



## RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM CARNE BOVINA

Maria Izabel Amaral Souza<sup>1</sup>, Moacir Evandro Lage<sup>2</sup>, Cristiano Sales Prado<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

<sup>2</sup>Doutor, Professor adjunto na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

<sup>3</sup>Doutor, Professor adjunto na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil  
mariaizabelmias@gmail.com

Recebido em: 06/05/2013 – Aprovado em: 17/06/2013 – Publicado em: 01/07/2013

### RESUMO

A busca por alimentos seguros vem crescendo a cada dia junto com a preocupação mundial por parte dos consumidores por uma vida saudável, por isso, tornou-se fundamental a rastreabilidade das carnes oferecidas à população. Além de saber a origem dos animais abatidos é necessário garantir ao consumidor carne de ótima qualidade sanitária e livre de resíduos e contaminantes. Pesquisas nesta área têm sido relevantes para descobrir novos e sensíveis métodos de detecção e aprimorar os já existentes, assim como as pesquisas por várias classes de antibióticos em um único método.

**PALAVRAS-CHAVE:** beta-lactâmicos, cromatografia, espectrometria, detecção

### ANTIBIOTICS RESIDUES IN BEEF ABSTRACT

The search to safe food is growing every day, with the world preoccupation for healthy life, therefore it is essential trace the meat that is offered to the population, beyond knowing the animal origin is necessary ensure to the consumer high sanitary quality meat and free from residues and contaminants. Research in this area is relevant to find new sensitive methods to detection and to improve the methods existents, as well as the research of several classes of antibiotics into a single method.

**KEYWORDS:** beta-lactams, chromatography, spectrometry, detection

### INTRODUÇÃO

A preocupação com a saúde é cada dia maior no mundo em que vivemos, a prática de exercícios, a conscientização do mal causado pelos cigarros, pelas bebidas alcoólicas, a busca por uma alimentação equilibrada está entre as preocupações da população. Neste sentido os consumidores estão cada dia mais exigentes e procuram por alimentos inócuos para incluírem nas suas dietas. Sendo

assim os produtores devem estar atentos à qualidade e segurança dos alimentos.

A segurança dos alimentos está ameaçada por vários agentes incluindo microorganismos patogênicos, aflatoxinas, pesticidas e agentes antimicrobianos. Microorganismos patogênicos constituem a ameaça mais importante em alimentos relacionados à saúde pública. Relativamente, pouco se sabe sobre a segurança dos alimentos em relação aos agentes anti-microbianos, no mundo em desenvolvimento (DONKOR et al., 2011).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) "existe segurança alimentar quando todas as pessoas, em todos os momentos, têm acesso físico, social e econômico a alimentos suficientes, seguros e nutritivos " (FAO, 1997).

Além de riscos biológicos, como bactérias, vírus, parasitas, a ocorrência de riscos químicos é outra característica da produção de alimentos moderna. O aumento da produtividade na criação de animais, muitas vezes envolve a uso de centenas de substâncias utilizados como princípios ativos em produtos para a saúde e tratamento de animais produtores de alimentos. De acordo com isso, muitos dos animais são expostos a químicos que podem deixar resíduos na carcaça no momento do abate (VRAGOVIC et al., 2011).

O uso incorreto de antibióticos em veterinária podem deixar resíduos nos produtos de origem animal. Estes resíduos podem ter efeitos tóxicos diretos sobre os consumidores, por exemplo, reações alérgicas em indivíduos hipersensíveis, ou podem causar problemas indiretamente através da indução de cepas resistentes de bactérias (STOLKER & BRINKMAN, 2005).

O setor agrícola está sujeito a políticas e projetos de lei que restringem o limite, ou proibem certos produtos como aditivos na alimentação . Muitas indústrias agrícolas também obedecem proibições em vigor com outros países, especialmente na União Europeia, a fim de cumprir com exigências do mercado internacional (NONAKA et al., 2012). Assim existem medidas tomadas aqui no Brasil para garantir que não haja exportações de alimentos contaminados.

