrobials residues in milk is the most critical point control of chemical milk contamination, should be observed in receipt of raw material on the platforms of the dairy industry. For efficient supervision and levels monitoring of antibiotics residues in animal products, validated analytical methods are needed to ensure the safety and reliability of the results generated. The objectives of this study were: to evaluate the incidence of antibiotic residues in milk marketed in Seropédica, Rio de Janeiro and evaluate the method of analysis by commercial kits according to sensitivity. To test for antimicrobial residues were obtained by the process UHT sterilized milk, collected from local supermarkets, from March 2007 to July 2008 which are stored under freezing. The analysis of 175 samples were taken with microbiological test commercial Deltotest® SP-NT with *G. steraothermophilus* var. *calidolactis* in agar medium with indicator. Of the total samples analyzed, 2 (two) were positive for a total of 1.1% in incidence of milk already processed and offered for consumption. The kits were tested for their effectiveness, comparing doses of some drugs that make up the pool of sensitivity of the kit. Dilutions were made of the following antimicrobials: Amoxilina, Ampicillin, Gentamicin, Erythromycin and Trimethoprim in different doses to the sensitivity shown by the manufacturer, one less, one intermediate and one above the detection limit of the method and all were confirmed by the test kit. A control strategy aimed at correcting the problem, with guidance livestock, rural extension, sanitary-hygienic concepts, promotion of educational activities by enforcement bodies is a proposal before the results of this study, since mastitis is a major contributor to the occurrence of antimicrobial in milk. It is vital to prevent the presence of antimicrobials residues in milk to reduce technical problems in processing of dairy products and the possibility of transmission of such waste to the consumer, which may cause public health problems. The presence of bacterial inhibitors found in the samples, contrary to existing legislation, it emphatically the need for action of the organs of Public Health, either through the inspection, either through extensive educational programs among the people involved in the production chain.

Keywords: Milk. Residues of antimicrobial drugs. Microbial inhibition test.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Limite máximo permitido de resíduos de antimicrobianos no leite ($\mu\text{g}/\text{Kg}$), de acordo com a Comissão do <i>Codex Alimentarius</i> (CODEX), “Food and Drug Administration” (EUA), União Européia e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)	13
Tabela 2 Kits para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite disponíveis no mercado	31
Tabela 3 Kits para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite e especificações	32
Tabela 4 Limite de sensibilidade ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) de diferentes testes de inibição do crescimento microbiano para diferentes antimicrobianos	33
Tabela 5 Quantidade e marcas das amostras analisadas	35
Tabela 6 Antimicrobianos e diluições utilizadas para o teste de sensibilidade do Kit Delvotest®SP-NT	38
Tabela 7 Resultado das análises	39
Tabela 8 Resultado das análises do teste de sensibilidade do Kit Delvotest®SP-NT	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Estrutura química das quinolonas	16
Quadro 2 Estrutura química das sulfonamidas	17
Quadro 3. Principais causas de ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite	42
Quadro 4. Cuidados a serem observados ao tratar os animais	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Aplicação de antimicrobiano para o tratamento da mastite pela via intra-mamária	12
Figura 2 Delvotest SP-NT	29
Figura 3 Distribuição das amostras coletadas em frascos de 300 mL para posterior congelamento	35
Figura 4. Distribuição das amostras analisadas segundo a classificação pelo teor de gordura	36
Figuras 5 e 6 Incubação das amostras nas ampolas do Delvotest®SP-NT em banho-maria a 64°C por 3 horas	36
Figuras 7 e 8 Coloração indicativa dos resultados das amostras analisadas	37
Figuras 9 e 10 Realização do teste do formaldeído	37

LISTA DE ABREVIACOES E SIMBOLOS

AOAC	“association of official analytical chemist”
ANVISA	agência nacional de vigilância sanitária
APPCC	análise de perigos e pontos críticos de controle
BPA	boas práticas agropecuárias
BPF	boas práticas de fabricação
CCS	contagem de células somáticas
CLA	“conjugated linoleic acid”
CLAE	cromatografia liquida de alta eficiência
CMT	“california mastitis test”
DVA	doenças veiculadas por alimentos
EPI	equipamento de proteção individual
FAO	“food and agricultural organization of the united nations”
FDA	food and drug administration
HPLC	“high performance liquid cromatrography”
IDA	ingestão diária aceitável
IN	instrução normativa
ISO	“international standart organization”
Kg	quilogramas
LMR	limite máximo de resíduo
MAPA	ministério da agricultura pecuária e abastecimento
mg/Kg	miligramas por quilograma
OMS	organização mundial da saúde
PCRL	programa de controle de resíduos no leite
PNQL	programa nacional de melhoria da qualidade do leite
POP	procedimento operacional padrão
RDC	resolução da diretoria colegiada
RIISPOA	regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal
WMT	“wisconsin mastitis test”
$\mu\text{g/Kg}$	microgramas por quilograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
3 JUSTIFICATIVA	4
4 REVISÃO DE LITERATURA	5
4.1 Leite	5
4.2 Mastite	8
4.3 Antimicrobianos	10
4.4 Tratamento da Mastite Bovina	11
4.5 Aminoglicosídeos no Tratamento da Mastite Bovina	12
4.6 Betalactâmicos no Tratamento da Mastite Bovina	14
4.7 Cloranfenicol	15
4.8 Quiolonas	15
4.9 Tetraciclina	15
4.10 Sulfonamidas	16
4.11 Qualidade do Leite	18
4.12 Legislação Brasileira Direcionada à Qualidade do Leite	20
4.13 Resíduos de Antimicrobianos	22
5 MATERIAL E MÉTODOS	35
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÕES	41
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
10 ANEXO	56
ANEXO A Produtos de uso veterinário empregados no tratamento da mastite	56

1 INTRODUÇÃO

A alimentação influencia, decisivamente, na saúde do homem, por relacionar-se com a nutrição, sobrevivência, desempenho na vida e conservação da espécie, além de ser, recentemente apontada, como um dos fatores mais importantes para a longevidade com qualidade de vida.

O leite é um alimento único pelo seu valor nutritivo e pela sua composição, sendo, portanto, um constituinte essencial da dieta dos recém-nascidos para todas as espécies de mamíferos, em particular para a espécie humana, sendo também indicado em todas as idades. Por isso é extremamente importante apresentar-se com qualidade.

Em relação à produção de lácteos no Brasil também tem sido observado um crescimento quantitativo. Porém, aliado a esse crescimento, iniciativas para a modernização do setor foram incrementadas, não só pelo valor dos técnicos e pesquisadores no campo do melhoramento genético dos plantéis, aprimoramento da alimentação fornecida, controle da saúde dos animais, como também, pelo estabelecimento de padrões de qualidade e segurança a fim de poder competir com a invasão de lácteos importados e acompanhar as regulamentações, fixando padrões de qualidade e identidade aos produtos lácteos de maior interesse no mercado. A partir dos anos 90, foram realizados trabalhos importantes visando a modificação de um modelo ultrapassado de produção de leite para mais modernos conceitos nessa atividade econômica primária, trazendo ganhos de produtividade, maior competitividade no setor, com pesquisas e trabalhos científicos da maior expressão, ampliando a qualidade dos produtos oferecidos aos consumidores (PROGRAMA ALIMENTO SEGURO SEGMENTO CAMPO, 2005).

Entretanto, mesmo com os avanços tecnológicos ocorridos ao longo dos últimos anos, a qualidade do leite produzido no Brasil ainda está muito além do tecnicamente recomendado, ficando comprometidas a inocuidade dos alimentos lácteos ofertados à população e também as possibilidades do país de se estabelecer como um forte competidor no mercado internacional. A baixa qualidade da matéria-prima aqui produzida limita a transformação industrial desse leite a produtos de baixo valor agregado e sem um padrão de mercado (DÜRR, 2005)

Assim como outros alimentos de origem animal, o leite, durante o seu processo de produção primária, processamento, transporte e comercialização, pode ser contaminado por micro-organismos patogênicos, ou mesmo por outras substâncias tóxicas, que impliquem em riscos à saúde do consumidor (CERQUEIRA, 1995).

É de fundamental importância prevenir a presença de resíduos de antimicrobianos no leite para reduzir problemas técnicos no processamento de produtos lácteos e a possibilidade da transmissão desses resíduos ao consumidor, o que pode acarretar problemas de saúde coletiva.

Os resíduos de antimicrobianos no leite podem apresentar sérias conseqüências toxicológicas e técnicas. A presença destes no leite retarda ou mesmo impede os processos microbiológicos utilizados na manufatura de determinados produtos lácteos (BRADY & KATZ, 1998; DEWDNEY et al., 1991; CURRIE et al., 1998; PORTUGAL, 2001)

A terapia antibacteriana em bovinos tem sido incriminada como um fator catalisador de resistência em bactérias isoladas de animais tratados, de outros animais na propriedade e de alimentos derivados destes animais (BERGHASH et al., 1983; GRIGGS et al. 1994; PIDDOCK., 1996), sendo a mastite, processo inflamatório da glândula mamária, a causa mais frequente para uso de antibacterianos em bovinos produtores de leite (McEWEN et al.,1991, COSTA et al.,2000; MOLINA et al.,2003)

Devido a relevância da presença de resíduos de antimicrobianos no leite sob o ponto de vista de saúde coletiva, por contribuir para a seleção de amostras resistentes e como fator econômico relacionado na interferência na produção de derivados, têm sido realizadas pesquisas para elucidar alguns aspectos que influenciam na persistência de resíduos no leite.

Entre os fatores de risco estudados por Raia (2001), está a intensidade da mastite, na persistência de resíduo de antimicrobianos em animais tratados.

A comissão constituída para o Programa Nacional de Controle de Qualidade do Leite (PNQL), implantado em 2005 recomenda maior rigor na avaliação da presença de resíduos de antimicrobianos no leite. Para tanto, são necessários estudos sobre o assunto pra fornecer subsídios aos produtores, médicos veterinários e técnicos, no sentido de melhor orientar o uso destes e prevenir resíduos.

2 OBJETIVOS

Avaliar a incidência de resíduos de antimicrobianos no leite UHT comercializado no município de Seropédica, Rio de Janeiro;

Avaliar o método de análise por kits comerciais de acordo com a sensibilidade.

3 JUSTIFICATIVA

A ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite tem sido objeto de preocupação constante por parte das autoridades sanitárias constituindo um sério problema na saúde coletiva, devido aos efeitos tóxicos destes compostos, alergias, e até mesmo alguns tipos de câncer, além da possibilidade de favorecer o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos e alterar a constituição da microbiota do trato gastrointestinal.

A presença de resíduos de antimicrobianos no leite representa o principal ponto crítico de controle de contaminação química do leite, devendo ser observada na recepção da matéria prima nas plataformas das indústrias de laticínios (FOLLY & MACHADO, 2001).

Por este motivo, recomenda-se o monitoramento frequente de resíduos de medicamentos e seus derivados metabólicos no leite, adotando-se, como referência, os limites estabelecidos através de agências internacionais. Historicamente, a principal referência mundial para esse assunto é o Codex Alimentarius (FAO/OMS), que fornece subsídios técnicos e serve de referência para vários países do mundo. De acordo com o mesmo, o limite máximo de resíduo de antimicrobiano para o leite é um décimo do limite máximo para a carne, pois o leite é alimento essencial para crianças e recém nascido (FONSECA, 2001). No Brasil, o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCRB) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o PAMvet (ANVISA) regulamentam o assunto.

O conhecimento da dimensão da exposição da população aos antimicrobianos é de fundamental importância para nortear as ações de controle visando a proteção à saúde do consumidor.

Em função desta realidade, o monitoramento do que vem sendo consumido pela população faz-se necessário. Através dos resultados encontrados, será desencadeada uma estratégia de controle voltada à correção do problema, com orientação zootécnica, extensão rural, noções higiênico-sanitárias, promoção de ações educativas pelos órgãos fiscalizadores.

4 REVISÃO DE LITERATURA

A mastite é um dos problemas mais importantes nas propriedades leiteiras e a maior fonte de resíduos encontrados no leite (McEWEN et al.,1991, MOLINA et al.,2003).

O tratamento da mastite é um dos fatores de impacto econômico na produção leiteira, representado pelo custo com os medicamentos, mão-de-obra e descarte do leite. Na prática, a administração do medicamento é realizada por via sistêmica ou por via intramamária ou, ainda, pelas duas vias concomitantemente. A via intramamária é a mais utilizada por apresentar menores efeitos colaterais, maior facilidade de aplicação e menor custo.

Os medicamentos disponíveis para o tratamento de mastite, de animais em lactação, apresentam formulações com diferentes princípios ativos. Os antimicrobianos betalactâmicos estão entre os mais usados internacionalmente em medicina humana e veterinária (SHITANDI & GATHONI, 2004).

Na atualidade tem sido observado um predomínio de aminoglicosídeos e betalactâmicos na formulação dos medicamentos para mastite disponíveis no mercado brasileiro.

A situação brasileira se diferencia da observada no estrangeiro onde predominam betalactâmicos para o tratamento de mastite, sendo que em alguns países o tratamento desta afecção é restrito ao uso destes antimicrobianos (SHITANDI & GATHONI, 2004). Esta peculiaridade na utilização de diferentes grupos farmacológicos no tratamento da mastite no Brasil motivou a realização de pesquisas no sentido de conhecer melhor os fatores que interferem na presença de resíduos de antimicrobianos no leite de vacas tratadas.

4.1 Leite

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) de 1952, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda (BRASIL, 1952).

O leite como alimento balanceado foi sempre considerado como um dos melhores, e que possui tudo o que se pode esperar em um alimento: acessibilidade, preço, qualidade nutricional e características sensoriais de grande aceitação pela população (MARTÍNEZ, 2006).

O consumidor percebe o leite como um alimento especial, por ser um componente importante na dieta de recém-nascidos, crianças em fase de crescimento, adultos jovens e idosos. Assim, o conceito nutricional do leite está próximo do alimento completo, além da impressão de pureza associada à cor branca (BRADY& KATZ, 1998; COSTA,1998;1999).

O leite e seus derivados ocupam um papel importante na nutrição do homem. Um litro por dia supre todas as necessidades de proteína de crianças até seis anos de idade, mais de

60% das necessidades protéicas dos adolescentes e 50% das necessidades protéicas dos adultos. Em relação ao cálcio, o consumo de um litro diário supre cerca de 100% das necessidades (COSTA,1999).

Pode ser considerado um produto fonte de mais de vinte diferentes nutrientes essenciais, atendendo, proporcionalmente, às exigências nutricionais de cálcio e proteínas, consideradas de alto valor biológico, além de fornecer vitaminas (A, B2, B12 e D) e minerais (cálcio, fósforo e magnésio). O cálcio é um nutriente essencial para o funcionamento normal do metabolismo de todas as células, participando de inúmeras funções vitais (SANTOS et al., 2004).

As propriedades do leite são determinadas por seus constituintes e por qualquer processo ou operação que, alterando estes constituintes, possa interferi-las. O leite fresco normal tem um sabor ligeiramente adocicado, devido principalmente ao seu alto conteúdo de lactose. Entretanto, todos os elementos do leite, inclusive as proteínas participam de forma direta ou indireta na sensação de sabor. Já o odor do leite recém-ordenhado está relacionado com o ambiente de ordenha, porém este odor logo desaparece, tendo que se apresentar, preferencialmente, isento de odores estranhos. Os principais elementos que influenciam o odor do leite são provenientes do meio ambiente, de utensílios, outros alimentos e pela presença de microorganismos (BRITO e BRITO, 1998).

Sua perenidade na mesa dos consumidores de toda idade também está baseada na característica de satisfazer às exigências de bem estar e saúde e na habilidade de produzir efeitos medicinais positivos (MONARDES, 2004).

Segundo Monardes (2004) outros componentes do leite possuem efeitos benéficos sobre a saúde. O ácido butírico, assim como os esfingolipídios, na redução do câncer de cólon, os polipeptídios e proteínas do leite, na diminuição do risco de hipertensão; o ácido linoléico conjugado (em inglês: “Conjugated Linoleic Acid”, CLA) na função imunológica na diminuição do risco de certos tipos de câncer; o ácido esteárico, no controle dos lipídios sanguíneos; a fermentação com probióticos, na absorção de lactose e outros nutrientes, na melhoria da imunidade e na diminuição de certas doenças infecciosas.

Especificamente, no mercado de leite fluido observou-se nos últimos anos, um crescimento explosivo do consumo de leite tipo UHT, tornando tecnologicamente possível o fornecimento de leite vindo de regiões distantes dos centros consumidores a preços baixos (SANTOS & FONSECA, 2003).

O sexto produto agropecuário brasileiro é o leite, com produção de vinte e sete bilhões de litros em 2008 (EMBRAPA,2009). O Brasil é, o sexto maior produtor mundial de leite, responsável por cerca de 48% do volume produzido pelos países que compõem o MERCOSUL.

O Brasil apresenta baixo consumo de leite, per capita, cerca de 123 kg hab-1 ano-1, a partir de 2003 o consumo vem aumentando, com taxas de 4,3% ao ano. Esse valor está bem acima do crescimento econômico verificado no setor industrial e de serviços, bem como do crescimento econômico nacional. (BALBASSIN JR., 2006). Contudo, o consumo está abaixo do recomendado pela FAO que é 224kg hab-1ano-1 (CALIL, 2006).

Santos & Fonseca (2002) destacaram que, em termos mundiais, as normas utilizadas para o comércio internacional são definidas pelo Codex Alimentarius, que é um fórum internacional de normalização de alimentos, estabelecido pela Organização das Nações Unidas através da “Food and Agriculture Organization” (FAO) e Organização Mundial da Saúde (OMS). As normas Codex abrangem os principais alimentos, sejam processados, semiprocessados ou crus. Também abrange substância/produtos que sejam usadas para a elaboração dos alimentos, na medida em que seja necessário alcançar os principais objetivos do Codex. As diretrizes Codex referem-se aos aspectos de higiene e propriedades nutricionais dos alimentos, abrangendo código de prática e normas de: aditivos alimentares, pesticidas e resíduos de medicamentos veterinários, substâncias contaminantes, rotulagem, classificação, métodos de amostragem e análise de riscos. Desde sua criação, o Codex gerou investigações científicas sobre os alimentos e contribuiu para que aumentasse, consideravelmente, a consciência da comunidade internacional acerca de temas fundamentais, como a qualidade e inocuidade dos alimentos e a saúde coletiva.

No final do ano de 1996, foi criado o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL). O PNMQL faz parte do Programa de Modernização do Setor Lácteo no Brasil. Este programa vinha sendo discutido desde 1992 quando chegou ao fim o tabelamento do preço do leite pelo Governo. Tal fato, acrescido de outros como criação do MERCOSUL, causou grandes modificações no setor, que procurou se adequar a nova realidade. O conceito de qualidade do leite até então pouco considerado no país, mas exigido nos países desenvolvidos e de tradicional produção leiteira, por ser essencial inclusive para exportação, passou a merecer destaque.

