

08981  
CNPGL  
2000  
ex. 2  
FL-08981

ISSN 1517-4816  
Dezembro 2000  
Circular Técnica 60

# Resíduos de antimicrobianos no leite



*Maria Aparecida V. P. e Brito*

Resíduos de antimicrobianos no  
2000 FL - 08981



35133-2

**Embrapa**

**REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL**

**Presidente**

*Fernando Henrique Cardoso*

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO**

**Ministro**

*Marcus Vinícius Pratini de Moraes*

**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**

**Presidente**

*Alberto Duque Portugal*

**Diretoria**

*Dante Daniel Giacomelli Scolari  
Elza Ângela Battaglia Brito da Cunha  
José Roberto Rodrigues Peres*

**EMBRAPA GADO DE LEITE**

**Chefe-Geral**

*Duarte Vilela*

**Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento**

*Mário Luiz Martinez*

**Chefe Adjunto de Comunicação e Negócios**

*Matheus Bressan*

**Chefe Adjunto de Administração**

*Victor Ferreira de Souza*



---

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite  
Ministério da Agricultura e do Abastecimento*

**ISSN 1517-4816**

---

**CIRCULAR TÉCNICA Nº 60**

**Dezembro, 2000**

## **RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE**

*Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito*  
Pesquisadora da Embrapa Gado de Leite

**Embrapa Gado de Leite  
Área de Comunicação Empresarial - ACE  
Juiz de Fora - MG**

**Embrapa Gado de Leite - ACE. Circular Técnica, 60**  
Exemplares desta publicação podem ser solicitados a:  
Embrapa Gado de Leite  
Área de Negócios Tecnológicos - ANT  
Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco  
36038-330 Juiz de Fora, MG  
Telefone: (32)3249-4700  
Fax: (32)3249-4751  
e-mail: sac@cnppl.embrapa.br  
home page: <http://www.cnppl.embrapa.br>

Tiragem: 1.000 exemplares

#### **COMITÊ LOCAL DE PUBLICAÇÕES**

*Mário Luiz Martinez (Presidente)*  
*Maria Salete Martins (Secretária)*  
*Carlos Alberto dos Santos*  
*Carlos Eugênio Martins*  
*Jackson Silva e Oliveira*  
*John Furlong*  
*José Valente*  
*Luiz Carlos Takao Yamaguchi*  
*Luiz Sérgio de Almeida Camargo*  
*Margarida Mesquita de Carvalho*  
*Maria Aparecida V. Paiva e Brito*  
*Maria de Fátima Ávila Pires*

#### **ARTE, COMPOSIÇÃO E DIAGRAMAÇÃO**

*Angela de Fátima Araújo Oliveira*

#### **CAPA**

*Heloísa de Resende Salgado (estagiária)*

#### **REVISÃO LINGÜÍSTICA**

*Newton Luís de Almeida*

#### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

*Maria Salete Martins*

BRITO, M.A.V.P. e. Resíduos de antimicrobianos no leite. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 2000. 28p. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 60).

Leite; Qualidade; Resíduos antimicrobianos; Segurança alimentar.

ISSN 1517-4816

CDD. 637

© Embrapa, 2000

## ***Apresentação***

O leite é considerado como o alimento mais perfeito da natureza, sendo o principal alimento de recém-nascidos e crianças. É considerado pelos consumidores como exemplo de alimento nutritivo, seguro, saudável e natural.

Substâncias antimicrobianas são empregadas normalmente para tratamento e prevenção de mastite ou outras doenças do gado leiteiro. Quando são administradas em vacas em lactação, existe o potencial para aparecimento de resíduos no leite.

A contaminação do leite com resíduos de drogas ou outras substâncias químicas é um componente importante da segurança alimentar e preocupa o consumidor, que deseja receber um produto de alto valor nutritivo e livre de substâncias estranhas. É também motivo de preocupação para a indústria laticinista, porque os resíduos podem interferir na preparação dos produtos lácteos. Portanto, para que o leite possa manter a reputação de alimento seguro e nutritivo, deve estar livre de resíduos de antimicrobianos.

Esta publicação tem a finalidade de apresentar aspectos relacionados à presença de resíduos de antimicrobianos no leite, as conseqüências para a saúde do consumidor, a interferência com processamento lácteo, as principais causas do aparecimento de resíduos, os testes de detecção e destaca os principais pontos necessários para que estes sejam evitados.

*A autora*



# Sumário

## Apresentação

1. Agentes antimicrobianos .....	7
2. Resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal .....	7
3. O leite como veículo de resíduos de antimicrobianos .....	8
4. Ação toxicológica .....	8
4.1 Aspectos toxicológicos .....	10
5. Reações de hipersensibilidade ou alérgicas .....	12
6. Aspectos microbiológicos .....	13
7. Interferência nos processos de industrialização do leite .....	13
8. Origem dos resíduos de antimicrobianos no leite .....	14
9. Período de retirada do leite para o consumo .....	16
10. Cuidados no tratamento da mastite .....	18
11. Testes para a detecção de resíduos .....	19
11.1 Testes de inibição do crescimento bacteriano .....	20
11.2 Testes imunológicos, com base em receptores, enzimas e outros .....	21
12. Dados sobre o Brasil .....	22
13. Cuidados para se evitar resíduos de antimicrobianos no leite .....	23
14. Conclusões .....	24
15. Glossário .....	25
16. Bibliografia .....	26



## 1. AGENTES ANTIMICROBIANOS

Agentes antimicrobianos são substâncias usadas para inibir o crescimento ou inativar os microrganismos que se estabeleceram em um organismo vivo. Uma propriedade destas substâncias, que define seu uso na terapêutica, é a toxicidade seletiva, isto é, devem ter atuação restrita aos microrganismos, sem afetar as células do organismo hospedeiro. As substâncias antimicrobianas mais usadas são os antibióticos. Antibióticos são substâncias que ocorrem naturalmente e são produzidas total ou parcialmente por microrganismos. Os principais microrganismos produtores de antibióticos são os fungos. O termo quimioterápico é usado para designar os antimicrobianos produzidos totalmente por síntese química. Dentre estes, os mais comuns são as sulfonamidas e os nitrofuranos. Neste texto a palavra antimicrobiano será usada para designar tanto os antibióticos como os quimioterápicos.

## 2. RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

Logo após a utilização dos antimicrobianos para tratamento de doenças humanas, eles foram introduzidos na prática veterinária. Antes do final da II Guerra Mundial, infusões de penicilina foram usadas para tratamento de mastite em vacas. Em seguida, produtos injetáveis e formulações com estreptomicina, cloranfenicol, sulfas e tetraciclina tornaram-se disponíveis.