Visando a segurança alimentar várias análises são realizadas para verificar a presença de resíduos de antibióticos em carne, assim, se faz necessário a exposição dos conceitos de antimicrobiano, quimioterápicos e antibióticos e suas classificações, para posterior verificação dos resultados destas pesquisas relacionando a ocorrência destes resíduos em carne.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

Ao longo da história doenças infecciosas têm sido uma grande ameaça para a saúde humana e animal e uma importante causa de morbidade e mortalidade. Hoje, estima-se que mais de metade de todos os antimicrobianos produzidos no mundo são utilizados no tratamento de animais (MAGALHÃES et al., 2012).

A utilização de agentes antimicrobianos para o tratamento ou prevenção de doenças na pecuária, inevitavelmente resulta na presença de resíduos nos tecidos animais. Para proteger os consumidores da exposição a compostos potencialmente prejudiciais ou resíduos, os medicamentos veterinários só podem ser oficialmente registrados após extensivos estudos de segurança e de avaliação de resíduos. Nessas avaliações são definidos os Limites Máximos de Resíduos (LMR) e o período de carência do mesmo (PIKKEMAAT et al., 2008).

Conforme BOTSOGLOU & FLETOURIS (2001), os resíduos de medicamentos podem consistir de vários componentes, incluindo os compostos pais e/ou metabólitos livres, e metabólitos ligados covalentemente a macromoléculas. A

habilidade dos animais tratados de biotransformar e eliminar a droga tem uma relação significativa com a quantidade relativa e absoluta de algum destes componentes que provavelmente permanecem nos tecidos. A taxa total de resíduos é regida pelo grau em que este medicamento é absorvido, a extensão da sua distribuição, a taxa e extensão de seu metabolismo, e a taxa de excreção dos compostos pais e seus vários metabólitos.

Existem diversas opiniões associadas para definir exatamente o que constitui perigo para a saúde humana, muitos mecanismos complexos para determinar se o uso terapêutico ou subterapêutico de medicamentos em animais produtores de alimentos afetam ou não a saúde humana. Para analisar a gravidade da presença de resíduos de medicamentos em alimentos, devem ser levadas em consideração quais as consequências que trarão à saúde humana (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

De acordo com SOFOS (2005), existem várias razões para analisar resíduos de medicamentos veterinários em alimentos, dentre elas estão: utilização irregular dos medicamentos veterinários, não observação de rótulos e período de carência; resistência a antibióticos; toxicidade aguda e crônica além de alergias e problemas endócrinos, efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos; certificação de alimentos orgânicos ou livre de resíduos, segurança alimentar protegendo a população de possíveis exposições acidentais, do mau uso ou de ações terroristas.

Segundo BOTSOGLOU & FLETOURIS (2001), os níveis de resíduos dependem do período entre a administração do medicamento e o abate do animal. Resíduos de antibióticos em alimentos originados de animais podem representar um perigo aos consumidores, porém dependem da frequência de uso e grau de exposição.

A globalização aumentou o comércio mundial de alimentos. Assim, garantir a qualidade dos alimentos, além de questões de segurança alimentar, se tornaram preocupações internacionais. Por isso, desde a sua criação, a Organização Mundial de Saúde (OMS) vem trabalhando para a melhoria da segurança alimentar. Em parceria com a Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (FAO), a OMS instituiu a Secretaria da Comissão do Codex Alimentarius (CAC) (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

A Comissão do Codex Alimentarius é responsável por todos os assuntos relativos à implementação pela FAO / OMS do Programa de Padrões de Alimento. Seu objetivo é proteger a saúde dos consumidores e assegurar práticas equitativas no comércio de alimentos, promovendo a coordenação de todo o trabalho de padrões de alimentos efetuados por organizações internacionais governamentais e não governamentais, além de alterar as normas publicadas após levantamento apropriado à luz dos desenvolvimentos de novas pesquisas (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