O objetivo do PNMQL é melhorar a qualidade do leite, para que a população possa consumir produtos lácteos mais seguros, mais nutritivos e mais saborosos, proporcionando aumento dos rendimentos dos produtores. Assim, torna-se importante produzir leite com qualidade. A higiene do animal, do ordenhador e das instalações são ações necessárias para atingir esse objetivo. A produção de leite de qualidade beneficia os produtores à medida que se reduz a existência de doenças, resultando em maior produção de leite e custos menores (DÜRR, 2005)

Com este objetivo o governo brasileiro, sob orientação e coordenação do MAPA aprovou regulamentação para o controle e a melhoria da qualidade do leite. Foram formuladas a Instrução Normativa nº 51 de 18 de Setembro de 2002 e a Portaria nº 78 de 3 de Junho de 1998 que regulamentou os programas de qualidade e o controle de resíduos em leite.

A qualidade do leite depende da genética, da alimentação e principalmente do estado de saúde dos animais. Diversos autores demonstraram que a inflamação da glândula mamária (mastite) é responsável por alterações na composição do leite, muitas vezes tornando o produto impróprio para consumo (SANTOS,2003). Além disso, o uso de medicamentos no tratamento da mastite favorece a presença de resíduos de medicamentos (COSTA et al.,1999;RAIA, 2001).

Conforme Santos & Fonseca (2002), para que o leite seja considerado de boa qualidade, há necessidade de atender, pelo menos quatro critérios: ausência de agentes patogênicos e contaminantes (resíduos de antimicrobianos, pesticidas e substâncias estranhas ao leite); baixa carga microbiana; sabor agradável e alto valor nutritivo.

Ainda, que nas décadas de 40-50 teve início o uso de antimicrobianos, na produção leiteira, com o objetivo principal de tratamento e prevenção da mastite bovina. Desde então, um dos principais problemas, encontrados na indústria de laticínios, é a presença de resíduos de antimicrobianos no leite, o que resulta, além de potenciais riscos à saúde do consumidor, em efeito inibitório sobre o crescimento de culturas lácteas empregadas na fabricação de queijos e outros produtos fermentados. Para evitar esses problemas basta, respeitar o prazo mínimo de carência estabelecido pelo fabricante do medicamento, que vem descrito na bula. Esse prazo depende do tipo de medicamento utilizado e o regime de tratamento adotado.

4.2 Mastite

A mastite é o processo inflamatório da glândula mamária que afeta, qualitativa e quantitativamente, a produção de leite. Observa-se um menor teor de lactose, caseína, gordura, cálcio e fósforo e um aumento nas células somáticas, imunoglobulinas, cloretos e lípases. Com estas alterações, o leite torna-se inadequado para o consumo e para a produção de derivados (COSTA,1998;SANTOS,2003).

A doença geralmente é classificada em duas formas: clínica na qual o diagnóstico pode ser feito pela detecção de alterações visíveis ou palpação da glândula e subclínica quando é essencialmente diagnosticada pela determinação das células somáticas e/ou cultura bacteriana. (SHITANDI; GATHONI,2004).

Na mastite clínica os sinais da doença são evidentes nos tetos e no úbere (inchaço, aumento de temperatura, endurecimento, dor) ou no leite (presença de coágulos, grumos, flocos, aspecto aguado, com ou sem presença de sangue ou pus). Essas alterações são detectadas quando se ordenha os primeiros jatos de leite de cada quarto mamário sobre uma caneca de fundo telado ou escuro (LEITE DPA, 2005).

A mastite subclínica causa alterações no leite que não são visíveis a olho nu como o aumento na Contagem de Células Somáticas, aumento nos teores de cloro, sódio e proteínas séricas, e diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura do leite. Essas características só podem ser avaliadas por meio de testes auxiliares como o “California Mastitis Test” (CMT), o “Wisconsin Mastitis Test” (WMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) (LEITE DPA, 2005).

Os testes de triagem de mastite são utilizados como guia auxiliar na decisão de tratamento (SHITANDI; GATHONI,2004).

Em levantamento realizado nos estados de São Paulo e Minas Gerais, o índice de prevalência de mastite clínica foi de 17,45% e de 46% para a mastite subclínica. De todos os animais examinados, 72% apresentaram pelo menos um quarto afetado (COSTA et al., 1995).

Segundo Costa (1991), a mastite pode ter origem fisiológica, traumática, alérgica, metabólica ou infecciosa. Assume maior importância a mastite de origem infecciosa, que, em muitos casos, pode acarretar perda da atividade funcional da glândula, quando não forem instituídas medidas de controle e tratamento imediato, além de representar importante problema de saúde coletiva.

Diversos micro-organismos podem ser considerados agentes etiológicos de mastite, tais como as bactérias, os protozoários, os vírus, os fungos filamentosos, as leveduras e as algas. Fatores anatômicos, fisiológicos, metabólicos, ambientais e de manejo podem também

interferir, dificultando com isso, o tratamento e controle. Dentre os agentes etiológicos, as bactérias ocorrem com maior frequência, constituindo cerca de 80 a 90% dos casos, dentre as quais as mais comuns são: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus ssp*, *Staphylococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium spp.*, *Escherichia coli*, *Nocardis ssp*, *Protoheca zopfii*, entre outras (COSTA et al.,1997; COSTA,1998; COSTA et al. 2000). Dentre estas, destacam-se as espécies do gênero *Staphylococcus*.

No Brasil, Brabes et al.(1999), caracterizaram as espécies bacterianas isoladas de mastite. Foram estudadas estirpes provenientes de amostras de leite de animais com mastite clínica e subclínica nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Das 127 estirpes estudadas, as espécies mais encontradas foram *Staphylococcus aureus* (39%), *S. chromogenes* (11%), *S. scuri* (9%), *S. simulans* (7%), *S. hyicus* (6%), *S. xylosus* (5%), *S. warneri* (2%), *S. epidermidis* (0,78%), *S. hominis* (0,78%), *S. caprae* (0,78%), *S. saprophyticus* (0,78%), sendo que destas, 16 apresentaram produção de enterotoxinas. A capacidade destas de sintetizar enterotoxinas representa na atualidade um sério problema à saúde coletiva.

Mc Ewen et al. (1991) obtiveram que a ocorrência de resíduo no leite, estava associada com um aumento na frequência de tratamento de vacas em lactação, com antimicrobianos por via intramamária, indicando que proprietários devem ter um cuidado extra, quando tratar as vacas por esta via. Muitos proprietários, segundo os autores no estudo referido, usavam antimicrobiano intramamário, quando achavam necessário, sem nenhuma orientação direta do veterinário.

Raia & Costa (2001) avaliaram 60 amostras de tanques resfriadores de diferentes propriedades leiteiras, as amostras que apresentaram alta percentagem de mastite clínica foram relacionadas com a detecção de resíduo de antimicrobianos no leite, reforçando ser a ocorrência de mastite clínica um fator predisponente importante para a presença de resíduos no leite de tanques resfriadores das propriedades.

Se a mastite é um problema, o seu controle através do uso de antimicrobianos impõe outro desafio para a manutenção da qualidade do leite: o resíduo de antimicrobianos no produto. A contaminação do leite e, conseqüentemente, dos produtos lácteos por antimicrobianos, deve-se principalmente ao tratamento de vacas em lactação com problemas de mastite ou ao tratamento durante o período seco, para controlar a mastite (GIGANTE, 2004).

A presença de resíduo do antimicrobiano no leite constitui um problema por duas razões principais: primeiro, porque é um problema de saúde pública; segundo, porque mesmo em baixos níveis pode afetar o comportamento e atividade das culturas lácticas, causando perdas consideráveis para a qualidade dos produtos e para a indústria laticinista (GIGANTE, 2004).

Uma vez que o leite contaminado com resíduo de antimicrobiano dê entrada na indústria, praticamente nada pode ser feito para evitar sua presença no leite fluido ou nos produtos lácteos. Os tratamentos usuais aos quais o leite é submetido, como filtração, resfriamento e tratamento térmico na faixa de 72-75°C por 15 a 20 segundos, têm pouca ou nenhuma influência sobre o conteúdo de antimicrobianos. Mesmo o tratamento UHT a 130-140°C por 2 a 4 segundos não é suficiente para destruir 100% dos antimicrobianos (GIGANTE, 2004).

Dessa forma, através do consumo de leite fluido, o resíduo de antimicrobiano chega à mesa do consumidor e constitui um problema de saúde pública, cujos aspectos toxicológicos, microbiológicos e de desenvolvimento de reações de hipersensibilidade são de grande importância (GIGANTE, 2004).

4.3 Antimicrobianos

Os antimicrobianos são substâncias químicas inespecíficas ou específicas que atuam sobre os micro-organismos em geral, quer sejam eles patogênicos ou não. Pertencem ao primeiro grupo os desinfetantes e anti-sépticos, ao segundo, os quimioterápicos e antimicrobianos (SPINOSA, 2002).

Os quimioterápicos são substâncias sintetizadas em laboratório e, antimicrobianos são substâncias produzidas parcial ou totalmente por seres vivos, em sua maioria fungos do gênero *Streptomyces* e alguns do gênero *Penicillium* e *Cephalosporium* (ALTERTHUM, 1999). Porém, na prática, esta distinção nem sempre é observada (TORTORRA et al., 2000).

Os antimicrobianos possuem ação bacteriostática ou bactericida, fungistática ou fungicida (ENGLERT, 1982; BRASIL, 1999) e são importantes fármacos utilizados em animais destinados à produção de alimentos, com a finalidade terapêutica, profilática ou como promotores de crescimento (CANABRAVA et al., 2002; STILWELL & GONÇALVES, 2002).

O uso de antimicrobianos em animais sempre acompanhou o desenvolvimento e a utilização destes em medicina humana. Na década de 50, descobriu-se seu uso como aditivo alimentar, aumentando o crescimento animal e a eficiência produtiva (MITCHELL et al., 1998). Só nos Estados Unidos, quase uma centena de quimioterápicos, com predomínio de antimicrobianos, são utilizados na produção animal, principalmente em aves. No Brasil esse número não é muito menor (MÍDIO, 2000).

Os antimicrobianos mais comumente utilizados em animais de produção podem ser divididos em cinco classes incluindo os β -lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas), as tetraciclina (oxitetraciclina, tetraciclina e clortetraciclina), os aminoglicosídeos (estreptomicina, neomicina e gentamicina), os macrolídeos (eritromicina) e as sulfonamidas (sulfametazina) (MITCHELL et al., 1998).

Em relação às estirpes multi-resistentes desenvolvidas no Brasil, tem-se observado uma preocupação com o uso indiscriminado e indevido de antimicrobianos na terapia de infecções intramamárias bovinas, causadas por coliformes e outros agentes (COSTA et al., 2000; GARINO Jr et al., 2000)

Um agravante destacado por Garino Jr. et al (2000) é que os sorogrupos de EPEC, com resistência múltipla elevada a antimicrobianos, foram isolados de mastites subclínicas, o que representa risco à saúde coletiva, pois o leite de casos subclínicos de mastite, por não apresentar alterações visíveis, é muitas vezes comercializado para consumo humano, principalmente pela venda informal.

Sob ponto de vista de alimento seguro e o Programa da FAO, é importante salientar que, para determinados antimicrobianos, a ingestão diária admissível (IDA) é relativamente elevada, de maneira que a concentração encontrada em produtos de origem

animal, na maioria dos casos, está abaixo da concentração estabelecida. Portanto, a toxicidade destes resíduos é relativa, sendo mais importante os problemas microbiológicos que podem ocasionar. Quanto aos antimicrobianos, que podem causar efeitos tóxicos graves na população, como nitrofuranos, possíveis mutagênicos, ou o cloranfenicol, causador de anemias graves, e que tem seu uso proibido em animais destinados à produção de alimentos, inclusive no Brasil (Portaria Ministerial n.º 448, de 10/09/1998) e seus resíduos, são inaceitáveis sob o ponto de vista toxicológicos (TETZNER & BENEDETTI, 2005)

4.4 Tratamento da Mastite Bovina

Antimicrobianos são largamente utilizados no manejo do gado leiteiro para o tratamento de doenças e como suplementos alimentares. Eles podem ser administrados oralmente como aditivos alimentares ou diretamente por injeção. O uso de antimicrobianos pode resultar em resíduos desses fármacos no leite, especialmente se eles não são usados de acordo com as instruções do fabricante.

Cerca de 87% do emprego dos antimicrobianos em medicina veterinária, são para fins de tratamento, controle e prevenção. Outros 13% são usados para o aumento da eficácia nutricional, com o ganho de peso como indicador de resposta ao uso do antimicrobiano. Essa prática é proibida no Brasil e em muitos outros países.(GRANJA,2004)

Dos antimicrobianos empregados na produção animal, 47% são de uso exclusivo em medicina veterinária e somente poderão ser usados depois de aprovados por órgãos oficiais. A aprovação depende da apresentação de resultados de estudos quanto à dose, duração e carência do tratamento na espécie de interesse.(GRANJA,2004)

Ao se abordar a questão da presença de resíduos no leite, é importante que se diferencie corretamente os termos “antimicrobianos” e “resíduos de antimicrobianos”. Spinosa et al. (1999) definiram antimicrobianos, sob o aspecto farmacológico, como substâncias químicas (medicamentos) produzidas por alguns micro-organismos ou seus equivalentes sintéticos capazes de, em pequenas doses, inibir o crescimento (bacteriostáticos, fungistáticos etc.) ou destruir (bactericidas, fungicidas) micro-organismos causadores de doenças. Brandão (2002) e Alvim (2005) propuseram definir antimicrobianos como inibidores específicos de sistemas enzimáticos de estruturas celulares vitais para a sobrevivência de micro-organismos, enquanto “resíduos de antimicrobianos” como compostos bioativos que restam nos animais devido ao seu uso terapêutico, podendo causar ações biológicas nos seres humanos consumidores de produtos de origem animal.

A quantidade de resíduo de antimicrobiano excretada no leite varia entre os diferentes indivíduos, consoante à quantidade de leite que a vaca produz e o excipiente de preparação utilizado. A administração de doses elevadas e a produção de quantidades escassas de leite determinam largas permanências de antimicrobianos no úbere (GRANJA,2004).

Em um programa básico de controle da mastite, recomenda-se que vacas que apresentem mastite clínica devem ser tratadas imediatamente, e que todas as vacas devem ser tratadas durante o período seco. Nesse caso, com o uso de antimicrobiano, o leite do animal tratado somente poderá ser destinado à alimentação humana após o prazo mínimo de carência estabelecido pelo fabricante na bula. Esse prazo depende do tipo de medicamento utilizado e regime de tratamento adotado (FONSECA & SANTOS, 2000).

Em relação à utilização de associações no tratamento de mastite bovina há posições conflitantes. Assim, apesar da base teórica para o uso destas ser a ampliação de espectro e a ação sinérgica contra certos micro-organismos, alguns autores argumentam que, não foi devidamente comprovada em protocolos clínicos de tratamento de mastite bovina, a superioridade da formulação betalactâmicos associados aos aminoglicosídeos (TAPONEN et al.,2003). Nos Estados Unidos as associações deste tipo foram retiradas do mercado há alguns anos, devido às restrições impostas pela “Food and Drug Administration”. Entretanto, na União Européia e em vários países as associações são amplamente utilizadas no tratamento de mastite.

O processo inflamatório da glândula mamária aumenta o risco da presença de resíduos de antimicrobianos no leite, podendo inclusive, determinar períodos de eliminação além daqueles estabelecidos nas bulas dos medicamentos (RAIA et al., 1999; RAIA et al., 2003).

É imprescindível, então, descartar o leite durante o tratamento das vacas em lactação, seguindo rigorosamente os prazos prescritos nas bulas de cada medicamento (LEITE DPA, 2005).



Figura1. Aplicação de antimicrobiano para o tratamento da mastite pela via intra-mamária.

4.5 Aminoglicosídeos no Tratamento da Mastite Bovina

Na medicina veterinária, os aminoglicosídeos são amplamente utilizados no tratamento de infecções bacterianas, como nas enterites e mastites. Os mais comumente usados como agentes terapêuticos são: gentamicina, neomicina, diidroestreptomicina e estreptomicina (TAPONEN et al.,2003).

Os aminoglicosídeos estão entre os medicamentos mais utilizados para o tratamento de mastite, sendo também encontrados associados aos betalactâmicos na composição de muitos dos medicamentos disponíveis no comércio. Vários trabalhos avaliaram a utilização dos aminoglicosídeos no tratamento de mastite bovina (LANGONI et al. 2000;).

Entre os aminoglicosídeos utilizados no tratamento da mastite destaca-se a gentamicina. Como se verifica pelos dados apresentados na Tabela 1, o limite máximo para este aminoglicosídeo no leite varia acentuadamente, sendo para União Européia (EU) o FDA admite o máximo de 100 ppb, para os Estados Unidos o FDA admite o máximo de 30 ppb e no Brasil não há informação, com relação a diidroestreptomicina e neomicina, os limites são de 125 e 150 ppb respectivamente.

Tabela 1. Limite máximo permitido de resíduos de antimicrobianos no leite ($\mu\text{g/Kg}$), de acordo com a Comissão do *Codex Alimentarius* (CODEX), “Food and Drug Administration” (EUA), União Européia e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Substância	Codex LMR ($\mu\text{g/Kg}$)	EUA/FDA Tolerância ($\mu\text{g/Kg}$)	EU LMR ($\mu\text{g/Kg}$)	Brasil ¹ LMR ($\mu\text{g/Kg}$)
Penicilina G	4	5	4	4
Ampicilina	-	10	4	4
Amoxilina	-	10	4	4
Oxacilina	-	-	30	-
Cloxacilina	-	10	30	-
Diocloxacilina	-	-	30	-
Penetamato	-	-	4	-
Ceftiofur	100	50	100	100
Cefquinone	-	-	20	-
Cefapirina	-	20	-	-
Etraciclina	100	80	100	100
Clortetraciclina	100	30	100	100
Oxitetraciclina	100	30	100	100
Espiramicina	-	-	200	200
Tylosina	-	50	50	-
Eritromicina	-	50	40	40
Espectinomicina	200	30	200	-
DH/Estreptomicina	200	150	200	-
Gentamicina	200	30	100	-
Neomicina	500	150	500	500
Sulfonamidas	-	-	100	-
Sulfadimidina	25	10	-	-
Sulfadimetoxina	-	10	-	100
Sulfametazina	-	10	-	-
Sulfatiazol	-	10	-	100
Sulfadiazina	-	10	-	-
Trimetoprim	-	-	50	-
Furazolidona	-	-	-	-
Ronidazol	-	-	-	-
Cloranfenicol	0	0	0	-
Novobiocina	-	100	-	-

¹Programa de Controle de Resíduos em Leite; PCRL/2000, Instrução Normativa nº 42 de 20 de Dezembro de 1999.

Fonte: BRITO,2003.