Atualmente, agentes antimicrobianos são usados na produção animal para prevenção ou tratamento de doenças e como aditivo alimentar. Neste último caso, com a finalidade de melhorar a eficiência e utilização dos alimentos, resultando no melhor desempenho produtivo dos animais. No tratamento de doenças infecciosas agudas, os antimicrobianos são usados, geralmente, por períodos relativamente curtos, de 1-7 dias. Quando utilizados como promotores de crescimento ou na prevenção de doenças, são administrados por longos períodos que podem corresponder a maior parte da vida do animal. Neste processo, os antimicrobianos ou seus derivados metabólicos podem se acumular ou depositar nas células, nos tecidos ou nos órgãos do animal. Quando vestígios destas substâncias são detectados posteriormente nos alimentos, são denominados de resíduos. As quantidades residuais de uma droga ou substância química e seus derivados são expressos em partes por peso ou volume, tais como, mg/kg ou mg/L (ppm),  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou  $\mu\text{g}/\text{L}$  (ppb).

Este documento trata de aspectos gerais do problema de resíduos de antimicrobianos no leite, e das conseqüências para a saúde pública e para a industrialização. Discute as bases dos principais testes para detecção de resíduos disponíveis no mercado e os principais aspectos a serem observados para se evitar a presença de resíduos de antimicrobianos no leite.

### **3. O LEITE COMO VEÍCULO DE RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS**

Um componente importante dos programas de saúde dos rebanhos leiteiros é o emprego de substâncias antimicrobianas para a prevenção ou para o tratamento de doenças, principalmente mastite e doenças do trato reprodutivo. Contudo, o uso disseminado dessas substâncias tem ocasionado o aparecimento de resíduos no leite ou nos produtos lácteos. Autoridades de Saúde Pública e consumidores se preocupam com os efeitos adversos decorrentes da exposição a esses resíduos em produtos e alimentos de origem animal.

A presença de resíduos interfere diretamente na qualidade do leite e nos processos industriais, além de constituir um problema de saúde pública. Com respeito à importância para a saúde pública, os aspectos toxicológico, desenvolvimento de reações de hipersensibilidade e microbiológico devem ser considerados.

### **4. AÇÃO TOXICOLÓGICA**

A avaliação toxicológica de resíduos de antimicrobianos nos alimentos em geral segue os princípios elaborados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e (Food Agriculture Organization - FAO), órgãos das Nações Unidas, definidos pela Comissão do Codex Alimentarius (Joint FAO/WHO Food Standards Programme). O risco toxicológico é avaliado determinando-se o nível de concentração da droga que não causa nenhum efeito adverso (NOEL) em animais (incluindo o homem). Com este valor, estima-se a concentração aceitável de ingestão diária da droga (ou dose diária aceitável, ADI). A ADI é a dose diária que, se ingerida durante toda a vida do indivíduo, não oferece risco apreciável à saúde, com base nos conhecimentos disponíveis no momento. Não oferecer risco apreciável significa a certeza prática de que uma exposição durante toda vida ao resíduo não resultará em efeitos deletérios à saúde. Valores de ADI são

sempre sujeitos a revisão, desde que novas informações se tornem disponíveis, e são expressos em miligrama da droga por quilograma de peso vivo (veja o glossário).

$$ADI = \frac{\text{Nível de efeito adverso negativo (NOEL)} \times 70}{\text{Fator de segurança (100, 1000)}}$$

ADI = mg/dia

NOEL = mg/kg em animais

70 = peso corporal médio dos consumidores

A concentração toxicologicamente tolerável do resíduo em um alimento pode ser calculada de acordo com a fórmula abaixo: TC (Concentração tolerável).

$$TC = \frac{ADI \times \text{peso corporal}}{\text{Fator de segurança adicional}} \times \text{kg do alimento consumido}$$

A partir da avaliação de cada substância, e baseando-se nos estudos do metabolismo e cinética de eliminação de resíduos, é determinado o limite máximo de resíduo (MRL, do inglês "Maximum Residue Limit"), permitido no alimento (veja glossário). Este deve ser sempre mais baixo que a concentração tolerável e não deve exceder a dose diária aceitável. A tolerância para uma droga ou resíduo químico no leite é estabelecida como a décima parte daquela da carne. Isto se deve ao fato de que o leite é o principal alimento da dieta de crianças e recém-nascidos, que são considerados mais sensíveis que os adultos. Tolerâncias são estabelecidas para compostos não-carcinogênicos. Para substâncias com ação carcinogênica, a tolerância admitida é zero.

Na Tabela 1 são apresentados os limites máximos permitidos de algumas substâncias antimicrobianas de acordo com regulamentações da FAO/OMS e da União Européia. Alguns desses valores estão estabelecidos, enquanto outros são preliminares e estão sujeitos a revisão, desde que novas informações sobre as substâncias se tornem disponíveis.

Tabela 1. Limite máximo permitido de resíduos de antimicrobianos no leite.

Substância	Limite máximo permitido no leite ( $\mu\text{g/L}$ )
Ampicilina	4
Amoxicilina	4
Cefapirina	20
Ceftiofur	100
Cloranfenicol	0
Clortetraciclina	100
Cloxacilina	30
Dihidroestreptomicina	200
Eritromicina	40
Espectinomicina	200
Espiramicina	200
Estreptomicina	200
Gentamicina	200
Neomicina	500
Oxitetraciclina	100
Penicilina	4
Sulfadimidina	25
Tetraciclina	100
Tilosina	50

Fonte: Compilado de FAO (1991) e de Heeschen & Suhren, 1993.

#### 4.1 Aspectos toxicológicos

Os principais aspectos toxicológicos dos resíduos de antimicrobianos no leite estão relacionados às seguintes ações:

- Carcinogênica: causam dano irreversível ao DNA celular, portanto, não se admitem resíduos para esta categoria de substâncias.
- Mutagênica: causam danos aos componentes genéticos das células ou organismos.
- Teratogênica: causam efeito tóxico ao embrião ou feto.

Alguns exemplos que evidenciam a importância de estudos para avaliar níveis de resíduos aceitáveis no leite são apresentados a seguir.

**Nitrofuranos:** Compreendem um grupo de compostos sintéticos derivados do anel furano, com um grupo nitro na posição 5. Estudos realizados com nitrofuranos marcados com <sup>14</sup>C mostraram que estes compostos podem se ligar às moléculas de DNA e RNA, levando ao rompimento de cadeias simples de DNA e até inibição da síntese de DNA. Em geral, os nitrofuranos são tóxicos para o material genético da célula e são mutagênicos em diferentes sistemas testados, bem como aumentam a frequência de tumores em animais de laboratório como ratos (ação carcinogênica). Uma ingestão diária de < 0,002 µg/kg de peso corporal equivale a um risco carcinogênico de menos de 1:10<sup>7</sup>.

**Cloranfenicol:** Em animais de experimentação observam-se efeitos adversos de cloranfenicol sobre a medula óssea. Supõe-se que esta ação seja conseqüência da ligação covalente de metabólitos do cloranfenicol, com ação sobre o DNA das células do indivíduo. Isto resulta em anemia aplástica em indivíduos susceptíveis (cerca de 1/40.000). Parece que este efeito é independente da dose.