A legislação sobre o uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos é regulada por muitas autoridades em todo o mundo, assim, cuidam da qualidade, eficácia e segurança do uso desses agentes. Contudo há variações consideráveis no processo regulador, dentro de diferentes países, em que os requisitos de licenciamento podem variar entre inspeção altamente controlada para inspeção mínima (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Existem diferenças entre as agências reguladoras em estabelecer a relação entre o marcador para resíduos totais e padronizar as condições analíticas necessárias para o método a ser utilizado. Alguns países exigem métodos microbiológicos para antibióticos para os quais não há relação conhecida com

resíduos totais de risco toxicológico, por exemplo (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Para validar um modelo ideal este deveria ser realizado através de estudo colaborativo de acordo com protocolos internacionais para a concepção, realização e interpretação de estudos de desempenho do método. Um método típico seria realizado de acordo com a Organização Internacional para Padronização (ISO) / União Internacional para Química Pura e Aplicada (IUPAC) / Associação Oficial de Químicos Analistas (AOAC), incluindo critérios de desempenho para precisão, exatidão e recuperação (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Devido ao tamanho do campo agrícola, ao número de substâncias e de matrizes envolvidas torna-se complexo e difícil a construção de um sistema hierárquico rastreável de padrão químico e analítico de substâncias puras ou matrizes (CUNHA et al., 2012).

Para detecção de resíduos de antibióticos em alimentos existem técnicas microbiológicas (inibição do crescimento microbiano, receptor microbiana, e formatos enzimáticos colorimétricos), técnicas imunoquímicas (interações antígeno-anticorpo) e técnicas físico-químicas (ultravioleta / detectores fotométricos visível, de espectroscopia de fluorescência, eletroquímicos, polarimétricos, GC específicos, espectrometria de massa). Para confirmação são utilizadas as técnicas de cromatografia (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Os antibióticos têm uma atividade intrínseca contra microrganismos que podem ser utilizados para detectar a sua presença em vários tecidos. Os métodos de detecção baseiam-se na percepção visível de inibição de microrganismos, causada pela presença de uma substância com atividade bacteriostática ou bactericida. Esta percepção pode ser determinada por um halo ao redor de um disco contendo uma determinada concentração de antibiótico (HOFF, et al., 2012).

Para determinar resíduos de contaminantes em alimentos, os métodos analíticos desenvolvidos devem cumprir requisitos e serem normalizados para garantir bons resultados, disponibilizando um alimento seguro. Para as determinações de contaminantes em alimentos, as técnicas cromatográficas de separação destacam-se no âmbito analítico pela reconhecida capacidade de possibilitarem análises qualitativas e quantitativas (PASCHOAL et al., 2008).

Técnicas de cromatografia líquida estão sendo expandidas nos laboratórios de controle, devido à possibilidade de automação (eluição, injeção, lavagem da coluna, detecção), controlada por computador, uso e manipulação de dados, além do tempo relativamente curto. Recentes desenvolvimentos em novos sistemas e colunas que permitem alta velocidade e o tempo de análise reduzido, já estão sendo comercializados e contribuirão com sua expansão. A cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS/MS), apresenta metodologia analítica para a identificação não ambígua, quantificação e confirmação de resíduos de medicamentos (BECKER et al., 2004; REIG & TOLDRA, 2008).

Segundo VÉKEY (2001), o acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas combina as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência de separação) com as vantagens da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade). Sensibilidade é uma das principais vantagens da espectrometria de massas (permite a obtenção de espectros de massa dos compostos, nível de detecção de quantidades de amostra baixas e/ou baixa concentração).

Duas grandes tendências são observadas na análise de medicamentos. Primeiro é a seleção de material amostral para monitorar o uso de medicamentos

veterinários. Tradicionalmente carne, rim e fígado são analisadas, mas, devido aos escândalos alimentares em que a carne foi muitas vezes envolvida, o consumo de produtos alternativos ( ovos e peixes) se tornou mais popular, e assim estes se tornam alvo para os programas de monitoramento de resíduos. Segundo, as técnicas utilizadas para a análise de resíduos estão se modernizando, baseadas principalmente em cromatografia líquida em combinação com espectrometria de massa (CLAE-EM) (STOLKER et al., 2007).