Costa et al.(1996), avaliaram,em protocolo de campo, que englobou 154 vacas com mastite, num total de 214 quartos, a utilização de gentamicina por via intramamária obtendo-se cura de 83,9%.Neste mesmo trabalho foram avaliados tratamentos com cefacetril (betalactâmico) com 80,8% de cura, também foi realizado o tratamento a base de enzimas sem a inclusão de antimicrobianos, com resultados de 68% de cura.

Apesar da ciência terapêutica comprovada, alguns aminoglicosídeos podem determinar persistência prolongada de resíduos em animais tratados (ZIV,1980).

Há uma preocupação sobre resíduos de aminoglicosídeos desde que estes foram apontados como causadores de dano aos rins e aos nervos cranianos, levando a uma perda de audição.

4.6 Betalactâmicos no Tratamento da Mastite Bovina

Os antimicrobianos β -lactâmicos são representados pelas penicilinas e cefalosporinas. Apresentam estrutura β -lactâmico condensada, grupo carboxílico livre e um ou mais grupo amino substituído na cadeia lateral. São os antimicrobianos mais utilizados em veterinária e de grande emprego na quimioterapia humana (MÍDIO, 2000).

Uma grande variedade de betalactâmicos é utilizada em vacas leiteiras. Os mais empregados no tratamento de doenças em vacas em lactação são: penicilinas, ceftiofur, cloxacilina, cefapirina, cefacetil, amoxicilina e ampicilina (COSTA 2002).

Muito embora, como se observa pelos dados da literatura, os betalactâmicos constituem importante ferramenta, o uso inadequado pode causar resíduo no leite, aumentando o risco de seleção de estirpes resistentes. A prevalência de resistência para cefalosporinas em estirpes patogênicas de *Escherichia coli*, foi descrita por Garino Jr et al. (2000).

Os antimicrobianos do grupo beta lactâmicos (penicilinas) são os antimicrobianos mais administrados às vacas de leite. Estima-se que aproximadamente 10% das pessoas são alérgicas às penicilinas e aos seus metabólitos (WEAVER, 1992).

Considerando-se a alta porcentagem de pessoas alérgicas à penicilina e seu amplo uso nas propriedades leiteiras, os resíduos de penicilina constituem a maior preocupação, com relação aos riscos oferecidos aos humanos (LARANJA & MACHADO, 1994).

Em relação ao uso de associações, vários estudos foram conduzidos em protocolos de campo com penicilinas no tratamento de mastite clínica e subclínica, comparando com associação de penicilinas e aminoglicosídeos, nenhum desses estudos demonstrou qualquer vantagem da associação sobre o uso do betalactâmico isoladamente (TAPONEN et al., 2003). Taponen et al. (2003) concluíram que nesses casos dever-se-ia evitar a utilização da associação, reduzindo o risco de resistência a ambos grupos de antimicrobianos.

Autores como Whittem & Hanlon (1997) e Osteras et al. (1999) ressaltaram que o uso desnecessário de associação de antimicrobianos pode contribuir para o aumento da pressão seletiva de estirpes resistentes e, portanto, deve ser sempre avaliado criteriosamente.

Taponen et al. (2003) realizaram um estudo de campo para comparar a estatística do tratamento intramamário somente com penicilina G ou uma combinação de penicilina G e neomicina em mastite clínica bovina causada por bactéria Gram positiva. Estes pesquisadores sugerem evitar o uso da associação de betalactâmico com aminoglicosídeos para diminuir o risco de resíduo no leite, pois os aminoglicosídeos se ligam aos tecidos e favorecem a persistência de resíduos por longos períodos

Na mastite a absorção do medicamento pode ser aumentada devido à alteração na integridade da barreira entre o sangue e o leite e a persistência do fármaco pode ser prolongada. Resíduos de aminoglicosídeos foram encontrados nos rins de vacas com mastite até 60 horas após aplicação intramamária (ZIV, 1980).

4.7 Cloranfenicol

É um antimicrobiano de amplo espectro utilizado para o tratamento de uma variedade de organismos patogênicos.

O cloranfenicol é responsável por causar anemia aplástica em um pequeno percentual de pessoas expostas a este fármaco, não possuindo assim o uso aprovado pelo FDA para produtos de origem animal.

4.8 Tetraciclina

As tetraciclina são largamente utilizadas para o tratamento da mastite bovina e tem seu uso também na alimentação do rebanho, em doses subterapêuticas, como profilaxia.

O FDA determinou os níveis para resíduos de clortetraciclina, oxitetraciclina e tetraciclina como 30,30 e 80 ng/mL.

4.9 Quiolonas

Estes compostos são altamente ativos contra bactérias Gram positivas, Gram negativas e micobactérias (SCHROEDER, 1989, USP, 2000), embora cada vez mais estejam aparecendo estirpes bacterianas resistentes.

As quiolonas são compostos amplamente utilizados na medicina humana, e em veterinária. Em medicina veterinária, são comumente utilizadas para tratar e/ou evitar infecções respiratórias, do trato urinário e gastrointestinal.

A utilização de quiolonas tem sido associada ao aparecimento de estirpes bacterianas de *Salmonella* sp. e *Campylobacter* sp. resistentes (LOVINE & BLASER 2004).

Devido ao alto metabolismo da enrofloxacina à ciprofloxacina em algumas espécies animais, o LMR para a enrofloxacina é definido como a soma de ambos os compostos (enrofloxacina + ciprofloxacina) e ela está entre 100 e 300 mg / kg, dependendo do tecido alvo (muscular, tecido adiposo, fígado, rim e leite) e de espécies animais (Anexo I do Regulamento 2377/90/CE, Regulamento 1181/2002/CE).

Quadro1. Estrutura química das quinolonas.

Nome da quinolona	R ₁	R ₂	R ₃	X
Ácido nalidixico	C ₂ H ₅	H	CH ₃	N
Ciprofloxacino(CPR)		F		C
Danofloxacino (DAN)		F		C
Difloxacino (DIF)		F		C
Enrofloxacino (ENR)		F		C
Marbofloxacino (MAR)		F		C
Sarafloxacino (SAR)		F		C

4.10 Sulfonamidas

Em medicina veterinária são amplamente utilizadas. As sulfonamidas são comumente utilizadas para tratar e/ou evitar Actinobacilose como infecções agudas, coccidiose, mastites, metrites, infecções respiratórias e toxoplasmose.

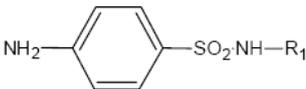
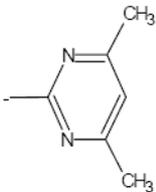
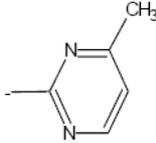
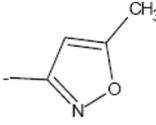
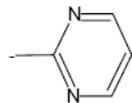
O LMR fixado em 100 mg/kg, para todas as substâncias pertencentes a este grupo compostos em diferentes tecidos-alvo (músculo, tecido adiposo, fígado, rim e leite) (Anexo I do Regulamento 2377/90/CE e Regulamento 508/1999/CE).

Apesar dos controles efetuados, as sulfonamidas têm sido ainda utilizadas com frequência, mesmo sem cumprir o período de retirada (aproximadamente 28 dias na carne). Prova disso são os resultados do Plano Nacional de Resíduos de 2002, na qual 26 notificações de LMR superação acima de 50% foram devidas a presença de substâncias pertencentes a essa família de compostos (COMISSÃO EUROPEIA, 2002).

As sulfonamidas estão ativas contra um amplo espectro de bactérias, embora atualmente muitas estirpes bacterianas desenvolveram mecanismos de resistência, como

resultado de mais de cinquenta anos de uso. Estes compostos atuam preferencialmente sobre Gram negativas e têm um efeito significativo contra alguns patógenos anaeróbios como *Clostridium* spp., mas também mostram um ligeiro efeito sobre alguns protozoários como o *Plasmodium* spp. e *Toxoplasma* spp. e em algumas Chlamydia e Micobactérias (FLÓREZ, 1997).

Quadro 2. Estrutura química das sulfonamidas.

Estrutura Química da Sulfonamida		
		
Nome	Nome químico	R1
Sulfametacina (SMZ)	N'-(4,6-dimetil-2-pirimidinil)sulfanilamida	
Sulfameracina (SMR)	N'-(4-metil-2-pirimidinil)sulfanilamida	
Sulfametoxazol	N'-(5-metil-3-isoxazolil)sulfanilamida	
Sulfacetamida	N-sulfacetamida	_COCH3
Sulfadiazina (SDZ)	N'-2-pirimidinil)sulfanilamida	

4.11 Qualidade do Leite

O controle de qualidade é a manutenção dos produtos e serviços dentro dos níveis de tolerância aceitáveis para o consumidor, ou comprador. Desse modo, para avaliar a qualidade de um produto alimentar, deve ser mensurado o grau em que o produto satisfaz os requisitos específicos, sendo que esses níveis de tolerância e requisitos expressam-se por meio de normas, padrões e especificações (COSBY, 1990).

Tradicionalmente, é atribuída à inspeção sanitária a prevenção e controle de Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA). As inspeções, porém, nem sempre podem ser realizadas com a frequência e com o cuidado suficientes para garantirem um grau satisfatório de segurança sanitária do alimento (IAMFES, 1997).

Um dos requerimentos atuais da sociedade é a disponibilidade de alimentos seguros, saudáveis e nutritivos de todos os segmentos das redes de empresas, dos estabelecimentos produtores, das organizações, dos aparelhos reguladores do Estado e instituições que constituem a cadeia produtiva do leite. O direcionamento da pesquisa e da transferência de tecnologias para que tais demandas sejam atendidas é compromisso institucional e social inquestionável (BRESSAN & MARTINS, 2004).

Pela necessidade de aperfeiçoar processos específicos, tem-se buscado novos sistemas de gerenciamento que permitam produzir alimentos mais seguros, e, conseqüentemente, de melhor qualidade. Os mecanismos utilizados são os programas de qualidade, os quais mostram ser possível melhorar os seus produtos e aumentar a produtividade, e as técnicas utilizadas são de fácil assimilação. Porém, não se consegue resultados duradouros se não houver verdadeiro comprometimento dos envolvidos no processo. A necessidade de melhorar, sempre, deve ser cultural (BORGES et al., 1998).

Para garantir a qualidade dos produtos, há necessidade de um sistema de melhoria contínua que precisa de mecanismos de controle efetivo que a garanta (VIALTA, 2002). O grande objetivo dos programas de qualidade e produtividade é a melhoria contínua que, é a transição para um melhor estado ou condição, normalmente, gerando vantagens. A melhoria contínua deve ser um procedimento normal e enraizado na cultura organizacional, de forma que isso não seja uma exceção, mas sim, uma forma rotineira e integrada a qualquer processo (WEBSTER, 2001).

Destaca-se então a atuação da tecnologia de alimentos, que cada vez mais tem adaptado o leite de outras espécies às necessidades do ser humano, criando produtos para cada idade e para cada fase da vida. A única exceção fica por conta do leite materno, que não necessita de nenhuma tecnologia ou ciência para ser o melhor leite para a criança nos dois primeiros anos de vida (CTENA & PIROLI, 1999).

Melhorar continuamente um processo significa reestruturar continuamente seus padrões. Cada melhoria corresponde ao estabelecimento de um novo nível de controle que é a fase de replanejamento e reprogramação de novas atividades a partir dos resultados alcançados pelo atual patamar de padronização da organização (TACHIZAWA & SCAICO, 1997).

A indústria de alimentos tem grande preocupação com a qualidade, pois esta é uma exigência crescente no mercado consumidor. A qualidade na indústria de alimentos, está

diretamente ligada ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC (TRONCO,1997).

O conceito do sistema APPCC teve origem na década de 50, em setores relacionados à indústria química da Grã-Bretanha. Nas décadas de 50,60 e 70 foi utilizado pela Comissão Americana de Energia Atômica. Ao final dos anos 60, a “National Aeronautics and Space Administration” (NASA) sugeriu que o sistema APPCC fosse utilizado para a produção de alimentos seguros, diminuindo a probabilidade de ocorrência de doenças de origem alimentar nos tripulantes dos vôos espaciais (BRYAN,1981). Assim, utilizando conceito que analisa simultaneamente princípios de microbiologia dos alimentos, controle de qualidade e a avaliação de risco para obtenção de um alimento seguro, desenvolveu-se o Sistema APPCC, aplicado à qualidade do leite (BRYAN,1981)

A qualidade do leite é um compromisso ético da cadeia produtiva com os consumidores de lácteos, sendo uma necessidade real e não mais uma opção, diante do mercado globalizado. Se o setor perceber a oportunidade que tem nas mãos (IN 51) pode dar um salto na melhoria da qualidade do leite semelhante ao que ocorrer com a produção, pois o efetivo uso de informações sobre o negócio permite a otimização do uso de recursos e a definição de metas e indicadores de desempenhos compatíveis com o momento vivido pela cadeia produtiva (DÜRR, 2005).

Em relação a qualidade do leite, alguns fatores que levam a alteração na sua composição química tais como raça, idade e alimentação do animal, estágio de lactação, variações climáticas, ou ainda infecções do úbere da vaca (OLIVEIRA & CARUSO, 1984).

As infecções no úbere, mesmo que subclínicas, influenciam grandemente a composição do leite, sendo que o principal efeito é o abaixamento da concentração de gordura, lactose e caseína, e aumento no conteúdo de proteínas do soro e cloretos. Estados mais avançados de infecção resultam em um leite com composição química diferente da normal. A mastite bovina é uma doença multifatorial, de etiologia complexa e variada, e se encontra disseminada em todas as regiões produtoras de leite. A maioria das infecções tem origem bacteriana, predominando o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* (PELCZAR et al., 1996).

Em função dessas infecções, os antimicrobianos têm sido bastante utilizados nos estabelecimentos produtores e até em muitos casos, de maneira indiscriminada, seja para fins terapêuticos, principalmente visando a cura de mamites, ou ainda incorporados à alimentação animal como suplemento dietético, atuando de forma preventiva. Tais procedimentos conduzem à presença de resíduos de antimicrobianos, representando um risco ao consumidor e sendo portanto, um sério problema na área econômica e de saúde coletiva. A presença de resíduos de antimicrobianos como consequência de tratamentos terapêuticos aplicados no animal em lactação, principalmente no combate às doenças infecciosas da glândula mamária é portanto, uma fonte indireta de contaminação do produto. A contaminação direta ocorre quando há adulteração com objetivo de prolongar o tempo de vida útil do leite O abuso de medicamentos veterinários, especialmente nos países onde o seu emprego não é controlado rigorosamente, poderia ser corrigido através de orientações aos manipuladores, informações suficientes e exatas aos usuários, veiculadas por cooperativas e centros de apoio técnico governamentais. A difusão de boas práticas veterinárias e agrícolas levaria a uma redução dos níveis destas substâncias, deixando de ser motivo de preocupação pública. No Brasil, não há uma política de longo prazo de organizar, e principalmente, manter a estrutura adequada para

o controle do uso de medicamentos veterinários (MINIUSI, 1992). Segundo Brito et al. (1997), o sucesso desses programas depende de mudanças de atitude e de manejo, em que o produtor e os funcionários desempenham um papel primordial.

Segundo Benedetti & Pedroso (1996) a obtenção higiênica do leite preservando a saúde do úbere, ainda constitui um sério problema na maioria das granjas leiteiras. A adoção de novas ordenhadeiras, modernos estábulos e/ou salas de ordenha, alimentação diversificada, podem ter alterado o quadro etiológico responsável pelas mastites, como também pelos mecanismos biológicos inerentes ao animal. Estes mesmos autores citaram que o tipo de construção mostrou-se significativo no aumento da mastite, como também a variável cria ao pé (lactente direto na mãe), pois levaram a um maior tempo de ordenha. Maiores relações homem/vaca/hora, rebanhos mais especializados para obtenção de leite e instalações mais adequadas, favoreceram menores índices de mastite.

Segundo Brito & Charles (1995) o emprego de antimicrobianos para tratamento de mastite no Brasil resultou na seleção e proliferação de amostras resistentes, à semelhança do que aconteceu em outros países. Do ponto de vista tecnológico, o problema é relacionado à extrema sensibilidade aos antimicrobianos dos micro-organismos usados para a obtenção dos derivados do leite. O leite que contém resíduos de antimicrobianos impede o desenvolvimento desses micro-organismos e, conseqüentemente, a produção desses derivados é prejudicada.

As pesquisas realizadas por Costa et al. (1999), Raia et al.(1999) e Raia, (2001) constataram a presença de resíduos de medicamentos veterinários em período superior ao recomendado pela indústria farmacêutica para o descarte do leite após tratamento do quarto da glândula mamária ou do animal. Alguns fatores que podem contribuir para uma maior persistência destes resíduos no leite têm sido avaliados por pesquisadores nacionais e estrangeiros (MITCHELL et al.,1998; COSTA,2002).

Coelho (2003) constatou que antimicrobianos de quartos mamários não tratados de disposição anatômica diagonal, ipso, contra-laterais aos quartos com mastite tratados por via intramamária ou melhor, após tratamento de um dos quartos detectou-se resíduo em quartos não tratados de um mesmo animal.

4.12 Legislação Brasileira Direcionada à Qualidade do Leite

A legislação de alimentos teve início com as primeiras civilizações e incluía a proibição de consumo da carne de animais que morriam de outras causas que não o seu abate. Existem vários regulamentos alimentares que recomendam a utilização dos alimentos através da história, desde a Idade Média e Revolução Industrial até os séculos XIX e XX. Com o estabelecimento das legislações modernas nas nações desenvolvidas geralmente com implicações internacionais os regulamentos para a produção e transformação do leite tornaram-se mais rigorosos (ICMSF, 1997).

Em relação ao controle de resíduos biológicos, o Ministério da Agricultura, através da Portaria nº51, de 06 de Fevereiro de 1986, Instituiu o Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal – PNCRB, com a finalidade de sistematizar os meios de controle da contaminação desses produtos por resíduos de compostos de uso na agropecuária, bem como de poluentes ambientais. Posteriormente, pela Portaria Ministerial nº527, de 15 de Agosto de 1995, procedeu-se a definição deste Plano prevendo a adoção de

programas setoriais de acordo com as Portarias nº110 para carne nº71 para mel, nº72 para leite e nº73 para pescado. (BRASIL,1998).

O PNMQL, foi criado com o objetivo de possibilitar avanços no setor lácteo brasileiro o que envolve pontos críticos de ordem social e econômica. O programa está baseado nos seguintes parâmetros: implantação do resfriamento/granelização no estabelecimento e de limites gradativa da contaminação do leite por micro-organismos, redução do número de células somáticas por mililitro de leite e ausência de resíduos de antimicrobianos. A globalização exige que sejam adotadas, de imediato, medidas que permitam inserir a produção leiteira brasileira no mercado internacional. Por outro lado, o impacto da implementação destas medidas provoca muita preocupação. É uma situação polêmica que envolve muitos interesses, muitas vezes, conflitantes que deverão ser harmonizadas. A melhoria do setor lácteo permitirá alcançar a modernização do agro-negócio leite e obtenção de produtos de qualidade internacional.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) juntamente com vários atores do governo e da sociedade civil, em 2002, instituiu o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet), no qual critérios foram estabelecidos e o leite bovino foi selecionado como a primeira matriz de análise para a pesquisa de resíduos de medicamentos veterinários (BRASIL, 2005).