Cloranfenicol foi avaliado pelo Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA). Entre outras afirmativas o Comitê salienta que "o mecanismo para a patogênese da anemia aplástica é desconhecido e não há um modelo animal conveniente para seu estudo. Assim, não pode ser estabelecido um nível ou uma dosagem em que não se observa nenhum efeito adverso (NOEL), e não pode ser alocada uma ADI para o cloranfenicol, porque não é possível assegurar que resíduos no tecido animal seria seguro para indivíduos susceptíveis". Portanto, não existe um nível aceitável de resíduo de cloranfenicol no leite.

O Comitê recomendou que deveriam ser feitos esforços para substituir ou proibir o uso de cloranfenicol para animais de produção, particularmente vacas em lactação, em que altos níveis de resíduos no leite são o problema principal. Em diversos países do mundo, o uso de cloranfenicol é aprovado somente para animais não utilizados como alimento humano<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> A Portaria nº 448/98 de 10/09/98 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, considerando que não é possível o estabelecimento dos limites máximos de resíduos para cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona na carne, leite e ovos, proíbe a fabricação, a importação, a comercialização e o emprego de preparações farmacêuticas de uso veterinário, de rações e de aditivos alimentares com estas substâncias para animais cujos produtos sejam destinados à alimentação humana.

**Sulfametazina:** Tem sido empregada por muitos anos em Medicina Veterinária, tanto com finalidade terapêutica como para melhorar a eficiência alimentar e como promotor de crescimento. Contudo, o "National Center for Toxicological Research" dos Estados Unidos apresentou resultados de pesquisa mostrando que sulfametazina causou adenomas de células foliculares na glândula tireóide de ratos e camundongos que foram dependentes da dose. Este efeito foi observado após administração de doses moderadas a elevadas de sulfametazina por períodos de 18 a 24 meses.

## 5. REAÇÕES DE HIPERSENSIBILIDADE OU ALÉRGICAS

Reações de hipersensibilidade ou reações alérgicas são reações imunológicas que aparecem após o indivíduo se expor ao antígeno e tornar-se sensibilizado. Após nova exposição, a reação imunológica ocorre e a alergia se manifesta. As reações de hipersensibilidade, por causa de substâncias antimicrobianas se manifestam, geralmente, como reação de pele (ex.: urticárias e dermatites) e (ou) sintomas envolvendo o sistema respiratório (rinite e asma brônquica). Reações alérgicas que resultam em choque anafilático são mais raras. Os fatores que influenciam a sensibilização incluem a intensidade, duração, via de administração e frequência de exposição ao alérgeno.

As penicilinas constituem o grupo mais importante de drogas que causam reações alérgicas, embora saiba-se que, em menor proporção, outros antimicrobianos, como tetraciclina, estreptomicina, sulfonamidas e derivados dos nitrofuranos, possam também ter essa ação. Considerando a hipersensibilidade à penicilina, supõe-se que as pequenas concentrações encontradas no leite como resíduo não induziriam à sensibilização. O risco do desenvolvimento de reações alérgicas se relaciona a uma pequena porcentagem de indivíduos alérgicos, previamente sensibilizados, que podem desenvolver reações sérias, mesmo com o consumo de quantidades muito pequenas da droga. Tem sido mostrado que concentrações tão pequenas quanto 3-9  $\mu\text{g}$  de penicilina no leite resultaram em reações alérgicas em indivíduos susceptíveis.

Em 1969 a OMS propôs que os limites para penicilina em leite de consumo humano não deveriam exceder 0,006  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (0,01 UI/mL). Nos países da Comunidade Européia o nível máximo permitido de 0,004  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ou 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ppb) foi introduzido para penicilina G em 1985. Considera-se que a principal via de contaminação do leite com penicilina é após o tratamento intramamário de mastite bovina, quando o leite não foi retirado do consumo durante o período de excreção da droga.

## **6. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS**

Os resíduos de antimicrobianos no leite podem ter ação sobre microrganismos do ambiente e da flora intestinal levando a um aumento de bactérias resistentes, devido à pressão seletiva.

Uma bactéria pode se tornar resistente a um antimicrobiano por meio de mutação no seu cromossoma ou por infecção por um plasmídio. No primeiro caso a mutação pode surgir espontaneamente, em proporções determinadas. No segundo caso, os genes da resistência estão presentes em fragmentos de DNA extra-cromossomiais (plasmídios). Os plasmídios podem ser transferidos de uma célula bacteriana para outra dentro da mesma espécie ou até mesmo entre espécies diferentes, transferindo a resistência. Este último mecanismo apresenta maior problema, porque é mais prevalente e pode envolver a transferência de resistência a múltiplos agentes.

Os agentes antimicrobianos, portanto, não induzem resistência nas bactérias, mas atuam como agentes seletivos, inibindo as bactérias sensíveis e permitindo o crescimento e multiplicação das resistentes. Sob a pressão seletiva dos antimicrobianos, o número de bactérias resistentes aumenta, podendo tornar-se a flora dominante e até persistir por semanas após a cessação de seu uso. Uma bactéria é considerada resistente a um agente antimicrobiano se a menor concentração necessária para inibir seu crescimento (concentração mínima inibitória: veja o glossário) for maior do que a concentração atingida nos tecidos do animal durante o tratamento. A ocorrência de bactérias com resistência múltipla no ambiente tem sido um fenômeno freqüente. Muitos pesquisadores acreditam que este fenômeno tem sido o resultado do uso extensivo de antimicrobianos, tanto em medicina humana como na veterinária.

A administração de quantidades subterapêuticas de antibióticos ocasiona um aumento na freqüência de bactérias resistentes, tanto no homem quanto nos animais. Nesse sentido, a presença de resíduos de antimicrobianos no leite pode ter um efeito adverso na flora intestinal humana, prejudicando sua ação protetora local, além de propiciar a manutenção de uma flora resistente.

O risco para a saúde humana decorre de infecções por microrganismos resistentes ou transferência de resistência a bactérias patogênicas, podendo prejudicar o tratamento posteriormente.

## **7. INTERFERÊNCIA NOS PROCESSOS DE INDUSTRIALIZAÇÃO DO LEITE**

A presença de resíduos de antimicrobianos no leite pode causar prejuízos consideráveis para a indústria laticinista. Quantidades pequenas

podem inibir culturas lácteas sensíveis, utilizadas na fabricação de queijos, iogurtes e de outros produtos (Tabela 2). O leite com resíduos de antimicrobianos apresenta problemas na acidificação e na textura dos queijos, acidificação e formação de odores desfavoráveis na manteiga e no creme, inibição dos cultivos do iogurte e outros produtos fermentados. Além disso, a prova de redutase, utilizada para controle de qualidade do leite, pode indicar uma qualidade aparentemente boa, o que não é verdade.