A detecção de resíduos de medicamentos veterinários é geralmente realizada em urina e plasma, bem como em amostras de tecidos após o abate (músculo, fígado, rim, humor vítreo, gordura). Medicamentos veterinários em geral mostram altas taxas de depuração nas amostras biológicas, tornando a detecção difícil. Pelos tem sido considerados adequados para a determinação de diferentes drogas orgânicas, desde um relatório de Goldblum em 1954, sobre a detecção de anfetamina em pelos de cobaias. Apesar destas premissas encorajadoras, na medicina veterinária os estudos publicados sobre análise de pelos ainda são escassos, com um número limitado de compostos ativos (GRATACÓS-CUBARSI et al., 2006).

No Brasil, visando garantir a segurança alimentar, o governo federal instituiu no Ministério da Agricultura, através da Portaria n.º 51, de 6 de fevereiro de 1986 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. Porém em 1999, o PNCRB foi renomeado para “Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR” através da Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999 (BRASIL, 1986; BRASIL, 1999).

### ***Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal – PNCR***

O Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR, foi instituído pela Portaria Ministerial nº. 51, de 06 de maio de 1986 e adequado pela Portaria Ministerial nº. 527, de 15 de agosto de 1995. A execução de suas atividades está a cargo do secretário de defesa agropecuária, cabendo ao coordenador geral gerenciar o cumprimento das metas estabelecidas na operacionalização do plano, o qual comporta ainda uma comissão técnica com representantes do Departamento de Defesa Animal - DDA e do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA e um Comitê consultivo, constituídos por representantes de órgãos governamentais e privados, reconhecidamente envolvidos no contexto do PNCR (BRASIL, 1999).

Não são todas as drogas e compostos químicos aos quais os animais ficam expostos que deixam resíduos perigosos à saúde humana e animal, e mesmo aqueles reconhecidos como potencialmente nocivos, somente permitem tal condição, quando ultrapassam o valor de concentração conhecido como limite de tolerância, limite de segurança ou limite máximo de resíduo (LMR) que o alimento pode conter, sem prejuízo da integridade orgânica de seres humanos e animais (BRASIL, 1999).

“Resíduo de uma droga veterinária é fração da droga, seus metabólitos, produtos de conversão ou reação e impurezas que permanecem no alimento originário de animais tratados” (BRASIL, 1999).

Um dos objetivos do PNCR é tornar-se parte integrante do esforço destinado

à melhoria da produtividade e da qualidade dos alimentos de origem animal, colocados à disposição da população brasileira, e proporcionar à nação, condições de se adequar do ponto de vista sanitário, às regras do comércio internacional de alimentos, preconizadas pela Organização Mundial do Comércio (OMC) e órgãos auxiliares (FAO, OIE e OMS) (BRASIL, 1999).

As principais metas do PNCR caminham no sentido da verificação do uso correto e seguro dos medicamentos veterinários, de acordo com as práticas veterinárias recomendadas e das tecnologias utilizadas nos processos de incrementação da produção e produtividade pecuária. O Plano comporta, pois, todo um esforço governamental, no sentido de ofertar aos consumidores, alimentos seguros e competitivos (BRASIL, 1999).

O PNCR tem como função regulamentar básica, o controle e a vigilância. Suas ações estão direcionadas para se conhecer e evitar a violação dos níveis de segurança ou dos LMR's de substâncias autorizadas, bem como a ocorrência de quaisquer níveis de resíduos de compostos químicos de uso proibido no país. Para isto, são colhidas amostras de animais abatidos e vivos, de derivados industrializados e/ou beneficiados, destinados à alimentação humana, provenientes dos estabelecimentos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) (BRASIL, 1999).

Para que o plano seja mais eficiente foi feita uma divisão em: Subprograma de Monitoramento - tem como objetivo gerar as informações sobre a frequência, níveis e distribuição dos resíduos no país, ao longo do tempo; Subprograma de Investigação - tem como meta investigar e controlar o movimento de produtos potencialmente adulterados, a amostragem é tendenciosa e dirigida, em função de informações obtidas no subprograma de monitoramento; Subprograma Exploratório - é desenvolvido em situações especiais, frente aos mais variados objetivos, tendo em comum o fato dos resultados das análises não serem utilizados para a promoção de ações regulatórias, nem conduzirem ao subprograma de investigação; Subprograma de Controle de Produtos Importados - além dos subprogramas anteriormente descritos, prevê-se o controle de resíduos em produtos importados, que consiste na colheita de amostras, com o objetivo de verificar se o programa de resíduos do país exportador é efetivo e se o produto importado atende os mesmos requisitos estabelecidos para o produto nacional (BRASIL, 1999).