No exterior, há uma ampla disponibilidade de medicamentos aprovados para uso em vacas leiteiras com betalactâmicos. Os mais utilizados com esta finalidade são penicilina, ceftiofur, cloxacilina, cefapirina, cefacetil, amoxicilina e ampicilina. (PRESCOTT, et al.,1988). No Brasil esta situação é um pouco diferente, entre os produtos registrados no Ministério da Agricultura, para o tratamento de vacas leiteiras por via intramamária há grande ocorrência de aminoglicosídeos e associações

Na ausência de programas de controle, como no caso de muitos países de baixa renda, o uso de antimicrobianos em animais leiteiros leva a resíduos indesejáveis no leite com conseqüentes problemas para saúde coletiva e indústria leiteira (SHITANDI, GATHONI,2004).

A eliminação dos riscos e o conseqüente controle das doenças veiculadas por alimentos de origem animal requerem a colaboração entre diversos setores, como saúde, serviços de inspeção, setor da educação, agroindústrias, comerciantes, consumidores, meios de comunicação e setores políticos. A justificativa é sua importância em saúde coletiva, já que as infecções, intoxicações alimentares e outras doenças, agudas ou crônicas, além de reduzirem grandemente a qualidade de vida, apresentam ônus econômico, ainda que não facilmente mensurável. Os prejuízos podem ser estimados levando-se em consideração o decréscimo da produtividade, o absenteísmo, assim como os custos diretos ou indiretos de tratamentos médicos, não raramente, com necessidade de hospitalização, além das perdas no setor de produção pecuária. As denúncias de contaminação e a baixa qualidade de muitos produtos preocupam os consumidores, de modo que inspecionar alimentos precisa ser sempre prioridade para as autoridades sanitárias. (MOURA et al.,2001)

4.13 Resíduos de Antimicrobianos

A presença de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos é uma preocupação mundial. Resíduos de antimicrobianos no leite decorrem principalmente do uso abusivo destes medicamentos ou da sua utilização de maneira inadequada: uso de medicamentos não recomendados e com farmacocinética não perfeitamente estabelecida, uso de doses excessivas e não obediência ao período de carência do leite de animais que apresentam uma prolongada retenção do medicamento e em casos em que ocorre a antecipação do parto (COSTA,1999;COSTA et al.,2000).

Resíduos são motivo de preocupação devido aos seus possíveis efeitos adversos em pessoas alérgicas aos antimicrobianos, o potencial de acúmulo de organismos resistentes aos antimicrobianos nos seres humanos, e inibição de arranque em culturas utilizadas para produzir produtos lácteos tais como iogurtes e queijos (MERCER, 1975; LINDEMAYR et al., 1981; JONES & SEYMOUR,1988).

Embora os resíduos antimicrobianos não possam reduzir significativamente as vendas do leite, custo e esforço consideráveis são necessários a partir de grupos públicos e produtores de leite para assegurar um produto seguro. De acordo com inquéritos realizados pelo FDA, o uso inadequado de antimicrobianos para controlar a mastite bovina é em grande parte responsável pela adulteração do leite ofertado (OUDERKIRK,1979). Um rigoroso programa de evasão de resíduo é essencial para prevenção destes no leite.

Kang'ethe et al.(2005) testaram 854 amostras de leite cru e 110 amostras de leite pasteurizado colhidos de diferentes locais, entre 1999 e 2000. Utilizaram testes de triagem específicos para betalacâmicos e tetraciclina e verificaram que as amostras de áreas rurais apresentaram uma proporção muito maior de resíduos de que as amostras colhidas em áreas urbanas, provavelmente pela diluição resultante da mistura do leite nos laticínios.

Barros et al. (2001) analisaram 26 amostras de leite pasteurizado tipo C, para laticínio de Minas Gerais. Um total de 11% das amostras continha níveis detectáveis de oxitetraciclina.

Rosário (2002) avaliou a ocorrência de resíduos de betalactâmicos e tetraciclina nos diferentes tipos de leite (A,C e UHT) comercializados no município de Pirassununga, SP. As amostras foram analisadas por testes analíticos qualitativos do tipo enzimático (IDEXX SNAP Test). Resíduos de tetraciclina foram encontrados em 6,25% a 8,69% e de betalactâmicos em 2,08% a 2,17% nos diferentes tipos de leite coletados.

Medeiros et al., (2004) avaliaram 30 amostras de leite in natura consumido no município de Patos (Paraíba), quanto a presença de resíduo de antimicrobianos. Foram utilizados testes imunoenzimáticos para betalactâmicos, tetraciclina e sulfonamidas e detectados resíduos em 43% das amostras.

Os resultados de Barros et al.,(2001), Denoblie (2002), Rosário (2002) e Medeiros et al. (2004) reforçam a importância de se orientar o produtor e técnicos sobre os principais fatores de risco, que podem contribuir para a ocorrência de resíduos no leite para consumo, pois em relação à presença destes, a existência de regulamentação não basta, é importante orientar o produtor, que deverá ser informado dos procedimentos para evitar que leite apresentando resíduos de antimicrobianos chegue à indústria e ao consumidor.

Um dos procedimentos para que seja evitada a presença de resíduos de antimicrobianos é a adoção de testes de triagem confiáveis, rápidos e práticos. Além disso, a fiscalização deverá dispor de meios e subsídios técnicos para avaliar a qualidade do leite. (COSTA et al., 1999; COSTA et al., 2000; RAIÁ, 2001; GIBONS-BURGENER et al., 2001; COELHO, 2003; FAGUNDES, 2004).

É grande o risco de ocorrência de resíduo além do período de carência após o tratamento sistêmico. Raia (2001) também detectou resíduos em amostras de leite de animais tratados por via intramamária, que ultrapassaram o período de carência recomendado em bula.

Após o tratamento intramamário, muitos fatores podem contribuir para a presença de resíduos de antimicrobianos no leite. Com a intenção de diminuir os prejuízos econômicos causados pelo tratamento de mastite, ainda é comum observar na prática, o descarte do leite apenas da glândula tratada por via intramamária. No entanto, também foi verificada a presença de resíduo nos quartos não tratados de animais por esta via (COSTA et al. 2000; COELHO, 2003)

Raia (2001) verificou que há influência do processo inflamatório no período de eliminação do antimicrobiano no leite. Observou, no mesmo estudo, que havia alta correlação ($r = 1$) entre o nível de ocorrência de mastite clínica e a presença de resíduo no leite armazenado em tanques resfriadores de propriedades leiteiras nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. O autor referiu que somente a informação do fabricante do medicamento quanto ao período de carência, algumas vezes, não é suficiente para garantir um leite livre de resíduo, sendo, portanto, importante à orientação aos produtores e veterinários sobre os procedimentos para evitar resíduos de antimicrobianos no leite.

Coelho (2003) verificou que do total de animais avaliados, 397 quartos de glândulas mamárias de 139 vacas holandesas em lactação, de cinco rebanhos brasileiros, 14,3% das amostras de leite de quartos não tratados apresentaram resíduos de antimicrobiano, independente do medicamento utilizado por via intramamária na glândula com mastite (betalactâmicos, aminoglicosídeos e associações de antimicrobianos). Deve-se referir ainda, que no mesmo estudo Coelho (2003) verificou resíduo em 7,5% dos 139 animais pesquisados nas três glândulas não tratadas, adjacentes à tratadas por via intramamária, utilizando teste microbiológico comercial (Delvotest). Este resultado é altamente significativo, uma vez que quanto maior o número de quartos resíduo-positivos, maior é o volume de leite contaminado e conseqüentemente mais elevado será o risco de comprometimento do leite da mistura do tanque de resfriamento.

No exterior, o denominado tratamento da vaca seca ou “dry cow therapy”, isto é, o uso de antimicrobianos por via intramamária, na última ordenha anterior ao período seco tem sido muito empregado no controle de mastite. Este período entre as lactações constitui fase de alto risco em relação à prevalência de mastite (NATZKE, 1975; THIERS, 1999).

O período seco corresponde a um estágio de involução da glândula mamária extremamente importante para lactação subsequente e deve ter, no mínimo, 50 a 60 dias de duração (OLIVER, SORDILLO, 1988). Durante este período, a glândula mamária é altamente susceptível a novas infecções (OLIVER, SORDILLO, 1988; NICKERSON, 1989).

Segundo estudos realizados por Nickerson (1989) a infecção do quarto durante o período seco poderá determinar uma diminuição de até 35% da produção deste durante a lactação seguinte.

Um leite de alta qualidade apresenta como características: sabor agradável, alto valor nutritivo, ausência de patógenos e contaminantes, reduzida carga microbiana, baixa Contagem de Células Somáticas (CCS) e ausência de resíduos de antimicrobianos.

Determinantes são múltiplos fatores que contribuem para ocorrência de um evento. O conhecimento dos determinantes facilita a identificação das situações sujeitas à ocorrência deste, bem como as populações mais susceptíveis. O conhecimento dos fatores determinantes de um evento, é portanto, um pré-requisito para prevenção e controle, constituindo um elemento auxiliar no diagnóstico de situação (THRUSFIELD,2004).

Os determinantes são classificados em primários ou secundários, intrínsecos ou extrínsecos. Os determinantes primários são aquelas variações que exercem um maior efeito na indução do evento, freqüentemente, são suficientes para que ocorra o evento, mas contribuem de forma decisiva para uma maior probabilidade da ocorrência do mesmo. (THRUSFIELD,2004).

Analisando desta forma, indubitavelmente a administração de antimicrobianos constitui o determinante primário para presença de resíduos, é um determinante primário extrínseco ou exógeno. Os determinantes secundários não exercem efeito isoladamente, mas interagem para induzir o fenômeno. A interação entre os fatores pode ser aditiva, sinérgica ou não. Dois ou mais fatores podem interagir e produzir um efeito maior que o esperado quando atuam isoladamente, isto é, sinergismo. (THRUSFIELD,2004).

Segundo Borges et al, 2000 não se descarta a possibilidade a adição proposital de antimicrobianos com a finalidade de mascarar uma deficiência na qualidade higiênica do leite e, conseqüentemente, aumentar sua vida útil.

De acordo com PYÖRÄLÄ (2002) para uma grande parte dos antimicrobianos utilizados no tratamento de mastite foram realizados estudos farmacocinéticos bem planejados, conduzidos para definir o período de descarte apropriado do leite, enquanto que, para outros as recomendações foram formuladas com base em dados limitados. Portanto, para se garantir segurança alimentar e evitar resíduos de antimicrobianos é extremamente importante que veterinários e fazendeiros mantenham registros confiáveis de todos os animais tratados no rebanho, não apenas dos casos de mastite e que sejam obedecidos os períodos recomendados de descarte do leite. Os autores citados também preconizam, que os fazendeiros sejam orientados e treinados para realizar testes de detecção de resíduos na propriedade.

Segundo Fonseca (2001) citado por Tetzner & Benedetti (2005) recomenda-se o monitoramento freqüente de resíduos de medicamentos e seus derivados metabólicos no leite, adotando-se como referência, os limites estabelecidos através de agências internacionais. Historicamente, a principal referência mundial para esse assunto é o Codex Alimentarius (FAO/OMS), que fornece subsídios técnicos e serve de referência para vários países do mundo. De acordo com o mesmo, o limite máximo de resíduo de antimicrobiano para o leite é um décimo da carne, pois o leite é alimento essencial para crianças e recém-nascidos.

Moura et.al, (2001) afirma que o controle apropriado, na origem, implica sempre menor nível de contaminação, bem como apresentação de forma adequada à legislação, com respeito, por exemplo, à rotulagem e embalagem. Isso exige das autoridades sanitárias uma fiscalização rigorosa, muito mais intensa e cuidadosa, a fim de manter o controle sobre os estabelecimentos, com fomento às boas práticas de fabricação e obtenção de melhor qualidade de tais produtos.

De acordo com Heescher & Suhren (1993), a avaliação toxicológica dos resíduos de antimicrobianos em alimentos segue os princípios elaborados há cerca de trinta anos pela OMS dentro do programa Codex alimentarius. Os riscos para a saúde incluem os toxicológicos-farmacológicos, microbiológicos e imunopatológicos. A maioria dos testes disponíveis para essas análises, leva em conta geralmente, a segurança do processo tecnológico que envolve o uso de leite (produção de derivados), mas não enfatiza a toxicologia. A persistência de resíduos de antimicrobianos no leite varia com o produto e depende de vários fatores, como por exemplo, dose e via de administração, excipiente utilizado e a solubilidade, entre outros. Sob o ponto de vista de segurança alimentar, é importante salientar que para determinados antimicrobianos, o nível de Ingestão Diária Admissível (IDA) estabelecido pelos órgãos reguladores é relativamente elevado, de maneira que a concentração real encontrada em produtos de origem animal e ingerida pela população, na maioria dos casos, está abaixo do limite. Portanto, a toxicidade destes resíduos é relativa uma vez que a ingestão é inferior ao limite tóxico, assim são mais preocupantes os problemas microbiológicos que podem ser produzidos pela ingestão residual freqüente. Segundo Costa (1996) e Albuquerque et al. (1996), a presença desses resíduos no leite pode ocasionar uma série de problemas:

1. Seleção de estirpes bacterianas resistentes no ambiente. É comum o aumento gradativo das dosagens de antimicrobianos utilizadas na terapia de animais, uma vez que o emprego dessas fármacos, possibilita a seleção de bactérias resistentes, principalmente quando seu uso é indiscriminado. A ingestão de resíduos de antimicrobianos presentes nos alimentos supõe risco para a saúde humana, seja exercendo pressão seletiva sobre a microbiota intestinal, favorecendo o crescimento de microorganismos com resistência natural ou adquirida, ou dando lugar, direta ou indiretamente, para o aparecimento de resistência em bactérias enteropatogênicas.

O problema crescente da resistência microbiana a fármacos em bactérias patogênicas humanas tem sido extensivamente discutido (COHEN, 1992; NEU, 1992; WEY, 1996) e esta resistência é principalmente causada pelo uso inadequado e freqüentemente indiscriminado de antimicrobianos. Como consequência, tanto as fármacos consideradas clássicas no arsenal terapêutico, como aquelas de introdução recente no comércio, vem se tornando ineficientes. Neste sentido, este quadro tende a se agravar, principalmente nos casos de patógenos, que tanto infectam animais como humanos. Mesmo quando estes não são coincidentes, sempre há possibilidade de transferência dessa resistência entre bactérias, inclusive em espécies diferentes.

2. Hipersensibilidade e possível choque anafilático em indivíduos mais sensíveis (DAYAN, 1993). Lederer (1991), relata casos de reações de hipersensibilidade (tipo asmático, digestivas e cutâneas) após consumo de leite, em pessoas que apresentaram testes cutâneos positivos à penicilina e negativos ao leite. O autor enfatiza que para provocar estas reações, não é relevante a quantidade destas fármacos em alimentos, ou seja, pequenas quantidades já são suficientes para desencadear o processo. Dewdney et al. (1991) e Woodard (1991), porém, ressaltam que os mecanismos que levam a hipersensibilidade com relação ao uso terapêutico dos antimicrobianos, principalmente beta lactâmicos, já são bem conhecidos, afirmando que é muito raro ocorrer por ingestão de alimentos contendo antimicrobianos. Segundo estes autores, efeitos provocados pelos macrolídeos em leite são ainda mais incomuns. Estudando 50 pessoas com urticária crônica, os autores observaram que somente em alguns poucos casos, houve alguma associação deste problema com a ingestão de resíduos de antimicrobianos em alimentos.

3. Alterações no processo fermentativo (produção de queijos e iogurtes). As bactérias lácticas são mais sensíveis aos antimicrobianos, impedindo que a fermentação ocorra satisfatoriamente - inviabilizam o processamento lácteo na indústria, para a obtenção de iogurtes, bebida fermentada, queijos e outros produtos (BRITO, 1998). A presença do antimicrobiano poderá inibir as bactérias lactofermentadoras, e não afetar a maioria das bactérias indesejáveis, como colibacilos entre outros, dificultando o seu pleno aproveitamento industrial.

Os principais problemas que ocorrem em queijos oriundos de leites com resíduos de antimicrobianos incluem uma má dessoragem da coalhada, fermentação indesejável, com produção de gás e uma maturação irregular, isto acontece devido à interferência dos antimicrobianos sobre os fermentos utilizados para fabricação de queijos. Considerando que a cultura láctica utilizada na fabricação de iogurte é uma das mais sensíveis à ação dos antimicrobianos, a triagem do leite a ser utilizado no seu processamento deve ser a mais rigorosa possível, para se evitar prejuízos para a indústria e saúde dos consumidores (SBAMPATO, 2000).

4. Modificação dos resultados de análises laboratoriais. Induzindo a uma falsa idéia da boa qualidade do produto, principalmente nos testes do tempo de redutase e de contagem microbiana, devido ao efeito antimicrobiano destes medicamentos no leite.

5. Desequilíbrio da microbiota intestinal. Isto pode ocorrer principalmente em crianças abaixo de um ano de idade, que ainda encontram-se em formação. Há alguns anos, pesquisadores vêm mostrando interesse no estudo dos possíveis efeitos de resíduos de fármacos microbiologicamente ativos sobre a microbiota intestinal humana. Os efeitos adversos dos antimicrobianos sobre a microbiota intestinal são preocupantes devido ao importante papel que desempenham na manutenção da saúde dos indivíduos. Além disso, perturbações na microbiota intestinal podem comprometer a eficácia de outras substâncias terapêuticas e, deste modo, afetar negativamente a saúde coletiva (PAIGE, 1998).

6. Discrasias sangüíneas associadas ao cloranfenicol.

7. Efeito teratogênico. O risco do consumo de antimicrobianos (metronidazol, rifampicina, trimetropim, estreptomicina e tetraciclina), por gestantes, se deve ao potencial teratogênico destes que podem causar ototoxicidade e alteração no desenvolvimento ósseo fetal.

Em virtude da preocupação em associar resistência bacteriana e saúde infantil, a atenção com a qualidade química de alimentos para bebês e crianças é fundamental, não devendo ocorrer acúmulo ou concentração indesejável (ALVIM, 2005). Além disso, a preocupação com as gestantes deve ser considerada, pois, não apenas os nutrientes consumidos por elas, mas, também, resíduos e contaminantes presentes nos alimentos ingeridos podem ser passados para o bebê via amamentação, podendo causar efeitos teratogênicos. Em estudo com mulheres lactantes observaram a ocorrência de diarreia em crianças alimentadas com leite materno de mães que haviam recebido antimicrobiano terapia durante esta fase; mesmo em doses terapêuticas, as diarreias neonatais atribuídas a antimicrobiano terapia materna foram da ordem de 13%. (TADDIO, 1994).