Tabela 2. Concentração média de antibióticos ( $\mu\text{g/mL}$ ) requerida para inibir em 50% o crescimento de bactérias usadas na fabricação de queijos e iogurte.

Antibióticos	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>	Culturas comerciais
Penicilina G	0,12	0,11	0,13
Cloxacilina	2,2	1,68	1,86
Tetraciclina	0,14	0,14	0,11
Estreptomícina	0,53	0,67	0,57

Fonte: Cogan, 1972.

A pasteurização tem pouco ou nenhum efeito no conteúdo de antimicrobianos do leite. O cloranfenicol é completamente resistente ao aquecimento a 100°C. A fervura ou o aquecimento do leite a 100°C destrói estes antibióticos nas seguintes porcentagens: penicilina: 50%, estreptomícina: 66% e oxitetraciclina e tetraciclina: 90%.

## 8. ORIGEM DOS RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE

A contaminação do leite de consumo por antimicrobianos é decorrente do tratamento de vacas em lactação por problemas de mastite, metrite ou outra doença infecciosa, ou como resultado do tratamento durante o período seco para controlar mastite. Após a aplicação pelas vias parenteral, oral e intra-uterina, os antimicrobianos passam do sangue para o leite. Mesmo após a aplicação intramamária, ocorre a passagem para o sangue e daí para o leite. O aparecimento de resíduos em quartos não tratados, após tratamento intramamário, se deve a essa passagem via corrente sanguínea, e não pela passagem direta de um quarto para outro.

A excreção de antimicrobianos no leite varia de produto para produto. Após aplicação intravenosa, dependendo do tipo de preparação e da dose administrada, poderão aparecer resíduos por um período de 12 a

48 horas. O padrão de excreção após aplicação intramuscular é semelhante ao da aplicação intravenosa, só que o período de excreção é prolongado (entre 6 a 150 horas). Os produtos utilizados para tratamento durante a lactação, por via intramamária, geralmente apresentam um período de excreção entre 24 e 96 horas. Preparações de bases oleosas podem ser excretadas em até sete dias, não sendo recomendadas para tratamento de vacas em lactação. A administração intramamária de antibióticos para tratamento de mastite é considerada a principal fonte de contaminação do leite.

Um levantamento realizado no Reino Unido (Booth & Harding, 1986) mostrou que, de 3.484 casos de contaminação do leite com antibióticos, 80% foram devidos a tratamento intramamário para mastite. Mais de 50% dos casos de contaminação foram relacionados com o tratamento intramamário durante a lactação e aproximadamente 27%, resultado do tratamento à secagem. As principais razões para o aparecimento de resíduos foram:

- não-observação de um período de carência para a retirada do leite para consumo humano após o tratamento (16,5%);
- mistura acidental do leite contaminado com antibiótico ao não-contaminado (16,7%);
- excreção prolongada do antibiótico (8,2%);
- parições antes do período esperado (7,3%);
- contaminação dos equipamentos de ordenha (7,2%).

Outras causas observadas foram: ordenha acidental de vacas no período seco, descarte somente do leite dos quartos tratados, deficiência ou falta de anotação dos tratamentos realizados, não-identificação das vacas tratadas ou perda da identificação, falha de notificação do período de retirada do leite para consumo e uso de produtos indicados para o período seco durante a lactação.

Quando uma vaca tratada com antibiótico pela via intramamária é ordenhada mecanicamente, mesmo que o leite seja recolhido separadamente, um pequeno volume de leite é retido nas tubulações ou nos recipientes coletores. Em um estudo realizado por Pugh et al. (1977), este volume foi de aproximadamente 25 mL e foi suficiente para contaminar o leite produzido por até 20 vacas. Por esta razão, recomenda-se ordenhar as vacas tratadas separadamente.

## 9. PERÍODO DE RETIRADA DO LEITE PARA O CONSUMO

Este período corresponde ao intervalo de tempo após a administração da última dose do antimicrobiano até o leite estar seguro para o consumo. Neste período, a concentração detectável da substância cairá para dentro de limites estabelecidos. Este intervalo é necessário para prevenir o aparecimento de resíduos.

A persistência dos resíduos de antimicrobianos no leite depende de uma série de fatores, tais como o tipo da preparação que está sendo usada (substância ativa e formulação), dosagem empregada, intervalo entre o início do tratamento e a primeira ordenha, absorção pelos tecidos do úbere, quantidade de leite produzido no momento do tratamento, o estado de saúde e fatores individuais do animal. Na Tabela 3 são apresentados dados de resíduos de benzil penicilina no leite após administração de doses variáveis pelas vias intramuscular e intramamária. As avaliações foram feitas após a administração da primeira dose. Cada valor corresponde à média de cinco animais e o valor mais alto foi colocado em baixo, entre parênteses. Como pode ser observado, a persistência foi afetada pela formulação do produto comercial. Os animais tratados pela via intramuscular (tratamentos A, B, C e D) receberam a mesma dosagem do antimicrobiano. Dentre estes tratamentos, o que deu origem a menos resíduos no leite foi o A, em que os antimicrobianos foram preparados em solução aquosa. Algumas preparações, como, por exemplo, a que continha polivinilpirrolidona (tratamento B) e lecitina (tratamento D) foram eliminadas por mais tempo. As preparações usadas nos tratamentos intramamários foram em bases oleosas. O período de eliminação foi influenciado pela base e pela dosagem empregada.

Os produtos desenvolvidos para tratamento durante a lactação e para o período seco diferem na formulação do antibiótico. Os primeiros são liberados mais rapidamente porque são, geralmente, sais solúveis em bases de liberação rápida. Os produtos para tratamento no período seco são, geralmente, sais insolúveis em bases de ação longa, para permitir a liberação contínua do antibiótico no úbere por várias semanas. Por exemplo, o tempo de persistência de penicilina benzatina no organismo é superior a três semanas. Portanto, o tratamento de uma vaca com esta droga deve ser no mínimo 28 a 30 dias antes do parto ou no início do período seco.

Tabela 3. Resíduos de benzil penicilina no leite ( $\mu\text{g/L}$ ) após aplicação intramuscular e intramamária de benzilpenicilina procaína (PBP) e (ou) benzilpenicilina (BP). As informações sobre os tratamentos (A, B, C, D, E, F e G) e doses utilizadas são dadas abaixo. Cada valor corresponde à média de cinco animais e o valor mais alto encontrado está colocado entre colchetes.

Ordenha Nº	Intramuscular				Intramamária		
	A <sup>1,2</sup>	B	C	D	E	F	G
-2	126 [168]	90 [150]	72 [108]	126 [216]	29100 [42000]	174600 [234000]	34800 [48000]
-1	21 [35]	22 [80]	41 [84]	40 [78]	1590 [3072]	109380 [192000]	420 [870]
1	114 [162]	120 [246]	90 [132]	120 [246]	51650 [76800]	173400 [264000]	20520 [31200]
2	23 [27]	34 [71]	38 [85]	29 [53]	3096 [8040]	5556 [11700]	184 [405]
3	7 [15]	16 [36]	20 [56]	11 [18]	329 [636]	331 [690]	15 [48]
4	2 [4]	5 [16]	8 [28]	13 [13]	48 [140]	26 [34]	1 [4]
5	ND <sup>3</sup>	4 [11]	2 [10]	2 [8]	7 [23]	4 [7]	< 1 [2]
6	ND	2 [7]	2 [4]	1 [5]	1 [5]	1 [2]	< 1 [1]
7	ND	1 [5]	< 1 [2]	< 1 [3]	< 1 [2]	< 1 [< 1]	ND
8	ND	< 1 [1]	ND	< 1 [3]	< 1 [1]	ND	ND
9	ND	ND	ND	ND	< 1 [1]	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

<sup>1</sup> Tratamentos utilizados: A: 40% BP, 60% PBP em solução aquosa; B: PBP e dihidroestreptomicina em solução aquosa com polivinilpirrolidona; C: B mais lecitina; D: B mais carboximetilcelulose; E: PBP mais sulfato de neomicina em álcool e petrolato; F: PBP mais dihidroestreptomicina, polisorbato 80 e sílica coloidal em propileno glicolésteres de ácidos graxos saturados; G: PBP e glicerolmonoestearato em óleo de amendoim.

<sup>2</sup> Dosagens utilizadas nos tratamentos citados acima: A,B,C,D: duas injeções intramuscular de 6,0 mg/kg peso corporal cada 24 horas; E: duas aplicações de 270 mg/quarto cada 24 horas; F: Três aplicações de 600 mg/quarto mamário após três ordenhas consecutivas; G: duas aplicações de 60 mg/quarto com 24 horas de separação entre elas.

<sup>3</sup> ND: Nenhum resíduo detectado.

Fonte: FAO, 1991.

Estudos baseados em esgotamento do úbere, empregando-se testes quantitativos, são utilizados para determinar o tempo em que o antibiótico está sendo excretado e, conseqüentemente, determinar o período no qual o leite não deve ser enviado para consumo. Como este período varia de produto para produto, cada preparação comercial deve indicar claramente na bula o período em que o leite deve ser retirado do consumo humano e este prazo deve ser rigorosamente respeitado. Os antimicrobianos que não trazem este tipo de informação não devem ser usados em vacas em lactação cujo leite é destinado ao consumo humano, seja na forma de leite fluido, seja na forma de derivados lácteos. Os produtos indicados para tratamento no início do período seco devem propiciar concentrações abaixo da permitida no quarto dia após o parto.

Sempre que um antimicrobiano é recomendado para tratamento de vacas em lactação ou no início do período seco, o produtor e o veterinário responsável devem estar familiarizados com o período de tempo em que o leite deve ser retirado do consumo. É muito importante que o veterinário alerte o produtor para a necessidade de observar este período após o tratamento.

## **10. CUIDADOS NO TRATAMENTO DA MASTITE**

A administração de antimicrobianos para tratamento da mastite é a fonte mais importante de contaminação do leite com resíduos. A mastite é uma doença multifatorial, e para que ela seja controlada em um rebanho, é necessário um conjunto de ações, dirigidas para o animal, o ambiente, o homem, o manejo, as instalações etc. É necessária a adoção de medidas que incluam higiene durante a ordenha, higiene do ordenhador, controle dos equipamentos de ordenha e manutenção de ambiente limpo e seco para as vacas. Neste processo não existem atalhos ou abreviações e a alternativa é a observância rígida e permanente de um conjunto de medidas profiláticas e higiênicas.

Não se deve esquecer a ação benéfica dos antimicrobianos para tratamento dos casos clínicos, mas o controle da mastite subclínica requer um enfoque racional e não deve ser baseado na utilização de antimicrobianos durante a lactação. O tratamento deve ser realizado ao se interromper a lactação, no momento da secagem da vaca. Resultados de pesquisa de vários países que possuem uma indústria leiteira desenvolvida apontam nesta direção. Há necessidade, portanto, de um programa de controle da mastite que considere as características da doença e a

utilização estratégica dos antimicrobianos. O tratamento deve ser norteado pelos objetivos básicos citados abaixo (Bramley et al., 1996).

A preocupação central do tratamento da mastite deve ser com a saúde, o bem-estar animal e a segurança alimentar.  
Os objetivos básicos da terapia antimicrobiana na mastite devem incluir:

1. Retorno à produção e composição normal do leite
2. Prevenção da mortalidade dos casos agudos
3. Eliminação dos microrganismos infecciosos
4. Prevenção de novas infecções durante o período seco
5. Eliminação de práticas que possam ocasionar resíduos de antimicrobianos no leite

Para que esses objetivos possam ser atingidos, é necessária a execução contínua de um programa de controle da mastite, uso cuidadoso de antibióticos e outros medicamentos e anotação de todos os tratamentos realizados.

Outro aspecto que deve ser considerado quanto ao tratamento da mastite é que os antimicrobianos têm sido, muitas vezes, usados de modo indiscriminado, isto é, intensivo e com alternância elevada dos princípios ativos disponíveis. Muitas vezes, considera-se que a não-atuação de um antimicrobiano é resultado da resistência dos microrganismos, enquanto outros fatores poderiam ser responsabilizados. Problemas relacionados à baixa dosagem, duração inadequada do tratamento, formulação que não propicia uma boa difusão no úbere ou o alcance do sítio da infecção, podem ser responsáveis por falhas do tratamento, mesmo quando resultados de laboratório apontam para a sensibilidade da droga.

## **11. TESTES PARA A DETECÇÃO DE RESÍDUOS**

Logo após a introdução de antimicrobianos para tratamento de infecções em vacas leiteiras, foram observados os efeitos adversos do leite de vacas tratadas nos produtos lácteos fermentados. As perdas econômicas decorrentes de falhas na fermentação, a influência dos antibióticos em determinados testes e os riscos do desenvolvimento de reações alérgicas e tóxicas nos indivíduos levaram ao desenvolvimento de testes para a detecção de resíduos no leite.

Atualmente, há vários métodos descritos com essa finalidade. Estes se baseiam na inibição do crescimento bacteriano, na ligação a receptores específicos, em reações imunológicas ou enzimáticas e na separação, identificação e quantificação do antimicrobiano por meio de técnicas de cromatografia gasosa ou líquida. Os testes podem dar um resultado qualitativo, quantitativo ou semiquantitativo. Os testes qualitativos darão resultado positivo ou negativo em relação a uma concentração determinada da droga. Os quantitativos permitem a quantificação dos resíduos, enquanto os semiquantitativos darão resultados em relação a uma faixa de concentração da droga, por exemplo, negativo, fracamente positivo e fortemente positivo.