Quanto aos antimicrobianos, que podem causar efeitos tóxicos graves na população, como nitrofuranos, possíveis mutagênicos ou o cloranfenicol, causador de anemias graves, e que tem seu uso proibido em animais destinados à produção de alimentos, inclusive no Brasil (BRASIL, 1998) e seus resíduos, são inaceitáveis sob o ponto de vista toxicológico (CANABRAVA, 2002).

A maioria dos países estabelece, em suas legislações sanitárias, regulamentação para o uso de antimicrobianos na pecuária, definindo os Limites Máximos de Resíduos (LMR) nos alimentos de origem animal. Estes limites são instituídos de acordo com as recomendações do Codex Alimentarius, podendo ser inferiores aos recomendados se houver justificativa para tal decisão (FAURE, 1998).

O LMR é baseado na Ingestão Diária Aceitável (IDA) para um determinado composto, que é a quantidade de uma substância que pode ser ingerido diariamente durante uma vida inteira sem risco considerável para a saúde. Os LMR são fixados com base nos dados toxicológicos pertinentes, incluindo informações sobre a absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ANADON & MARTINEZ, 1999).

As organizações internacionais envolvidas com a saúde coletiva, como o JECFA - Comitê para Aditivos Alimentares da FAO/WHO e o FDA dos Estados Unidos, estabelecem as diretrizes para o Limite Máximo de Resíduo ou Limite de Tolerância definidos como a concentração máxima de resíduo resultante do uso de um medicamento veterinário, expresso em parte por milhão (ppm) ou parte por bilhão (ppb), que é legalmente permitido, ou reconhecido, como aceitável no alimento e é estabelecido para cada antimicrobiano e sulfonamida aprovados para uso em animal produtor de alimento, sendo o valor de limite máximo de resíduo correlacionável à Ingestão Diária Aceitável obtida a partir de ensaios de experimentação animal avaliando-se a toxicidade, teratogenicidade, e carcinogenicidade desses aditivos não intencionais (KISER, 1984; MITCHELL et al., 1998).

No Brasil, foram estabelecidos pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCRB) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 1999) níveis máximos com a finalidade de sistematizar os meios de controle da contaminação desses produtos por resíduos de compostos de uso na agropecuária, bem como de poluentes ambientais (BRASIL, 2001), conforme os limites determinados pelo Codex Alimentarius (Tabela 1). Entretanto, para fiscalização e monitoramento eficientes dos níveis de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal, são necessários métodos analíticos validados que garantam a segurança e confiabilidade dos resultados gerados (EURACHEM, 1998; PETZ, 1996).

Os métodos para detecção de resíduos de antimicrobianos em alimentos baseiam-se em três princípios básicos: o efeito direto em um micro-organismo teste; o reconhecimento da forma tridimensional molecular, utilizado em técnicas imunológicas e o uso das características físico-químicas dos antimicrobianos, que fundamentam técnicas cromatográficas e/ou espectrométricas (PETZ, 1996).

Dentre as desvantagens das técnicas microbiológicas, destacam-se: baixa seletividade na identificação do antimicrobiano; restritos limites de detecção para muitos compostos; demora na obtenção dos resultados e incidência de resultados falsos positivos (MARTIN & MORAGA, 1996; NEUBAUER, 1998; MCINTOSH & SHELDON, 2002). Já as técnicas imunológicas não são seletivas o bastante para a identificação inequívoca de um composto, necessitando métodos físico-químicos de confirmação. Entretanto, permitem que muitas amostras sejam analisadas em pouco tempo (PETZ, 1996; THACKER et al., 1996).

Estas técnicas encontram-se disponíveis no mercado sob a forma de conjuntos de reativos prontos para uso em condições de campo. Os conjuntos foram inicialmente desenvolvidos para utilização em plataformas de recebimento de leite nas usinas, porém têm sido aplicados, também, em propriedades rurais, para verificar a presença de resíduos no leite armazenado nos tanques ou proveniente de vacas mantidas sob tratamento com antimicrobianos (ANDREW, 1997).

A partir dos anos 50, o método de ensaio de disco com *Bacillus subtilis* e suas modificações foram usados para detectar resíduos de antimicrobianos no leite. Durante os anos 70 e 80 ocorreu o desenvolvimento de técnicas radioimunológicas e enzimáticas para determinar a presença de betalactâmicos e outros antimicrobianos, tais como tetraciclina, estreptomicina, eritromicina, novobiocina e sulfonamidas. Finalmente, durante os anos 80 foram introduzidos testes utilizando anticorpos para resíduos específicos (BISHOP et al, 1992; RAI, 2001).

Os conjuntos mais antigos apresentam como princípio, a inibição do crescimento de espécies de bactérias sensíveis, o que possibilita a sua aplicação em diferentes tipos de amostras, como urina e soro vários tecidos. A análise é executada em placas, utilizando-se um disco ou suabe estéril posto em contato com o fluido ou tecido suspeito de conter resíduos. O suabe é, então posicionado na placa de ágar contendo a bactéria sensível ao antimicrobiano, é incubado por 8 a 12 horas, dependendo do conjunto utilizado. A zona de inibição de crescimento bacteriano circundante ao suabe indica a presença de antimicrobianos na amostra. Na atualidade, estes conjuntos são utilizados, principalmente, para a detecção de resíduos de fármacos antimicrobianos em carcaças de animais de abate (BISHOP et al, 1992; RAI, 2001).

A inibição do crescimento microbiano pode ser avaliada, também através de indicadores colorimétricos. Os sistemas que empregam esta técnica são conhecidos pela sigla BsDA (“*Geobacillus stearothermophilus* Disk Assay”), considerados oficiais para a detecção de resíduos de antimicrobianos β -lactâmicos no leite (KATZ & SIEWIERSKI, 1995). Diferentemente dos testes de placa, inibição microbiana é constatada usando-se um indicador de pH, cuja cor é alterada na presença de compostos ácidos produzidos pelo *Geobacillus stearothermophilus*. Deste modo, se a amostra contém resíduos, o crescimento bacteriano é inibido e a mudança de cor não ocorre.

O método de inibição microbiana pela presença de resíduos de antimicrobianos no leite é o mais utilizado em virtude do custo e da capacidade de evidenciar uma ampla gama de

antimicrobianos e quimioterápicos (BARBERIO; SIGNORINI,1996).Este método utiliza uma cultura de microorganismo teste, geralmente *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* ou *Streptococcus thermophilus*, semeada em meio de crescimento agar ou líquido (MITCHELL,et al.,1998; RAI,2001).

Entre os usados como triagem, destacam-se os microbiológicos por inibição de *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, tais como BRTAiM® (Brilliant Black Reduction Test), Delvotest® e CH®-ATK Microplate P&S. Estes foram principalmente desenvolvidos e testados para leite bovino(SEYMOUR et al.,1988; SISCHO; BURNS 1993; ANDREW et al.,1997). Alguns testes, tais como Delvotest® e BRTAiM® foram também avaliados para leite de ovinos frente a diferentes antimicrobianos, com base nos limites máximos de resíduos permitidos nos Estados Unidos e União Européia (ALTHAUS et al.,2001; MOLINA et al.,2003).



Figura 2. Delvotest SP-NT.

Fonte: www.dairyreporter.com/pubNL.asp?id=joiwzxcjip acesso em 22/02/2008.

Diversos trabalhos indicam que os produtores de leite que utilizam testes seletivos para avaliação de antimicrobianos no leite possuem menor incidência de resíduos em seus produtos. Deve-se ressaltar, contudo, que o desempenho dos conjuntos pode variar amplamente quando utilizado no leite de diferentes animais, afetando, principalmente, a capacidade do teste em detectar resíduos em amostras comprovadamente positivas. Com relação aos antimicrobianos β -lactâmicos, alguns trabalhos demonstram que a especificidade é menor quando realizado no leite de animais acometidos de mastite clínica (CORASSIN & OLIVEIRA, 2000).

Raia et al. (2003) evidenciaram a influência de inibidores naturais (como por exemplo, lactoferrina e peroxidase) oriundos do processo inflamatório nos testes microbiológicos de detecção de resíduos. Deste modo, para impedir a ocorrência de falso-positivos por inibidores naturais, padronizaram o tratamento térmico prévio das amostras de leite como preconizado anteriormente por alguns autores estrangeiros (AERTS et al., 1995).

Outro método muito utilizado para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite é o imunoenzimático, conhecido como “Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay” (ELISA). Os conjuntos que empregam princípios imunológicos baseiam-se na competição por sítios de ligação em receptores de células bacterianas que são específicos para várias classes de antimicrobianos. Os receptores bacterianos são adicionados à amostra de leite, juntamente com antimicrobianos conjugados com isótopos radioativos (radioimunoensaio) ou enzimas (ELISA). A concentração de resíduos na amostra pode ser avaliada através de radiometria ou colorimetria, sendo diretamente proporcional ao número de sítios receptores ocupados pelo antimicrobiano não marcado (SEYMOUR et al., 1998).

Indiferente do objetivo da análise, todos os testes ELISA envolvem duas etapas básicas. Na primeira etapa, um antígeno e um anticorpo, um conhecido e outro proveniente da amostra a ser testada, são unidos para reagir, com a formação de imunocomplexos. Na segunda etapa, a detecção da reação é realizada pela adição de uma enzima conjugada. O conjunto é um antígeno ou um anticorpo quimicamente unido a uma enzima, como exemplo, a fosfatase alcalina. O conjugado ao reagir com o imunocomplexo forma um produto colorido. A intensidade de cor determina a presença ou ausência do antígeno ou anticorpo primariamente desconhecido e permite a sua identificação (MITCHELL et al., 1998)

A escolha do tipo de conjunto deve levar em consideração a sensibilidade desejada para o antimicrobiano pesquisado. Isto possibilita ao produtor a detecção de fármacos específicos usadas no tratamento do animal, o que conseqüentemente aumenta a precisão analítica para tais substâncias.

Os conjuntos de reativos necessitam de condições adequadas de armazenagem e execução, pois, como material biológico, são sensíveis às variações do ambiente. Assim, deve-se procurar mantê-los em temperatura conveniente para conservação, bem como realizar o teste em sala apropriada para esta finalidade, evitando a ocorrência de resultados falso-positivos.

Os métodos físico-químicos, como os que empregam a técnica de cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), possuem maior sensibilidade para detectar resíduos de antimicrobianos em alimentos de origem animal (BOISON & KENG, 1998; CARSON, 1993; FLETOURIS, et al., 1992.; MINEO & KANEKO, 1992). Métodos físico-químicos como cromatografia gasosa e cromatografia em camada também são utilizados para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite (HONKANEN-BUZALSKI e REYBROECK, 1997).

Estes métodos requerem sempre algum tipo de extração e, ou, desproteíntização prévia, dependendo da matriz e resíduo a ser pesquisado, além de instrumentação complexa e pessoal treinado (BOISON & KENG, 1998; MINEO & KANEKO, 1992). No entanto, a capacidade desses métodos em identificar seletivamente e quantificar níveis de resíduos na ordem de ng/mL ou ng/g tem garantido seu uso, principalmente para a confirmação de amostras positivas em métodos de triagem (MITCHELL et al., 1998; MOATS & HARIK-KHAN, 1995).

Em relação à especificidade de alguns dos testes de triagem verificou-se na literatura estrangeira que alguns trabalhos de pesquisa estudaram este aspecto. Uma das propriedades que caracterizam os métodos microbiológicos de triagem é a especificidade, que foi definida por Sischo, Burns (1993) como a relação entre o número de resultados negativos no total de amostras analisadas por um determinado método, utilizando-se leite livre de resíduos. Sischo (1993) obteve valores de especificidade usando o Delvotest® com amostras de leite de vaca de 98% e 95%, respectivamente.

O método de inibição microbiana pela presença de resíduos de antimicrobiano no leite é o mais utilizado em virtude do custo e de capacidade de evidenciar uma ampla gama de antimicrobianos e quimioterápicos. (REYBROECK, 1995). Alguns dos Kits de inibição microbiana e imunoenzimáticos disponíveis no mercado são listados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Kits para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite disponíveis no mercado.

Teste	Princípio do Teste
Disco	Inibição microbiana
¹ BR teste (Brillant Black Reduction Test)	Inibição microbiana <i>Geobacillus</i> <i>stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i>
² Charm Farm Teste	Inibição microbiana <i>Geobacillus</i> <i>stearothermophilus</i>
³ Delvotest®	Inibição microbiana <i>Geobacillus</i> <i>stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i>
⁴ SnapMT(beta-lactâmicos)	Imunoenzimático (ELISA)
⁵ SnapMT(tetraciclina)	Imunoenzimático (ELISA)
⁶ CITE Probe®gentamicina	Imunoenzimático (ELISA)
⁷ CITE®Sulfa-trio (sulfametazina,sulfatiazol,sulfametoxina)	Imunoenzimático (ELISA)
⁸ Lactek (beta-lactâmicos); (Lactek sulfametazina); (Lactek gentamicina);	Imunoenzimático (ELISA)
Signal gentamicina, (Signal sulfametazina); (Signal neomicina).	Imunoenzimático (ELISA)
⁹ Penzyme®	Enzimático

Fonte: Costa,1996

¹BRtest,(Idetek,Inc.,Sunnyvale,Calif.), ²Chram Farm(Charm Sciences, Inc.,Malden,Md), ³Delvotest® (Gis brocades Food
Ingredients,Inc.,Netherlands), ^{4,5,6,7}CITE Probe® (IDEXX,Portland,Maine), ⁸Lac Tek (Idetek,Inc), ⁹Penzime®(UCB
BioproductsSA,Chemin du Foriest, Belgium)

Tabela 3. Kits para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite e especificações.

Teste de nome	Fabricante	Antimicrobianos	Matrizes	Tipo / Princípio analítico
SNAP β -lactâmicos Test Kit	IDEXX Laboratories, Inc.	ampicilina, cefapirina, ceftiofur, penicilina, amoxicilina	Tanque leite bovino	Teste de rastreio / inibição do crescimento bacteriano
Delvotest SP	DSM Foods	amoxicilina, ampicilina, cefapirina, ceftiofur	Tanque leite bovino	Teste de rastreio
Penzyme milk e Penzyme III	UCB Biopdts / CDH. Hansen, Inc.	ampicilina, cefapirina, ceftiofur, penicilina, amoxicilina	Tanque leite bovino	Teste de rastreio / Enzimático
LacTek TM CEF & LacTek TM B-L	Idetek (Sunnyvale, CA)	ampicilina, cefapirina, ceftiofur, penicilina, amoxicilina	Tanque leite bovino	Teste de rastreio / sistema enzimático competitivo
Parallux TM β -Lactam Assay System	IDEXX Laboratories, Inc.	ampicilina, cefapirina, ceftiofur, penicilina, amoxicilina	Tanque leite bovino	Teste de rastreio / Imunoreceptor de fluorescência de fase sólida
New SNAP β - Lactam Assay	IDEXX Laboratories, Inc (Westbrook, ME)	ampicilina, cefapirina, ceftiofur, penicilina, amoxicilina	Todo leite bovino cru misturado	Teste de rastreio/ Sistema captura Antimicrobiano-antígeno
Charm II sequential and Charm I cowside	Charm Sciences, Inc. (Malden, MA)	ampicilina, cefapirina, ceftiofur, penicilina, amoxicilina	todo leite bovino misturado	Teste de rastreio / ligação competitiva ; deslocamento de penicilina

Fonte: Shitandi & Gathoni (2004)

O Delvotest® (método de inibição microbiana) é um teste simples, sensível e relativamente rápido, quando comparado a outros. Embora vários autores tenham relatado enfaticamente a ocorrência de resultados falso-positivos, o Delvotest®SP-NT é amplamente utilizado individualmente em vacas e seu uso está, inclusive, recomendado no programa de segurança da qualidade do leite e da carne existente nos EUA (CULLOR et al., 1994). Seu uso é aprovado pelo FDA e é reconhecido e aprovado pelo Association Official of Analytical Chemist (AOAC) desde 1982 (BARBERIO & SIGNORINI, 1996).

A sensibilidade dos principais testes utilizados para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite, de acordo com Honkanen-Buzalski & Reybroeck (1997) é listada a seguir na Tabela 4.

Tabela 4. Limite de sensibilidade ($\mu\text{g/Kg}$) de diferentes testes de inibição do crescimento microbiano para diferentes antimicrobianos.

Antimicrobianos	<i>Geobacillus</i> <i>stearotherophilus</i> var. <i>calidolactis</i>	<i>Streptococcus salivarius</i> spp. <i>thermophilus</i>	
	Método de Difusão em tubo	Delvotest® SP	Valiostat T101
Benzilpenicilina	3	3	5
Ampicilina	6	6	25
Amoxicilina	6	6	40
Cloxacilina	25	25	200
Ceftiofur	40	50	20
Oxitetraciclina	750	1000	400
Tylosina	20	50	20
Eritromicina	10	200	75
Espectinomicina	750	3000	1500
DH/Estreptomicina	250	1500	400
Gentamicina	50	200	1500
Sulfadimidina	500	150	>5000
Dapsona	2	2	>2000
Cloranfenicol	5000	7500	1500

Fonte: Honkanen-Buzalski & Reybroeck (1997)

Um dos aspectos mais relevantes dos testes de inibição microbiológica advém do fato destes apresentarem sensibilidade a um amplo espectro de antimicrobianos, o que evita a necessidade do emprego simultâneo de vários testes para uma única amostra de leite, como é o caso dos testes imunoenzimáticos que são específicos, ora para betalactâmicos, ora para os aminoglicosídeos ou então para as tetraciclinas.

Na Portaria nº 8 de 26 de Junho de 1984 do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, publicada no Diário Oficial da União em 11 de Julho de 1984 há citação de que pelo menos uma vez por semana deve ser realizada, obrigatoriamente a pesquisa de inibidores em amostras de leite de pequena mistura (em nível de produtor) pelo cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio (TCC), método de disco em placas, Delvotest® ou outro aprovado. Os antimicrobianos podem ser administrados em doses diferentes das preconizadas na bula. Assim, os períodos de carência podem não corresponder ao esperado, o que obriga a execução das análises após um período maior ao recomendado para uma determinada fármaco.

Existem diversas vantagens em analisar individualmente o leite de vacas que foram tratadas com antimicrobianos, porém, as principais estão relacionadas aos aspectos econômicos e de qualidade do leite produzido (CORASSIN & OLIVEIRA, 2000). Na

abordagem tradicional de controle de resíduos de antimicrobianos no leite é preconizada a análise de amostras colhidas nas plataformas das usinas ou no tanque de armazenagem de leite nas propriedades rurais.

O primeiro aspecto benéfico na análise individual dos animais está relacionado ao fato de que, se a análise do tanque for positiva para resíduos, o impacto financeiro será muito maior que o decorrente de um resultado positivo para uma vaca. A qualidade do leite produzido, por outro lado, também é assegurada, pois o teste individual das vacas previne a contaminação de todo o produto ordenhado e recolhido no tanque. É importante lembrar que a adição de leite contendo antimicrobianos, ao leite não contaminado, nem sempre consegue diluir os resíduos no leite de mistura até os níveis de tolerância (CORASSIN & OLIVEIRA, 2000).