A maioria dos testes comerciais disponíveis para aplicação no campo são qualitativos ou semiquantitativos, e são classificados como testes de triagem. O teste de triagem deve fornecer uma indicação segura e confiável da ausência do resíduos na amostra em teste. Para isso devem possuir um limite de detecção abaixo do limite máximo de resíduo permitido para cada antimicrobiano.

### 11.1 Testes de inibição do crescimento bacteriano

Estes testes baseiam-se na propriedade geral de que todos os antimicrobianos inibem bactérias sensíveis. A amostra de leite é colocada em contato com um microrganismo sensível. Adicionam-se nutrientes e após um período de incubação, se houver a presença de resíduos, nota-se a ausência do crescimento bacteriano. Na ausência de resíduos, o crescimento bacteriano é evidenciado pela produção de ácido, redução de corantes ou formação de uma camada visível de crescimento na superfície de ágar.

O método da difusão em ágar utilizando discos de papel de filtro impregnados com as amostras de leite tem sido adotado oficialmente em muitos países. A bactéria *Bacillus stearothermophilus* é usada e apresenta alta sensibilidade à penicilina G: 0,006 UI/mL. Esta amostra apresenta também sensibilidade conhecida para outros antimicrobianos. Antes da realização do teste no leite cru, a amostra deve ser aquecida a 82°C por dois minutos numa tentativa de controlar substâncias inibidoras naturais que possam estar presentes e também para reduzir o número de microrganismos. O tempo de incubação para a leitura é de duas horas e meia a cinco horas. A presença de antimicrobianos no leite é indicada pelo aparecimento de uma zona clara de inibição do crescimento bacteriano, em volta do disco. O tamanho da zona depende da concentração da substância inibitória presente no leite.

Este tipo de teste não permite a especificação e quantificação da substância inibitória presente. A adição de certas substâncias à amostra positiva e a reanálise permite fazer determinadas identificações. Por exemplo, a adição de penicilinase permite confirmar se a substância inibidora é penicilina. Para confirmar a presença de sulfonamidas, faz-se o mesmo procedimento adicionando-se ácido p-amino benzóico. Se não aparecer a zona de inibição ou se aparecer uma zona de inibição menor do que a observada previamente, significa que a amostra continha penicilina (quando se adiciona penicilinase), ou sulfonamidas (quando se adiciona ácido p-amino benzóico).

Outras amostras de bactérias usadas em testes de inibição do crescimento são: *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Sarcina lutea* e as bactérias do iogurte (cultura mista de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*). O limite de detecção destas amostras de bactéria para diversos antimicrobianos é conhecido, podendo haver variação nestes limites com a amostra utilizada e com o teste empregado. Não existe um teste de inibição do crescimento bacteriano que detecte todos os antimicrobianos dentro dos limites máximos de resíduos permitidos.

Dentre os testes que se baseiam na inibição do crescimento bacteriano há disponibilidade de testes específicos para penicilina ou sulfonamidas na forma de kits, que podem ser utilizados na própria fazenda.

## **11.2 Testes imunológicos, com base em receptores, enzimas e outros**

Embora os testes microbiológicos tenham um papel destacado na detecção de resíduos de antimicrobianos no leite, eles apresentam limitações, pois requerem tempo para incubação e o resultado somente é conhecido após duas a cinco horas, na maioria dos casos. Posteriormente foram desenvolvidos métodos mais rápidos, que possibilitam obter o resultado dentro de 15 minutos ou menos. Existem testes específicos para diferentes classes de antimicrobianos, como, por exemplo, para beta-lactâmicos, macrolídeos, aminoglicosídeos, tetraciclina, cloranfenicol e sulfonamidas.

Dentre estes estão os testes que se baseiam no reconhecimento dos antimicrobianos pela ligação com receptores ou na reação com enzimas. Os receptores são adicionados à amostra com um antimicrobiano da classe que está sendo testada (por exemplo,  $^{14}\text{C}$ -penicilina para os beta-lactâmicos ou  $^3\text{H}$ -sulfametazina, para as sulfonamidas). Quando a amostra

não contém resíduos destes antimicrobianos, todos os sítios dos receptores serão ocupados com o antimicrobiano adicionado, mas quando a amostra contém resíduos, estes se ligarão aos receptores. O número de sítios ocupados pela droga não-marcada será proporcional à concentração de antimicrobianos na amostra. A marcação dos antimicrobianos adicionados pode ser por meio de substância radioativa ou por meio de enzimas.

Outro grupo de testes são os conhecidos como imunológicos, pois se baseiam na reação do antibiótico (antígeno) com um anticorpo específico. Nestes métodos, anticorpos específicos ou anticorpos monoclonais se ligam ao resíduo do antimicrobiano, quando presente na amostra. Alguns destes testes utilizam métodos de análise que empregam substâncias radioativas, ou empregam enzimas, na técnica conhecida como ELISA. Na técnica de ELISA, quando uma amostra é positiva, há alteração de cor, que pode ser visualizada.

Além destes, há outros métodos de detecção de resíduos no leite que empregam cromatografia gasosa, em camada fina, ou líquida de alto desempenho (HPLC), eletroforese, biorradiografia, outros métodos enzimáticos e alguns métodos microbiológicos que empregam receptores ou anticorpos. Não são usados na rotina, mas para propósitos especiais, como, por exemplo, em casos que necessitam confirmação. Na maioria dos casos há necessidade de equipamentos sofisticados e que demandam pessoal treinado para o uso. Para alguns métodos químicos, o leite necessita ser desengordurado e desproteínizado antes da avaliação. Estes permitem identificar o antibiótico presente na amostra e quantificá-lo.

## **12. DADOS SOBRE O BRASIL**

No Brasil, estudos para avaliar a presença de inibidores ou de resíduos de antimicrobianos no leite foram realizados em diversos estados. Alguns destes estudos (1965-1984) são mostrados na Tabela 4. As amostras de leite foram coletadas na plataforma de recepção da indústria, em caminhões-tanque ou no leite ensacado colocado à venda. Foram detectados resíduos, em porcentagens variáveis, comprovando a relevância deste tema para a saúde pública e para a indústria leiteira nacional. Os testes realizados possuíam sensibilidade conhecida para penicilina, mas isto não significa ausência de resíduos de outros antimicrobianos.

É provável que tenham ocorrido variações nas porcentagens a partir da época em que foram obtidas até o momento atual. Deve-se considerar que um maior número de antimicrobianos está disponível atualmente no comércio, e existe a necessidade de se dar maior atenção aos animais, que

atualmente possuem maior potencial produtivo. Contudo, os resultados mostram que existe o problema de resíduos de antimicrobianos no leite no Brasil e que há necessidade de se ter atenção para o problema e tomar todo o cuidado para que ele seja evitado.

Tabela 4. Resultados de testes de detecção de antimicrobianos e outros inibidores em amostras de leite nas cidades de São Paulo, Belo Horizonte e Porto Alegre.