5 METODOLOGIA

Para o teste de resíduos de antimicrobianos foram obtidas amostras de leite esterilizado, todas as embalagens continham selo de inspeção sanitária e armazenadas sob congelamento, em recipientes plásticos (garrafinhas) de 300 mL.



Figura 3. Distribuição das amostras coletadas em frascos de 300 mL para posterior congelamento.

Foram analisadas 175 amostras de leite e bebida láctea UHT, as 16 marcas investigadas foram codificadas como mostra a Tabela 5, com predominância das marcas D, K e N (Figura 4). A Tabela 5 também apresenta o tipo de leite conforme a padronização do teor de gordura sendo: I (integral), D (desnatado), SD (semi desnatado) e BL (bebida láctea).

Tabela 5. Quantidade e marcas das amostras analisadas.

Marca	I	D	SD	BL	Número Amostras Testadas	%
A	5	5	0	0	10	5,7
B	0	0	0	4	4	2,3
C	1	0	0	0	1	0,6
D	27	12	4	0	43	24,6
E	1	0	0	0	1	0,6
F	1	1	0	0	2	1,1
G	10	5	0	0	15	8,6
H	10	5	0	0	15	8,6
I	6	3	0	0	9	5,1
J	4	1	0	0	5	2,9
K	13	7	7	0	27	15,4
L	4	0	0	0	4	2,3
M	3	4	0	0	7	4,0
N	13	4	3	0	20	11,4
O	5	1	0	0	6	3,4
P	0	6	0	0	6	3,4
Total	103	54	14	4	175	100

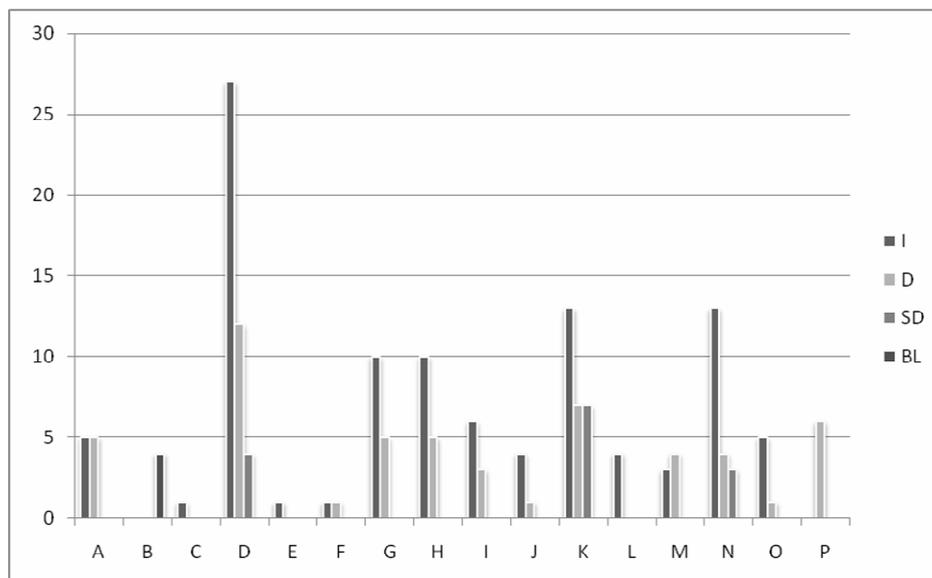
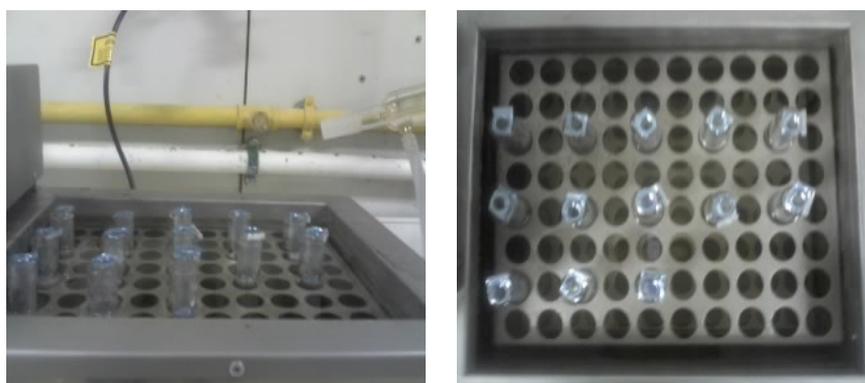


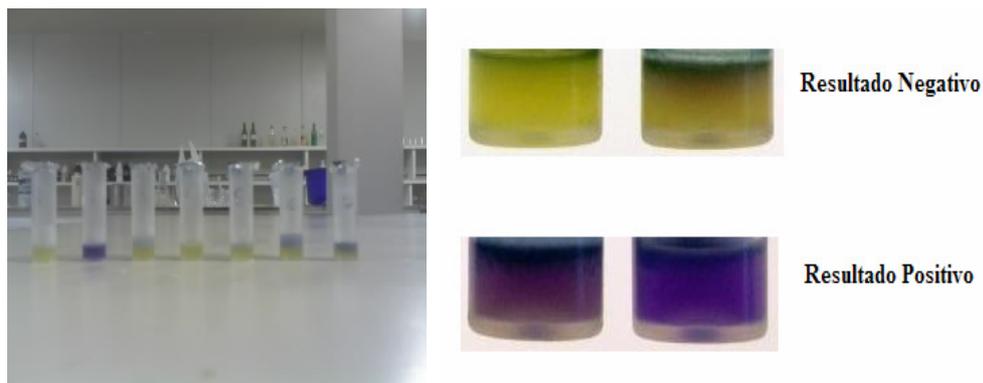
Figura 4. Distribuição das amostras analisadas segundo a classificação pelo teor de gordura.

As análises foram realizadas com teste microbiológico comercial Delvotest SP-NT (Cap-Lab Indústria e Comércio Ltda), com *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, em meio semi-sólido com indicador, juntamente com todos os nutrientes necessários para o crescimento bacteriano.

Os testes obedeceram a seguinte seqüência: 1- abertura das ampolas (Delvotest®SP-NT) com retirada da tampa de alumínio, 2- foram adicionados volumes de 0,1 mL das amostras de leite a serem analisadas nas ampolas (Delvotest®SP-NT) 3- estas ampolas permaneceram incubadas em banho-maria a $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 3 (três) horas (Figuras 5 e 6), segundo a recomendação técnica, sempre acompanhadas de controle negativo. Após este período foram realizadas as leituras e consideram-se positivos os testes que apresentaram cor púrpura e negativo aqueles que apresentaram uma mudança da cor púrpura para amarela, conforme ocorre no controle negativo (Figuras 7 e 8).



Figuras 5 e 6. Incubação das amostras nas ampolas do Delvotest®SP-NT em banho-maria a 64°C por 3 horas.



Figuras 7 e 8. Coloração indicativa dos resultados das amostras analisadas.

Após o período de incubação, ácido suficiente é produzido pelo crescimento e multiplicação das bactérias que utilizam a glicose. A alteração da cor do indicador de pH (púrpura de bromocresol), indica uma amostra livre de antimicrobianos. Se, no entanto, o crescimento e multiplicação da bactéria forem retardados ou inibidos, não ocorre a acidificação do meio e este permanece púrpura. A coloração intermediária entre amarelo e púrpura também é considerada positiva para resíduo de antimicrobiano.

As ampolas do teste forma mantidas sob refrigeração à temperatura de aproximadamente 4°C, conforme recomendação do fabricante, e no momento da utilização, permaneceram à temperatura ambiente, apenas as ampolas que foram utilizadas.

Para descartar a presença do inibidor formol nas amostras de leite UHT, foi realizado o teste do formaldeído conforme a Instrução Normativa nº68 (BRASIL,2006) objetivando evidenciar a presença de resíduos de antimicrobianos nas amostras positivas com a finalidade de verificar se a inibição do crescimento do *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* possa ter sido determinado por este conservador (Figuras 9 e 10).



Figuras 9 e 10. Realização do teste do formaldeído.

Os kits foram testados quanto a sua eficácia, confrontando doses de alguns dos fármacos que compõem o “pool” de sensibilidade do kit. Realizaram-se diluições dos seguintes antimicrobianos: Amoxicilina, Ampicilina, Gentamicina, Eritromicina, e Trimetoprima em doses diferentes à sensibilidade indicada pelo fabricante, uma inferior, uma intermediária e outra superior ao limite de detecção do método, como mostra a Tabela 6.

Para Eritromicina, o limite de inferior de detecção do kit (LI) é 40ng/mL e o limite superior de detecção (LS) de 200ng/mL, sendo também testado um valor de 20 ng/mL (abaixo do LI). Para Amoxicilina, o LI é 2ng/mL e o LS de 5ng/mL, sendo também testado um valor de 1ng/mL (abaixo do LI). Para Gentamicina, o LI é 50ng/mL e o LS de 200ng/mL, sendo também testado um valor de 25 ng/mL (abaixo do LI). Para Ampicilina, o LI é 7ng/mL e o LS de 200ng/mL, sendo também testado um valor de 25 ng/mL (abaixo do LI). Para Trimetoprima, o LI é 50ng/mL e o LS de 300ng/mL, sendo também testado um valor de 25 ng/mL (abaixo do LI).

Tabela 6. Antimicrobianos e diluições utilizadas para o teste de sensibilidade do Kit Delvotest®SP-NT.

Atibiótico	Sensibilidade do Kit Delvotest®SP-NT		Diluições analisadas (ng/mL)
	Nível de detecção (ng/mL) Após o tempo de controle	Nível de detecção (ng/mL) Após tempo de leitura 3 horas	
eritromicina	40-80	200	200
			40
			20
amoxicilina	2-3	3-5	5
			2
			1
gentamicina	50	200	200
			50
			25
ampicilina	4	6-7	7
			4
			2
trimetoprima	50-100	200-300	300
			50
			25

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as 175 amostras de leite UHT investigadas, 02 (duas) amostras apresentaram-se positivas no teste de detecção de resíduos de antimicrobianos (Tabela 7), revelando uma frequência de contaminação de 1,1%. As duas amostras positivas eram Integrais, indicando uma tendência de veiculação pelo conteúdo lipídico. Estes resultados são similares ao apresentado por Souza et al. (2008) que também encontraram 1% das amostras de UHT positivas pelo mesmo método.

Tabela 7. Resultado das análises.

Marca / Resultado	Positiva	Negativa
A	0	10
B	0	4
C	0	1
D	0	43
E	0	1
F	0	2
G	1	14
H	0	15
I	1	8
J	0	5
K	0	27
L	0	4
M	0	7
N	0	20
O	0	6
P	0	6
Total	2	173

No relatório PAMVet referente aos anos 2004/2005 das 312 amostras em que foram procedidas análises de triagem para tetraciclina, 21 amostras (7%) apresentaram resultado não conforme, sendo seis (2%) em leite UHT. De 306 amostras avaliadas na triagem para cloranfenicol, 22 (7%) foram insatisfatórias, 13 (5%) de leite UHT e nove (28%) de leite em pó. resultado este que deixa dúvidas se está havendo ou não, a utilização indevida deste antimicrobiano que é proibido no Brasil para uso em animais produtores de alimentos;

Conforme os resultados encontrados neste trabalho, 2 (duas) amostras positivas correspondem a centenas de produtos do mesmo lote comercializados que poderiam também estar com níveis acima do LMR permitido pela legislação, podendo assim ser consumido justificando a necessidade deste tipo de controle fiscal com regularidade uma vez que o leite é consumido principalmente por crianças. Deve-se atentar para o fato de que estas amostras serem do tipo UHT, possivelmente a leite cru de origem teria níveis maiores que os detectados.

Outros trabalhos foram realizados utilizando o princípio da inibição microbiana, porém não na forma de kits comerciais. Borges et al. (2000), que analisaram a ocorrência de resíduos de antimicrobianos em leite, pasteurizado integral e padronizado produzido e

comercializado no Estado de Goiás através do método de difusão de resíduos de antibióticos em ágar, tendo o *Bacillus subtilis* e o *Geobacillus stearothermophilus* como microorganismos-teste, observaram que das 533 amostras analisadas, 53 apresentaram resíduos de antimicrobianos, representando 9,95% das amostras analisadas.

Nascimento et al. (2001), em estudo sobre a ocorrência de resíduos de antibióticos no leite tipos A, B e C comercializado em Piracicaba, SP, utilizaram, também, o método de difusão de resíduos de antibiótico em ágar, porém empregaram somente a cultura teste de *Geobacillus stearothermophilus*, e observaram 50,0% das amostras positivas.

Dentre os resultados das diluições dos antimicrobianos testados: Amoxicilina, Ampicilina, Gentamicina, Eritromicina, e Trimetoprima em doses diferentes à sensibilidade indicada pelo fabricante, todas que estavam dentro da faixa sensível do método foram confirmadas pelo kit, de acordo com a Tabela 8, a seguir.

Tabela 8. Resultado das análises do teste de sensibilidade do Kit Delvotest®SP-NT

Atibiótico	Diluições analisadas (ng/mL)	Resultados positivos
eritromicina	200	200
	40	40
	20	-
amoxicilina	5	5
	2	2
	1	-
gentamicina	200	200
	50	50
	25	-
ampicilina	7	7
	4	4
	2	-
trimetoprima	300	300
	50	50
	25	-

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados observados pode-se concluir que :

Todas as amostras analisadas foram provenientes de estabelecimentos com registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, portanto a presença de amostras positivas significou um controle ineficaz, seja no processo de produção ou de comercialização.

Programas de monitoramento são necessários, desde que associado a estes, campanhas para educação dos produtores e funcionários envolvidos e, capacitação técnica, são primordiais para fomentar as boas práticas agropecuárias e obtenção de melhor qualidade no leite e seus derivados..

Especificamente, para o leite, a realização de análises com kits de inibição microbiana, mostrou-se eficaz para a triagem de resíduos de antimicrobianos. Neste estudo, o kit comercial Delvotest®SP-NT, um dos mais utilizados para este fim, teve sua sensibilidade aos antimicrobianos testados, comprovada.

A qualidade do leite apesar de estar normatizada, deve ser implementada de fato, tanto em atenção aos consumidores no mercado interno bem como no atendimento das exigências internacionais.

A obtenção de um produto com qualidade – o alimento seguro - depende da integração entre os produtores, indústria, centros de pesquisa e órgãos fiscalizadores. Além disso a figura do consumidor é importante, fazendo valer dos seus direitos, daí a extrema relevância em promover uma educação sanitária em toda a cadeia produtiva, do campo à mesa.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Algumas situações verificadas nas condições brasileiras merecem especial atenção, este é o caso das informações técnicas que acompanham alguns produtos veterinários, as quais muitas vezes apresentam incongruências e mesmo incoerências. Além disso, usualmente os procedimentos não estão descritos de forma clara. Por exemplo, em relação ao período de descarte do leite após final do tratamento, não existe uma padronização quanto ao tipo e a forma das informações fundamentais disponibilizadas nas bulas, que permita uma orientação mais segura para utilização adequada do medicamento. Estas deficiências podem induzir a erros no descarte do leite, além dos fatores fisiológicos, clínicos e farmacológicos analisados na presente pesquisa.

O exposto revela a necessidade da adoção de medidas rigorosas pelas autoridades responsáveis para coibir estas irregularidades que afetam direta e indiretamente os animais, os produtores, os consumidores e comprometem a expansão do agro-negócio do setor leiteiro e as exportações do leite e derivados.

A presença de resíduos de fármacos de uso veterinário acima dos padrões legais interfere no processamento de leites fermentados e de queijos, com expressivos prejuízos aos produtores e às indústrias, além de ocasionar problemas à saúde humana. Por isso o produtor deve prestar atenção às causas mais comuns de aparecimento de resíduos no leite, como mostra o Quadro 3.

Quadro 3. Principais causas de ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite.

Principais causas de ocorrência de resíduos
1. Não observação do período de carência do produto.
2. Erros na identificação dos animais tratados e na anotação dos dados do tratamento.
3. Uso de fármacos em diferentes dosagens ou diferentes esquemas de tratamento.
4. Descarte do leite apenas do quarto tratado.
5. Vacas que têm parto antecipado ou curto período seco
6. Uso de produtos de vaca seca para tratamento de vacas em lactação.
7. Ordenha acidental de vacas secas.
8. Erro durante a ordenha e mistura de leite com e sem resíduo.

Fonte: <http://www.itambe.com.br/Cmi/Pagina.aspx?1814> acesso em 17/02/2008

Identificadas as principais causas, o produtor deve atuar no controle e prevenção, que são as principais ações para evitar a veiculação de resíduos de fármacos veterinárias no leite. São ações simples, que devem fazer parte da rotina da propriedade e que dependem de uma boa relação entre produtor e retireiro, como está no Quadro 4.

Quadro 4. Cuidados a serem utilizados no tratamento de animais.

Cuidados a serem observados ao tratar os animais

1. Usar antimicrobianos e outros antimicrobianos apenas com orientação de um médico veterinário, seguindo rigorosamente as recomendações do fabricante do produto.
 2. Marcar visivelmente as vacas tratadas com colares e/ou pulseiras.
 3. Observar período de carência do tratamento.
 4. Anotar todos os tratamentos em um quadro na sala de ordenha com informações do número do animal, dia do início e do término do tratamento e o período de carência do produto usado.
 5. Ordenhar vacas tratadas por último ou separadas.
 6. Limpar o sistema de ordenha após a ordenha de vacas tratadas.
 7. Utilizar somente antimicrobianos registrados, com bula e pela via recomendada pelo fabricante.
-

Fonte: <http://www.itambe.com.br/Cmi/Pagina.aspx?1814> acesso em 17/02/2008

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AERTS, M. M. L.; HOGENBOOM, A. C.; BRINKMAN, U. A. Analytical strategies for the screening of veterinary drugs and their residues in edible products. **J. Chromatogr. B. Biom. Sci. Appl.**, Amsterdam, v. 667, n. 1, p.1-40, 1995.
- ALBUQUERQUE, L.M.B., MELO, V.M.M., MARTINS, S.C.S. Investigações sobre a presença de resíduos de antimicrobianos em leite comercializado em Fortaleza-CE-Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.10, n.41, p.29-32, 1996.
- ALTERTHUM, F. Origem e natureza química dos principais agentes antibacterianos. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p.87-92.
- ALTHAUS, R L.; MOLINA, M.P.; RODRIGUEZ, M.; FERNADEZ, N.; Detection limits of beta-lactam antibiotics in ewe milk by penzym enzymatic test. **J. Food Prot**, v.2 ; n.64, n.11, p.1844-1847, 2001.
- ALVIM, R. S. O efeito das mudanças no processo. **Revista Balde de Leite**. n. 487.São Paulo, 2005.
- ANADON, A. & MARTINEZ-LARRANAGA, M. 1999. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: Regulatory Aspects. **Livestock Prod. Sci.** v.59,p. 183-198.
- ANDREW, S.M.; FROBISH, R.A.; PAAPE, M.J.; MATURIN, L.J. Evaluation of selected antibiotic residue screening tests for milk from individual cows and examination of factors that affect the probability of false-positive outcomes. **Journal of Dairy Science**, v.80, .3050-3057, 1997.
- ANDREW, S.M. Effect of composition of colostrums and transition milk from Holstein heifers on specificity rates of antibiotic residue tests. **J. Dairy Sci.**,v.84, p.100-106. 2001.
- AOAC International, 2003 <http://www.aoac.org/testkits/testedmethods.html> (acesso em 17 de Fevereiro de 2004).
- ARAÚJO, W. M. C. Alimento, nutrição gastronomia e qualidade de vida. **Higiene Alimentar**. v. 15, São Paulo, 2001.
- BARBERIO, A.; SGNORINI, F. Antibiotici e sulfamidicini nel latte. **Obiettivi Doc. Vet.**, Bolonga v.17, n.12, p. 29-36,1996.
- Barros, G.M.S., Jesus, N.M., Silva, M.H. Rev. Bras. Saúde Prod. An. v.2.n.3, p.69-73, 2001.
- BALBASSIN JR., R. Aquecimento de água para limpeza com tanques resfriadores de leite. **Leite & Derivados**. n. 89. São Paulo, jan./fev. 2006.
- BENEDETTI, E.; PEDROSO, D.S.G. Efeitos da ordenha mecânica sobre a saúde do úbere. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.2, n.1, p.51-60, 1996.

BERGHASH, S. R., DAVIDSON, J. N., ARMSTRONG, J. C., and DUNNY, G. M. Effects of antibiotic treatment of nonlactating dairy cows on antibiotic resistance patterns of bovine mastitis pathogens. **Antimicrob. Agents Chemother.** v.24, p 771–776, 1983

BISHOP, J.R.; SENYK, G.F.; DUCAN, S.E. Detction of antibiotic/drug residues in milk and dairy products. *In*: MARSHALL, R.T. Standard methods for the examination of dairy products. 16 ed. Washington: **American Public Health Association**, 1992. cap.12, p347-395.

BLOOD, D. C.; HENDERSON, J. A. Medicina veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. p. 871.

BOISON, J.O.; KENG, L.J.Y. Multiresidue liquid chromatographic method for determining residues of mono and dibasic penicillins in bovine muscle tissues. **J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.**, v. 81, n. 6, p.1113-1120, 1998

BOISON, J.O.; KENG, L.J.Y.; MCNEIL, J.D. Analysis of penicillin G in milk by liquid chromatography. **J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.**, v. 77, n. 3, p.565-570, 1994.

BORGES, G.T.; SANTANA, A.P.; MESQUITA, A.J. de; MESQUITA, S.Q.P.; SILVA, L.A.F. da; NUNES, V. de Q. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v.1, n.1, p.59-63, 2000. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/viewFile/236/200>>. Acesso em: 22 mar. 2008.

BRABES, K. C. S.; CARVALHO, E. P.; DIONÍSIO, F. L.; PEREIRA, M. L.; GARINO, F.; COSTA, E. O. Participação de espécies coagulase positivas e negativas produtoras de enterotoxinas do gênero *Staphylococcus* na etiologia de casos de mastite bovina em propriedades de produção leiteira dos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **NAPGAMA**, v. 2, n.3, p. 4-11, 1999.

BRADY, M. S.; KATZ, S. E. 1998. Antibiotic/antimicrobial residues in milk. *Journal of food protection*, 51 (1), 8-11

BRANDÃO, S. C. C. Nova legislação comentada de produtos lácteos. **Revista Indústria de laticínios**. São Paulo, 2002.

BRASIL. Presidência da República. Decreto n.º 30.691 de 29 de março de 1952. **Regulamenta a Lei n.º 1.283 de 18 de dezembro de 1950, que dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Diário Oficial da União, Brasília, 7 de julho 1952.

BRASIL. Portaria n.72, de 03 junho de 1998. **Diário Oficial da União**, Brasília, n.107, 08 jun. 1998. Seção 1, p.131. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária estabelece o Programa de Controle e Resíduos Biológicos em Leite – PCRBL
BRASIL, Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n.º 42, de 20 de dezembro de 1999 – **Altera 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**.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002. **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.** Disponível em: <[http://puers.campus2.br/~thompson/Instrucao Normativa51.pdf](http://puers.campus2.br/~thompson/Instrucao%20Normativa51.pdf)>. Acesso em: 13 mar. 2009.

BRASIL. **Relatório 2002/2003 – Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo.** PAMVet. Anvisa. Brasil, 2005.

BRASIL. **Relatório 2004/2005 – Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo.** PAMVet. Anvisa. Brasil, 2006.

BRYAN, F.L. Current trends in foodborne salmonellosis in the United States and Canada. **J. Food Protect.** v.44, p.394, 1981.

BRESAN, M; MARTINS, M.C. Segurança alimentar na cadeia produtiva do leite e alguns desafios. **Revista Política Agrícola**, ano XIII, n.3, 2004.

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., CARVALHO, M.M., CAMPOS, O.F. (Ed.). **Gado de leite: 20 anos de pesquisa.** Juiz de Fora : Embrapa-CNPGL, 1997. p.227-240.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. Cuidados que fazem a diferença. In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **A qualidade do leite.** Juiz de Fora: Embrapa; São Paulo: Tortuga, 1998. p. 43 – 50.

BRITO, M.A.V.P. Normas internacionais e exigências do Codex Alimentarius e comparação entre blocos comerciais sobre a adoção de testes para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite. In: **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para indústria e a questão dos resíduos de antimicrobianos.** Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite; Epamig/ct/lct, 2003. 1ed. 168p.

BRITO, M.A.V.P.; CHARLES, T.P. Os males do leite com resíduos. In: BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **Sanidade do gado leiteiro.** Coronel Pacheco: EMBRAPA – CNPGL/São Paulo: Tortuga, 1995, p.63-70.

CALIL, R. M. Alguns cuidados básicos merecem mais atenção. **Leite & Derivados.** n. 89. São Paulo, jan./fev. 2006.

CANABRAVA, H.A.N.; GÓMEZ, F.G.; LARREA, M.I.A. Antimicrobianos em animais produtores de alimentos. **Revista Brasileira do Zebu e seus Cruzamentos**, Uberaba, v.1, n.6, p.96-98, fev.2002

CARSON, M.C. Simultaneous determination of multiple tetracycline residues in milk using chelate affinity chromatography. **J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.**, v. 76, n. 2, p. 329-334, 1993.

CERQUEIRA, M. M. O. P.; LEITE, M. O. Doenças transmissíveis pelo leite e derivados. **Cad. Tec. Esc. Vet. UFMG.** n. 13, 1995.

CODEX ALIMENTARIUS. Resíduos de medicamentos veterinários en los alimentos. 2ed., v. 3, Roma: Codex Alimentarius, 1993.

COELHO, V. R. P. Avaliação de resíduos de antimicrobianos no leite de quartos mamários não tratados de vacas com mastite tratadas por via intramamária. 2003 102 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP.

COHEN, M.L. Epidemiology of drug resistance: implications for a post anti-microbial era. *Science*, Washington DC, v.257, n.5073, p.1050-1055, 1992.

COMISSÃO EUROPEIA (2002). Commission Staff Working Paper on the Implementation of National Residue Monitoring Plans in the Member States in 2001, (Council Directive 96/23/EC). Disponível em: http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/control_en.htm Acesso: Novembro 2008.

CORASSIN, C.H.; OLIVEIRA, C. A. F. Aplicabilidade dos conjuntos para detecção de resíduos de antimicrobianos no leite em propriedades leiteiras. *O Biológico*, v. 62, n. 1, 2000.

COSBY, P. **Qualidade falando sério**. São Paulo: McGraw Hill, 1990.

COSTA, E. O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. São Paulo*, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 21-26, 1991.

COSTA, E. O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T.; WHITE, C. R.; PARDO, R. B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v. 17, n. 5, p. 215 - 217, 1995.

COSTA, E.O. Resíduos de antimicrobianos no leite: um risco à saúde do consumidor. *Higiene Alimentar*, São Paulo, 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.

COSTA, E.O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. DE S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. (Eds.). Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap 42,p.443-455.

CTENA, M. L. B.; PIROLI, M. Leite Longa Vida: Indispensável na cozinha saudável. São Paulo: Editora e Consultoria em Nutrição Ltda, 158 p.,1999.

CULLOR J. S. Antibiotic residue tests for mammary gland secretions. **Vet. Clin North Am. Food Anim. Pract.**, v. 9, n. 3, p. 609-620, 1993. Review.

CULLOR, J. S.; VAN EENENNAAM, A.; GARDNER, L.; PERANI, J.;DELLINGER, W.L.; SMITH, T.; THOMPSON, M.A.; PAYNE, L.; JENSEN, L.; GUTERBOCK, W.M. Performance of various tests used to screen antibiotics residues in milk samples from individual animals. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 77, p. 862-870, 1994.

CURRIE, D.; LYNAS, L.; KENNEDY, G.; Mc CAUGHEY, J. 1998. Evaluation of modified EC four plate method to detect antimicrobial drugs. *Food Addit Contaminants*, 15: 651-660

DAYAN, A.D. Allergy to antimicrobial residues in food-assessment of the risk to man. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.35, n.3-4, p.213-226, 1993.

DENOBILO, M. Análise de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência. São Paulo, 2002. 121p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

DEWDNEY, J.M., MAES, L., RAYNAUD, J.P., BLANC, F., SCHEID, J.P., JACKSON, T., LENS, S., VERSCHUEREN, C. Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food- -products with regard to their immunoallergic potential. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.29, n.7, p.477-483, 1991.

DÜRR, J. W. **Como produzir leite de alta qualidade**. Brasília: SENAI, 2005.

ENGLERT, S. I. Avicultura: tudo sobre raças, manejo, alimentação e sanidade. **Revista Avicultura** 4. ed. Porto Alegre: Agropecuária Ltda, 1982.

EURACHEM. The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics. Teddington, 1998. 61 p.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Codex Alimentarius. Rome, 1996. V.3 :Residues of veterinary drugs in foods: 91p.

FAURE, O. Detection des antibiotiques: vers l'evolution de la method officielle. **Rev. Fr. Lai.**, n. 578, p. 28-30, 1998.

FLETOURIS, D.J.; PSOMAS, J.E.; MANTIS, A.J. Determination of some monobasic penicillins in milk by ionpair liquid chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p.617-721, 1992.

FLOREZ, J. (1997). Farmacología humana (3ª ed.) Ed. Masson, Pamplona.

FOLLY, M.M.; MACHADO, S.C.A. Determinação de resíduos de antimicrobianos, utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imunoensaios no leite pasteurizado comercializado na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.95-98, 2001.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V.; PEREIRA, C. C. Qualidade higiênica do leite: efeitos sobre a qualidade dos produtos lácteos e estratégias de controle. In: VILELA D.; MARTINS, C. E.; BRESSAN, M.; CARVALHO, L. A. (Ed.). Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar. Goiânia: CNPq; Serrana Nutrição Animal; Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 141-161.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. Qualidade do Leite e controle da mastite, São Paulo: Lemos Editorial, 2000, 175p.

GARINO JR, F.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; RIBEIRO, M. G.; COSTA, E. O. Avaliação da susceptibilidade “in vitro” aos antimicrobianos e pesquisa de produção de β -lactamase de cepas de *E. coli*, isoladas de mastite bovina. Revista NAPGAMA. v. 3, n. 2, p. 19-22, 2000.

GRANJA, R. Drogas Veterinárias e antibióticos: Um panorama geral em carnes. 5º Simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição. Balneário Camboriú – SC. Out. 2004.

GRIGGS, D. J., HALL, M. C., JIN, Y. F., and PIDDOCK, L. J. V.. 1994. Quinolone resistance in veterinary isolates of *Salmonella*. J. Antimicrob. Chemother. 33:1173–1189.

GIGANTE, M. L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P. de; SANTOS, M. V. (Org.). O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. 1. ed. Passo Fundo: UPF, 2004. p. 235 – 254.

HEESCHER, W., SUHREN, G. Antibiotics and sulfonamids in milk-significance, evaluation, maximum residue limits (MRLs) and concepts of detection from an international point-of-view. *Kieler Milch Wirts*, Kiel, v.45, n.1 p.43-60, 1993.

HONKANEN-BUZALSKI, T.;REYBROEK, W. Antimicrobials. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Monograph on residues and contaminants in milk and milk products.Brussels: International Dairy Federation, 1997.cap. 4, p.26-34.

IAMFES. International Association of milk, food and Environmental Sanitarians. Guia de procedimentos para a implantação do método de análise de perigos e pontos críticos de controle. Ed. Cítara, 1997.

ICMSF (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS). Microorganismos de los alimentos. 1. Técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza: Acribia. 1994. 804p.

JONES. G. M., and SEYMOUR ,E. H. 1988. Cowside antibiotic residue testing. *J. Dairy Sci.* v.71, p.2292-2296.

JONES, G.F; WARD ,G.E .(1990) Evaluation of systemic administration of gentamicin for treatment of coliform mastitis in cows. *J Am Vet Med Assoc* 197, 731-735.

KANG’ETHE, E. K. et al. Investigation of the risk of consuming marketed milk with antimicrobial residues in Kenya. *Food Control*, Guildford, v. 16, n. 4, p. 349-355, apr. 2005

KATZ, S.E.; SIEWIERSKI ,M. (1995): *Bacillus stearothermophilus* disc assay: a review. *Journal of AOAC International*, 78: 1408–1415.

KISER, J.S. Subtherapeutic uses of antibiotics and sulfonamides in animal agriculture. In: STEELE, J.H.; JUKES, T.H.; DUPONT, H.L.; CRAWFORD, L.M., eds. **Antibiotics, sulfonamides, and public health**. Boca Raton: CRC Press, 1984. v.1, p. 81-107 (CRC Handbook Series in Zoonoses section D).

LANGONI, H.; MENDONÇA, A. O.; DEVELLEY, A. Avaliação do uso da associação da bromexina com gentamicina no tratamento da mastite subclínica bovina. *NAPGAMA*, n. 1, p. 4-7, 2000.

LARANJA, L. F.; MACHADO, P. F. Ocorrência de mastite bovina em fazendas produtoras de leite B no estado de São Paulo. Piracicaba, *Revista Ciência Agrícola*, n. 3, p. 578- 585, 1994.

LEDERER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar: intoxicações alimentares**. São Paulo : Manole, 1991. p.205-215.

LEITE DPA. Goiânia, v.5, n. 52, jun. 2005. Edição especial.

LINDEMAYR, H., KNOBLER, R., KRAFT, D., and BAUMGARTNER, W. 1981. Challenge of penicillin-allergic volunteers with penicillin-contaminated meat. *Allergy* 36:471.

LOVINE, N.M., BLASER, M.J. (2004). Antibiotics in animal feed and spread of resistant *Campylobacter* from poultry to humans. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (6), 1158-1159.

MARTIN, B.S.; MORAGA, R. Evaluación de la técnica microbiológica con *Bacillus subtilis* BGA para la identificación de residuos de antimicrobianos en leche bovina. *Av. Cienc. Vet.*, v. 11, p. 43-48, 1996.

MARTÍNEZ, S. E. V. ¿Qué productos lácteos hay em el mercado, ¿Que exige el consumidor actual? Tendências y recomendaciones. In: FERNANDES, E. N. et al. (Ed.). **Tendências e avanços do agronegócio do leite nas Américas: mais leite, mais saúde**. 1. ed. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Porto Alegre: Associação Gaúcha de Laticinistas; Montevidéu: Fepale, 2006. Cap. 2, p. 29 – 54

MARTINS, P. C. A importância da qualidade do leite. In: CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. *Estratégia e competitividade na cadeia de produção do leite*. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 2005. p. 47 – 53.

MCINTOSH, C.; SHELDON, M. The new Delvotest SP: what are the implications for dry cow therapy? *Cattle Pract.*, v. 10, p. 119-123, 2002.

McEWEN, S. A.; BLACK, W. D.; MEEK, A. H. Antibiotic residue prevention methods, farm management, and occurrence of antibiotic residues in milk. *Journal of Dairy Science*, Savoy, v. 74, n. 7, p. 2128-2137, jul. 1991.

MEDEIROS, N.G.A., CARVALHO, M.G.X., SANTOS, M.G.O., Suely, CP.L. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v.18, n.124, p.85- 88, 2004

MEIRELES, A. J. O leite de consumo clandestino. In:-. *Planejamento, qualidade e*

globalização na indústria de laticínios: 1997 – 2000, um olhar incompleto. 1. ed. São Paulo: Cultura Editores Associados, 2000.

MERCER, H. D. 1975. Antimicrobial drugs in food-producing animals. **Vet. Clin. North Am.** 5:3.

MERCOSUL, Resolução GMC n.º 54/00 – Regulamento Técnico sobre limites máximos de resíduos de princípios ativos de medicamentos veterinários em produtos de origem animal.

MÍDIO, A. F. Toxicologia de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, p.181, 2000.

MINEO, H.; KANEKO, S. An analytical study of antibacterial residues in meat: the simultaneous determination of 23 antibiotics and 13 drugs using gas chromatography. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 34, n. 5, 1992.

MINIUSSI, J.T. Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. *In*: CHARLES, T.P., FURLONG, J. (Ed.). Doenças dos bovinos de leite adultos. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1992. p.169-174.

MITCHELL, J.M., GRIFFITHS, M.W.; MCEWEN, S.A.; MCNAB, W.B.; YEE, A. Antimicrobial drug residues in milk and meat; causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. *J. Food Prot.*, v. 61, n. 6, p. 742-745, 1998.

MOATS, W.A.; ANDERSON, K.L.; RUSHING, J.E.; WESEN, D.P. Comparison of a radioimmunoassay (Charm II) test with high-performance liquid chromatography for detection of oxytetracycline residues in milk samples from lactating cattle. *Am. J. Vet. Res.*, v. 56, n. 6, p. 795-800, 1995.

MOLINA, M. P., R. L.; ALTHAUS, S.; BALASCH, A.; TORRES, C.P.; FERNANDEZ, N. Evaluation of screening test for detection of antimicrobial residues in ewe milk. *J. Dairy Sci.* v.86, p.1947–1952, 2003.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. *In*: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P. de; SANTOS, M. V. (Org.). O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. 1. ed. Passo Fundo: UPF, 2004. p. 11 – 37.

MOURA, L.A., CARVALHO, P.B., PRERIRA, M.G., Qualidade de produtos alimentícios de origem animal. *Brasília Med.*v.38, n.1, p.13-19, 2001.

NASCIMENTO, G.G.F. DO; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. de Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. *Revista de Nutrição*, v.14, n.2, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

NATSKE, R.P.; EVERETT, R.W.; BRAY, D.R. Effect of drying off practices on mastitis infection. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.1828-1835, 1975.