Local	Leite	Nº de amostras analisadas	% de amostras positivas	Referência
São Paulo	C	1.000	9 (1,9% penicilina)	Mello Filho et al., 1965/67
Belo Horizonte	B	183	5,4	Fagundes et al., 1982
	C	80	1,25	
São Paulo	B	490 (produtores) 80 (carros-tanque) 32 (pasteurizado)	15,04 21,25 21,87	Barros & Perches, 1981
Belo Horizonte	B 3,2% gordura	96 288	4,16 0; 1,04; 3,08 <sup>1</sup>	Silva & Sena, 1984
São Paulo	B	404	3,6 e 11,63 <sup>2</sup>	Gelli et al., 1984
Porto Alegre	-	1.045	11,68 (42,15% penicilina)	Fonseca & Zolin, 1984

<sup>1</sup> Resultado de três marcas analisadas.

<sup>2</sup> O resultado de 3,6% foi obtido com o teste de inibição de disco e 11,63% foi obtido com o Delvotest, para as mesmas amostras.

### 13. CUIDADOS PARA SE EVITAR RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS NO LEITE

- Não disponibilizar para consumo o leite de vaca tratada com substâncias antimicrobianas. Portanto, não se deve comercializar o leite durante e após o tratamento, enquanto o antimicrobiano estiver sendo eliminado. Toda vaca tratada durante a lactação deve ser identificada, para se evitar a mistura acidental do leite com resíduos ao restante do leite do rebanho. Quando um quarto mamário é tratado, os outros também podem eliminar resíduos, devido à passagem do antimicrobiano via corrente sanguínea.
- Respeitar rigorosamente o prazo de retirada do leite do consumo para cada produto utilizado. Este prazo varia de acordo com o produto. Antimicrobianos que não trazem esta informação não devem ser usados para tratamento de vacas em lactação.

- Evitar tratamentos desnecessários, principalmente o da mastite subclínica durante a lactação. O tratamento feito na ocasião da secagem da vaca apresenta maior taxa de cura.
- Evitar aumentar a dosagem recomendada na bula de cada antimicrobiano. Não se deve também reduzir a quantidade recomendada. Por exemplo, a bisnaga ou seringa para aplicação intramamária deve ser aplicada integralmente em um quarto mamário, e não dividida para dois ou mais.
- Evitar o uso de mais de um antimicrobiano diferente, pois isso pode aumentar o período de excreção de resíduos no leite e, conseqüentemente, alterar o prazo de retirada do leite para consumo.
- Adotar um plano de controle da mastite que contemple a adoção de medidas preventivas e de higiene, ambiente limpo para as vacas, manutenção e limpeza adequadas dos equipamentos de ordenha.
- As preparações de antimicrobianos recomendadas para tratamento de vacas secas não devem ser utilizadas em vacas em lactação, porque são formuladas para persistirem por mais tempo no úbere. Vacas tratadas na secagem que parirem antes da data esperada devem ter o leite retirado do consumo até completar o período recomendado.
- Observar cuidados rigorosos de higiene na aplicação intramamária de antimicrobianos. Para isto as tetas devem estar limpas, secas e previamente desinfetadas. As cânulas de aplicação devem estar completamente limpas, e não devem ser reutilizadas. Esses procedimentos são necessários para evitar que o próprio tratamento veicule uma nova fonte de infecção com microrganismos do ambiente.

## 14. CONCLUSÕES

O leite e seus derivados são produtos de alta qualidade nutricional e exemplo de alimento natural e seguro. Para preservar esta reputação, deverá ter padrões adequados de composição, pureza e ausência de resíduos de antibióticos ou outros produtos químicos. Para tanto, há necessidade de um esforço de todos os segmentos da cadeia produtiva.

A indústria farmacêutica tem um papel importante neste processo para orientar os usuários sobre o prazo de retirada do leite do consumo, enquanto persistir a eliminação de resíduos, e também o governo, por meio da fiscalização e regulamentação do uso de antimicrobianos, especialmente aqueles recomendados para tratamento de mastite.

O produtor de leite e os técnicos que dão assistência a rebanhos leiteiros precisam compreender o potencial para o aparecimento de resíduos de antibióticos sempre que esses produtos são utilizados. O veterinário tem

um papel destacado quando se trata de evitar resíduos de antibióticos no leite. Sempre que há necessidade de prescrever esses produtos para tratamento de uma vaca em lactação, o veterinário deve alertar o responsável pelo rebanho ou o produtor sobre o prazo adequado de retirada do leite do consumo, enquanto houver possibilidade de eliminação de resíduos no leite.

## 15. GLOSSÁRIO

*Antibiótico*: Compreende um grupo variado de substâncias quimicamente diferentes, produzidas por microrganismos (geralmente fungos) durante seu metabolismo e que inibem o crescimento de outros microrganismos. Antibióticos são empregados geralmente contra infecções causadas por bactérias, mas têm sido também utilizados como promotores de crescimento para animais de criação.

*Antimicrobiano*: Termo geral aplicado a todas as substâncias que apresentam ação antimicrobiana, e que atuam inibindo o crescimento ou inativando uma variedade de formas de vida microscópicas e submicroscópicas.

*Concentração mínima inibitória*: É a menor concentração de uma substância capaz de inibir o crescimento ou inativar um determinado microrganismo. Essa concentração varia de acordo com cada produto, seu mecanismo de ação e com características dos microrganismos.

*Ingestão diária aceitável* (ou ADI, do inglês: "Acceptable daily intake"): Corresponde à dose diária aceitável de uma droga ou de seu resíduo químico, que, quando ingerida durante toda a vida do indivíduo, não parece oferecer risco apreciável à sua saúde, na base dos fatos conhecidos no momento presente. Não oferecer risco apreciável significa a certeza prática de que uma exposição durante toda a vida aos resíduos não resultará em efeitos deletérios. Para antibióticos e sulfonamidas, a determinação da ADI se baseia no nível de concentração que não causa nenhum efeito adverso ao indivíduo [NOEL: Non-(observable) adverse effect level].

*Limite máximo de resíduo permitido* (ou MRL, do inglês: "Maximum Residue Limit"): É o nível máximo permitido ou a concentração máxima permitida de uma droga ou seu derivado metabólico no alimento, e que não excede a dose diária aceitável (ADI), de acordo com concentrações estabelecidas por

um grupo de especialistas da Organização Mundial da Saúde. É expresso em partes por milhão (mg/kg ou mg/L) ou partes por bilhão ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou  $\mu\text{g}/\text{L}$ ).

*Período de carência:* É o período requerido para que o resíduo de uma droga atinja o nível máximo permitido para cada substância, também definido como tolerância. Para os antimicrobianos no leite, é o período em que um antimicrobiano está sendo eliminado no leite, após aplicação da última dose do tratamento.