NEU, H.C. The crisis in antibiotic resistance. *Science*, Washington DC, v.257, p.1064-1077, 1992.

NEUBAUER, G.D. Antibiotic residues: perception vs reality. **Bov. Pract.**, v.32, n. 1, p. 45-47, 1998.

NICKERSON, S.C. Immunological aspects of mammary involution. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.1665-1678, 1989.

OLIVER, S.P.; SORDILLO, S.P. Udder health in the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2584-2602, 1988.

OLIVEIRA, A.J., CARUSO, J.G.B. Leite: características, composição química, propriedades, obtenção higiênica, conservação e tratamento. *In*: CAMARGO, R. et al. (Ed.). **Tecnologia dos produtos agropecuários**. São Paulo : NOBEL, 1984. p.191-203.

OSTERAS, O.; EDGE, V.L.; and MARTIN, W.S (1999) Determinants of success or failure in the elimination of major mastitis pathogens in selective dry cow therapy. **Journal of Dairy Science** 82, 122-1231.

OUDEKIRK, L. A. Bacillus stearothermophilus disc assay for detection of residual penicillins in milk: collaborative study. **J. Assoc. Offic. Anal. Chem.** v. 62, p.985, 1979.

PAIGE, J.C. The issues of residues and human health. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, v. 23, n. 12, p. 1735 - 1736, 1998.

PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S., KRIEG, N.R. Microbiologia. São Paulo : Makron Books, 1996. v.2, p.22-40.

PETZ, M. Residue analysis for antibiotics. **Meat Focus Int.**, v. 5, n. 10, p. 352-353, 1996.

PORTUGAL, J. A. B. (coord.). O agronegócio do leite e os alimentos láteos funcionais. Juiz de Fora: **EPAMIG – ILCT**, jul. 2001.

PROGRAMA ALIMENTO SEGURO CAMPO; EMBRAPA GADO DE LEITE. Manual de segurança e qualidade para a produção leiteira. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2005. 55p.

RAIA, R.B.; COSTA E.O.; GARINO JÚNIOR, F.; WATANABE, E.T.; THIERS, F.O.; GROFF, M.R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antimicrobianos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Rev. Napgama**, São Paulo, v.2, n.1, p.4-8, 1999.

PYÖRÄLA, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 37, p. 211-216, 2002.

RADOSTITS, O. M.; LESLIE, W. B.; FETROW, J. Herd health. **Food Anim. Product. Med**, 1994.

RAIA, R.B. Jr. Influência da mastite na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite. 2001. 78p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.

RAIA, R.B.; COSTA E.O.; GARINO JÚNIOR, F. Interferência da ocorrência de inibidores naturais do leite sobre teste microbiológico comercial para detecção de resíduos de antimicrobianos. **Rev. Napgama**, São Paulo, v.6, n.1, p.10-14, 2003.

REGULAMENTO (CEE) nº 2377/90 do Conselho, de 26 de junho de 1990, que se estabelece um procedimento comunitário de fixação dos limites máximos de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos de origem animal. DO L 224 de 18.8.1990, p. 1-8

REGULAMENTO (CE) nº 508/1999 da Comissão de 4 de março de 1999 modifica os anexos I a IV do Regulamento (CEE) nº 2377/90 que se estabelece um procedimento comunitário de fixação dos limites máximos de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos de origem animal. DO L 60 de 9.3.1999, p. 16/52.

REGULAMENTO (CE) nº 1181/2002 da Comissão, de 1 de julho de 2002, que modifica o anexo I do Regulamento (CEE) nº 2377/90 que se estabelece um procedimento comunitário de fixação dos limites máximos de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos de origem animal. (Texto pertinente a efeitos do EEE). DO L 172 de 2.7.2002, p.13/20.

REYBROECK, W. Evaluation of screening test for the detection of antimicrobial residues in milk. In: SYMPOSIUM ON RESIDUES OF ANTIMICROBIAL DRUGS AND OTHER INHIBITORS IN MILK, Kiel, 1995.Proceedings. International Dairy Federation, 1995a. p.182-186.

ROSARIO, T.R. Avaliação da presença de resíduos de antibióticos no leite comercializado no município de Pirassununga, S.P. 2002. 89f. Dissertação de Mestrado– Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. Microorganismos psicrotróficos afetando a qualidade do leite. In.: 2º CURSO ONLINE QUALIDADE DO LEITE. São Paulo: [s.n.], 2002 CD-ROM.

SANTOS, M.V. Antibióticos: como não deixar resíduos no leite. Balde Branco, n.460, p.54-57, 2003.

SANTOS, M. V.; LIMA, V.R.; SANVIDO, G. B. Lácteos: benefícios para a saúde humana. **Revista Balde Branco**. São Paulo, v. 39, n. 474, p. 54 – 60, abr. 2004.

SBAMPATO, C.G.; ABREU, L.R.; MENDONÇA, A.T. Aspectos tecnológicos da fabricação de iogurte e queijo utilizando leite com resíduos de antimicrobianos. **Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v.54, n.313, p.13-19, mar/abr. 2000.

SEYMOUR, E.H.; JONES, G.M.; McGilliard, M.L. Comparisons of on-farm screening tests for detection of antibiotic residues. **J. Dairy Sci.**, v.71, p.539-544, 1988.

SISCHO, W.M.; BURNS, C.M. Field trial of four cowside antibiotic residue screening test. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**Schaumburg, v.202, p.1249-1254, 1993.

SCHRODER, J. (1989). Enrofloxacin: a new antimicrobial agent. **J. S. Afr. Vet. Assoc.**, 60(2), 122-124.

- SHITANDI, A. & GATHONI, K. Laboratory evaluation of the improved tube test detection limits for β -lactam residues in Kenyan milk. *African Journal of Biotechnology*, Nairobi, v. 3, n. 1, p. 82-87, jan. 2004.
- SMITH, B. P. Tratado de medicina interna de grandes animais: moléstias de eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos. v. 2, p. 1056 – 1057. 1994.
- SOUZA, N.G., BENEDET, H.D. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite de consumo no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínio Candido Tostes**, Juiz de Fora, v.55, n.315, p.156-161, 2000.
- SPINOSA, H. S. Antibióticos: tetraciclina, cloranfenicol e análogos. In: H.S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia aplicada medicina veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.333-336.
- SPINOSA, H. DE S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. (Eds.). *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap 42, p.443-455.
- STILWELL, G.; GONÇALVES, A. R. Antimicrobianoterapia Prática na clínica de Bovinos. Congresso de Ciências Veterinárias, outubro, 2002, p. 119-126.
- TACHIZAWA, T.; SAICO, O. Organização flexível – Qualidade na gestão por processos, São Paulo: Atlas, 1997.
- TADDIO, S. J. Drugs of choice for pregnant woman, in maternal-fetal toxicidad a clinican´s guide. 2 ed. rev. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 115-28.
- TAPONEN, S.; JANTUNEN, A.; PYÖRÄLÄ, E. (2003) Efficacy of targeted five day parenteral and intramammary treatment of clinical *Staphylococcus aureus* mastitis caused by penicillin-susceptible or penicillin-resistant bacterial isolate. *Acta vet Scand* 44, 53-62.
- TETZNER, T.A.D.; BENEDETTI, E. Prevalência de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru na região do Triângulo Mineiro. 2005. Disponível em: <<http://www.girleiteiro.org.br/artigos.asp>>. Acesso em: 15 mar. 2009.
- THACKER, J.D.; CASALE, E.S.; TUCKER, C.M. Imunoassays (ELISA) for rapid, quantitative analysis in the food-processing industry. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44, p.2680-2685, 1996.
- THIERS, F.O.; BENITES, N.R.; RIBEIRO, A.R.; COSTA, E.O. Correlação entre contagem direta de células somáticas e o teste de “California Mastitis Test” (CMT) no leite de vacas. *NAPGAMA*, v.2, n.4, p.9-12, 1999
- THRUSFIELD, M. 2004. *Epidemiologia Veterinária*. 2. ed. São Paulo: Roca, 556p.
- TORTORRA, G.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Drogas antimicrobianas. In: TORTORA, G.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. p. 531-552.
- TRONCO, V.M. Antibióticos no leite. In: *Manual Para Inspeção da Qualidade do Leite*. Santa Maria: UFSM. 1997.

USP (2000). Drug Information for the Healthcare Professional. Thomson Micromedex, Greenwood Village, Colorado, 2000.

VIALTA, A.; MORENO, I.; VALLE, J. L. E. Boas práticas de fabricação, higienização, análises de perigos e pontos críticos de controle: requeijão. **Revista Indústria de Laticínios**, n. 37. São Paulo, jan./fev.2002.

VILELA, S.C. Identificação rápida de resíduos de antimicrobianos no leite. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.115, p.55-56, 1984.

ZIV, G. 1980. Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy. Intramammary treatment. *Vet.Med/small Anim.Clin.* 657,

WEBSTER, M.F. Um modelo de melhoria contínua aplicada a redução de riscos no ambiente de trabalho. 2001. 202f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

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

WEY, S.B. Bactérias multi-resistentes: podemos minimizar este problema? Anais do 1º Encontro de Doenças Infecciosas Adquiridas na Comunidade e no Ambiente Hospitalar. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, v.70, n.2, p.97-110, 1996.

WHITTEM, T; HANLON, D. (1997) Dihydrostreptomycin or streptomycin in combination with penicillin in dairy cattle therapeutics: a review and re-analysis of published data, Part 1: Clinical pharmacology. *New Zealand Vet J* 45, 178-184. Wilson DJ, Gonzalez RN, Case KL et al. (1999)

WOODWARD, K.N. Hypersensitivity in humans and exposure to veterinary drugs. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v.33, n.2, p.168-172, 1991.

ANEXO

Anexo A. Produtos de uso veterinário empregados no tratamento da mastite.

Produto	Laboratório
Advocin® 180	Pfizer
Agrobiótico Solução Extemporânea	Champion
Agrodel	Jofadel Indústria Farmacêutica S/A
Agrodel Plus Com Antiinflamatório	Jofadel Indústria Farmacêutica S/A
Agromastit* Antimastite	Indústria Farmacêutica Vitalfarma Ltda
Agrosil	Vansil Laboratório Veterinário
Agrothal Com Antiinflamatório	Pharmalogic/Minerthal
Agrovet 5.000.000	Novartis
Agrovet Plus	Novartis
Agrovet Ps	Novartis
Albadry® Plus Suspensão	Pfizer
Amoclox S	Sespo - Divisão Vetbrands Saude Animal
Anamastit L - 200	Univet
Anamastit S	Univet
Bactrosina	Bayer
Baytril Injetável 10%	Bayer
Bio Pen	Calbos
Biogental-La	Mogivet
Biomox 20% Ps	Ceva
Borgal®	Intervet
Bovigam L	Bayer
Bovigam Vs	Bayer
Bravecilin Forte	Laboratório Bravet Ltda
Calbiótico	Calbos
Cefa-Lak	Fort Dodge
Cefa-Dri	Fort Dodge
Cefavet	Sespo - Divisão Vetbrands Saude Animal
Cepravin® - Anti-Mastitico Para Vacas Secas	Schering-Plough
Chemitril Injetável 10%	Chemitec
Clamoxyl® La	Pfizer
Cloxacum	Hertape Calier Saúde Animal S/A
Cobactan®	Intervet
Cobactan® VI	Intervet
Coxulid Plus	Novartis
Curinfec	Provet Simões
Cyamicina*La 20%	Fort Dodge
Danetril Plus	Indubras
Diclofen 10 Milhões - Grande Porte	J.A.
Diclofen 3 Milhões-Pequeno Porte	J.A.
Diclofen 5 Milhões - Médio Porte	J.A.
Diclotril	J.A.
Doxiciclina Univet Solução Injetável	Univet
Doxigram 10	Interchange Veterinária
Ememast® Plus	Merial
Ememast® Vs	Merial
Enro Flec 10% Injetável	Vansil Laboratório Veterinário
Enrofloxacina 10%	Tortuga Cia Zootécnica Agrária
Enrotec 50 Injetável	Fatec S.A.
Estreptomax Injetável	Ouro Fino
Flotril® 10%	Schering-Plough
Estreptomicina	Fort Dodge
Floxivet® Plus 10%	Intervet
Fortlozin	Vansil Laboratório Veterinário
Genta F	Trajectoria

Gentaflex	Pearson Saúde Animal
Gentasil	Vansil Laboratório Veterinário
Gentatec Mastite 250 Mg	Chemitec
Gentatec Vaca Seca	Chemitec
Gentatec®	Chemitec
Gentocin® Mastite 150mg	Schering-Plough
Gentocin® Mastite 250mg	Schering-Plough
Gentocin® Mastite Vaca Seca	Schering-Plough
Gentrin Injetável	Ouro Fino
Ibatrim Injetável	Laboratório Ibase Ltda
Intramast	Vallée
Kanainjecto 250	Fatec S.A.
Mamithal Com Antiinflamatório	Pharmalogic/Minerthal
Mastical	Calbos
MasticeL	Mogivet
Masticine L Plus	Swissbras Chemical
Masticine S Plus	Swissbras Chemical
Mastifin	Ouro Fino
Mastifin Vaca Seca	Ouro Fino
Mastijet® Forte	Intervet
Mastijet® Vaca Seca	Intervet
Mastilac	Leivas Leite S/A
Mastiplus Intramamário VI Suspensão Antibiótica/Antifúngica	Vitafort
Mastissulfa	J.A.
Mastivet Intramamário	Champion
Mastizone	Uzinas Químicas Brasileiras S/A
Mastizone V.S. (Vaca Seca)	Uzinas Químicas Brasileiras S/A
Mastyclox - L	Jofadel Indústria Farmacêutica S/A
Mogipen	Mogivet
Nafpenzal® S	Intervet
Neomastic	Calbos
Newmast	Pearson Saúde Animal
Norflomax Injetável	Ouro Fino
Novapen 10.000.000 U. I	Trajatória
Ourotetra	Ouro Fino
Ourotetra L.A.	Ouro Fino
Ourotetra Plus L.A.	Ouro Fino
Oxiplus La 200	Sespo - Divisão Vetbrands Saude Animal
Oxitec	Calbos
Oxitetraciclina L. A. 20% Injetável	Indústria Farmacêutica Vitalfarma Ltda
Oxitetraciclina L.A. Bayer	Bayer
Oxitrat- La Plus	Vallée
Oxitrat-La	Vallée
Oxivet La	Novartis
Pangram 10%	Virbac Do Brasil
Partocilina	Sespo - Divisão Vetbrands Saude Animal
Pathozone®	Pfizer
Pencivet® Plus Forte	Intervet
Pencivet® Plus Ppu	Intervet
Pencivet® Plus Superforte	Intervet
Penfort Ppu	Ouro Fino
Penfort Reforçado	Ouro Fino
Penikel L.A.	Sespo - Divisão Vetbrands Saude Animal
Penjet 7.000.000	Clarion
Penjet 7.000.000 Plus	Clarion
Penjet Plus Pronto Para Uso	Clarion
Penjet Ps Pronto Para Uso	Clarion
Pentabiótico* Veterinário Reforçado	Fort Dodge
Pentabiótico*Veterinário Pequeno Porte	Fort Dodge

[Pentacilin Grande Porte](#)
[Pentakel](#)
[Pirsue® Solução Estéril](#)
[Promastic](#)
[Pronto Pen](#)
[Pulmocilin Veterinário](#)
[Pulmodrazin Plus](#)
[Pulmodrazin Reforçado](#)
[Pulmodrazin Veterinário](#)
[Quinolon 10%](#)
[Quinolon 2,5%](#)
[Quinotril](#)
[Quinotril Plus](#)
[Reverin® La Plus](#)
[Rilexine 150 Injetável](#)
[Rilexine 200](#)
[Rilexine 500](#)
[Salcol](#)
[Selvitrex Injetável 10%](#)
[Selvitrex Injetável 2,5%](#)
[Septipen](#)
[Septipen Plus](#)
[Solutetra Endovenoso](#)
[Solutetra La](#)
[Solutetra Plus](#)
[Solutetra Pronto Para Uso](#)
[Streptomic](#)
[Sulfamax](#)
[Sulfatec Injetável](#)
[Supertrin Injetável](#)
[Supra Pen](#)
[Talcin 1g](#)
[Talcin Cp](#)
[Teldrin Ap](#)
[Terraflan La 200](#)
[Terralon 20% La](#)
[Tetrabion](#)
[Tetraciclina La Spv®](#)
[Tetra-Delta®](#)
[Tetradur](#)
[Tetralong L.A](#)
[Topcef](#)
[Topmast - Noxon \(Gentamicina\)](#)
[Tormicina 100](#)
[Tormicina La](#)
[Treciclin](#)
[Tribactan](#)
[Tribrissen® Injetável](#)
[Tridiazin Injetável](#)
[Tridox La](#)
[Tripin-Plus](#)
[Trissulfim Solução Injetável](#)
[Tyladen](#)
[Tylan 200 Líquido](#)
[Tylan 50 Injetável](#)
[Tylex 20% Injetável](#)
[Ungüento Intramamário](#)
[Vetimast](#)
[Vetimast Vs](#)
[Vitalpen Plus](#)

Fort Dodge
Sespo - Divisão Vetbrands Saude Animal
Pfizer
Vila Real Saúde Animal
Vallée
Pearson Saúde Animal
Pearson Saúde Animal
Pearson Saúde Animal
Pearson Saúde Animal
Laboratório Bravet Ltda
Laboratório Bravet Ltda
Vallée
Vallée
Intervet
Virbac Do Brasil
Virbac Do Brasil
Virbac Do Brasil
Ceva
Jofadel Indústria Farmacêutica S/A
Jofadel Indústria Farmacêutica S/A
Vallée
Vallée
Laboratório Ibasal Ltda
Laboratório Ibasal Ltda
Laboratório Ibasal Ltda
Laboratório Ibasal Ltda
Vallée
Vallée
Fatec S.A.
Pearson Saúde Animal
Vallée
Novartis
Novartis
Jofadel Indústria Farmacêutica S/A
Clarion
Virbac Do Brasil
Calbos
Schering-Plough
Pfizer
Meril
Uzinas Químicas Brasileiras S/A
Pearson Saúde Animal
Noxon
Tortuga Cia Zootécnica Agrária
Tortuga Cia Zootécnica Agrária
Champion
Clarion
Schering-Plough
Vansil Laboratório Veterinário
Laboratório Bravet Ltda
Sanphar
Ouro Fino
Sespo - Divisão Vetbrands Saude Animal
Elanco
Elanco
Indústria Farmacêutica Vitalfarma Ltda
Vallée
Novartis
Novartis
Indústria Farmacêutica Vitalfarma Ltda

[Vivaseg La B12](#)
[Vivatet La](#)

Clarion
Clarion

Fonte: <http://www.cpv.com.br/cpv/index.html> - Compêndio de Produtos Veterinários – SINDAN. acesso em 06/12/2007.