*Quimioterápicos:* são substâncias antimicrobianas obtidas totalmente por síntese química, como as sulfonamidas e nitrofuranos e que têm a propriedade de destruir ou inibir o crescimento microbiano sem causar efeitos deletérios aos tecidos do hospedeiro. Este termo não é aplicado aos antibióticos. O cloranfenicol, um antibiótico obtido originalmente por meio de microrganismos, hoje é totalmente produzido por síntese química.

*Resíduo:* Um resíduo de uma droga é a própria droga ou um derivado metabólico desta que pode se acumular, ser depositado ou estocado dentro das células, tecidos ou órgãos de um animal após o uso desta droga para o controle ou tratamento de uma doença ou como aditivo alimentar ou promotor do crescimento. Todos os resíduos são considerados ter importância toxicológica. Os resíduos são expressos em partes por peso ou volume, tais como, mg/kg ou mg/L (ppm),  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou  $\mu\text{g}/\text{L}$  (ppb).

## 16. BIBLIOGRAFIA

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*, Champaign, v.80, p. 3050-3057, 1997.

BARROS, V.M.R.; PERCHES, E.M.C. Pesquisa de inibidores no leite tipo B distribuído ao consumo da Grande São Paulo. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 216, n. 36, p. 39-42, 1981.

BOOTH, J.M.; HARDING, F. Testing for antibiotic residues in milk. *Veterinary Record*, London, v.119, p. 565-569, 1986.

BOOTH, N.H. Drug and chemical residues in the edible tissues of animals. In: BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 6. ed., Ames: Iowa State University Press, 1988. p. 1149-1205.

BRADY, M.S.; WHITE, N.; KATZ, S.E. Resistance development potential of antibiotic/antimicrobial residue levels designated as "safe levels". **Journal of Food Protection**, Ames, v.56, n.3, p.229-233, 1993.

BRAMLEY, A.J.; CULLOR, J.S.; ERSKINE, R.J.; FOX, L.K.; HARMON, R.J.; HOGAN, J.S.; NICKERSON, S.C.; OLIVER, S.P.; SMITH, K.L.; SORDILLO, L.M. 1996. **Current concepts of bovine mastitis**. 4. ed. Madison: National Mastitis Council, 1996. 64p.

COGAN, T.M. Susceptibility of cheese and yoghurt starter bacteria to antibiotics. **Applied Microbiology**, Washington, v. 23, n. 5, p.960-965, 1972.

CULLOR, J.S. Milk antibiotic residue tests and veterina y practice. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Trenton, v. 17, n.6, p. 863-871, 1995.

CULLOR, J.S. Tests for identifying antibiotic residues in milk: how well do they work? **Veterinary Medicine**, Lenexa, v. 87, p.1235-1241, 1992.

FAGUNDES, C.M.; SANTOS, E.C.; RODRIGUES, R. Prevalência de antibióticos no leite tipo B e C consumido em Belo Horizonte. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 34, n. 1, p. 203-206, 1982.

FAO. **Residues of some veterinary drugs in animals and foods**. Rome: FAO, 1991. 119p. (FAO-Food and Nutrition. Paper 41/3).

FONSECA, M.M.M.; ZOLIN, I.S. Resíduos de antibióticos no leite - Porto Alegre/RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v.12, p. 47-50, 1984.

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

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Detection and confirmation of inhibitors in milk and milk products**. Brussels, 1991. 99p. (Bulletin of the International Dairy Federation, 258).

HEESCHEN, W.; SUHREN, G. Antibiotics and sulfonamides in milk: Significance, evaluation, maximum residue limits (MRLs) and concepts of detection from an international point of view. **Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte**, Gelsenkirchen-Buer, v. 45, n.1, p.43-60, 1993.

HAMANN, J.; TOLLE, A.; HEESCHEN, W. Antibiotics and sulphonamides. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Chemical residues in milk and milk products**. Brussels: FIL/IDF (IDF Document 113). 1979. p.43-56.

- MÄYRÄ-MAKINEN, A. Technological significance of residues for the dairy industry. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SYMPOSIUM ON RESIDUES OF ANTIMICROBIAL DRUGS AND OTHER INHIBITORS IN MILK, 1995, Kiel. *Proceedings...* Kiel: FIL-IDF, 1995. p. 136-143.
- MELLO FILHO, A.; SANDOVAL, L.A.; RODRIGUES, N.R.; XIMENES, J. Inibidores bacterianos no leite de consumo da capital. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 25/27, n. 69-93, 1965/67.
- MITCHELL, J.M.; GRIFFITHS, M.W.; McEWEN, S.A.; McNAB, W.B.; YEE, A.J. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and performance. *Journal of Food Protection*, Ames, v.61, n.6, p.742-756, 1998.
- OLIVER, S.P.; MAKI, J.L.; DOWLEN, H.H. Antibiotic residues in milk following antimicrobial therapy during lactation. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 53, n. 8, p. 693-696, 1990.
- PUGH, K.E.; HENDY, P.G.; EVANS, J.M. A possible source of antibiotic contamination of milk. *Veterinary Record*, London, v. 101, p. 313, 1977.
- SCHIFFMANN, A.P.; SCHÜTZ, M.; WIESNER, H.U. False negative and positive results in testing for inhibitory substances in milk. 1. The influence of antibiotic residues in bulk milk on lactic acid production of starter cultures. *Milchwissenschaft*, Munich, v. 47, n. 11, p. 712-715, 1992.
- SILVA, T.J.P.; SENA, M.C. Prevalência de antibióticos no leite pasteurizado tipo B e especial 3,2% de gordura consumido em Belo Horizonte, 1982-83. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 39, n. 235, p. 7-12, 1984.
- SUHREN, G. Possibilities and limitations of microbiological inhibitor tests. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SYMPOSIUM ON RESIDUES OF ANTIMICROBIAL DRUGS AND OTHER INHIBITORS IN MILK, 1995, Kiel. *Proceedings...* Kiel: FIL-IDF, 1995. P. 159-171.
- SUNDLOF, S.F. Drug and chemical residues in livestock. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia. v. 5, n. 2, p. 411-449, 1989.
- YNDESTAD, M. Public health aspects of residues in animal products: fundamental considerations. IN: SYMPOSIUM OF CHEMOTHERAPY IN AQUACULTURE FROM THEORY TO REALITY, 1991, Paris. *Proceedings...* Paris: Office International des Epizooties, 1992. p. 494-510.



---

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite  
Ministério da Agricultura e do Abastecimento  
Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco  
Fone: (32)3249-4700 - Fax: (32)3249-4751  
Juiz de Fora - MG - CEP: 36038-330  
Home page: <http://www.cnppl.embrapa.br>  
e-mail: [sac@cnppl.embrapa.br](mailto:sac@cnppl.embrapa.br)*

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA  
E DO ABASTECIMENTO**

**GOVERNO  
FEDERAL**  
Trabalhando em todo o Brasil