A amostragem do PNCR, no que se refere aos subprogramas de monitoramento e exploratório, tem como referência a metodologia recomendada pelo Codex Alimentarius, para a colheita de amostras, visando a determinação de remanescentes residuais em produtos de origem animal (BRASIL, 1999).

Assim a relação dos resíduos de antimicrobianos monitorados em bovinos em 2012 estão dispostos no quadro 1, de acordo com a IN nº 11 de 22 de maio de 2012 (BRASIL, 2012b).

**QUADRO 1** - Resíduos de antimicrobianos monitorados pelo PNCR- 2012.

Antimicrobiano	Matriz analisada	Limites de referência ( $\mu\text{g/Kg}$ )	Número de ensaios - bovino
Lincomicina	Rim	1500	510
Eritromicina	Rim	200	510
Tilosina	Rim	100	510
Neomicina	Rim	10000	510
Estreptomicina	Rim	1000	510

Espectinomicina	Rim	5000	510
Dihidroestreptomicina	Rim	1000	510
Kanamicina	Rim	2500	510
Apramicina	Rim	20000	510
Gentamicina	Rim	5000	510
Tobramicina	Rim	500	510
Higromicina	Rim	500	510
Tilmicosina	Rim	300	510
Amicacina	Rim	500	510
Clindamicina	Rim	200	510
Ampicilina	Rim	50	510
Cefazolina	Rim	50	510
Oxaciclina	Rim	300	510
Penicilina G	Rim	50	510
Penicilina V	Rim	25	510
Clortetraciclina(a)	Rim	Soma = a 1200	510
Tetraciclina(a)	Rim	Soma = a 1200	510
Oxitetraciclina(a)	Rim	Soma = a 1200	510
Doxiciclina	Rim	600	510
Clortetraciclina(a)	Músculo	Soma = a 200	30
Tetraciclina(a)	Músculo	Soma = a 200	30
Oxitetraciclina(a)	Músculo	Soma = a 200	30
Doxiciclina	Músculo	100	30
Florfenicol	Músculo	200	75
Cloranfenicol	Músculo	0,30(l)	75
Tianfenicol**	Músculo	50	75
Carbadox	Músculo	10(l)	30
Sulfaclopiridazina(b)	Fígado	Soma = a 100	300
Sulfadoxina(b)	Fígado	Soma = a 100	300
Sulfamerazina(b)	Fígado	Soma = a 100	300
Sulfametoxazol(b)	Fígado	Soma = a 100	300
Sulfatiazol(b)	Fígado	Soma = a 100	300
Sulfametazina(b)	Fígado	Soma = a 100	300

Sulfaquinoxalina(b)	Fígado	Soma = a 100	300
Sulfadimetoxina(b)	Fígado	Soma = a 100	300
Nitrofurazona SEM	Músculo	1(l)	75
Furazolidona AOZ	Músculo	1(l)	75
Furaltadona AMOZ	Músculo	1(l)	75
Nitrofurantoína AHD	Músculo	1(l)	75
Ácido oxolínico	Músculo	100	60
Ácido Nalidíxico**	Músculo	20	60
Flumequina	Músculo	500	60
Enrofloxacina(c)	Músculo	Soma = a 100	60
Ciprofloxacina(c)	Músculo	Soma = a 100	60
Sarafloxacina**	Músculo	20	60
Difloxacino	Músculo	400	60
Danofloxacino**	Músculo	200	60
Espiramicina	Músculo	200	30

Adaptado de acordo com IN nº 11 de 22 de maio de 2012 (BRASIL, 2012b).

- (a) Limite de referência refere-se ao somatório de todas as tetraciclínas;  
(b) Limite de referência refere-se ao somatório de todas as sulfonamidas;  
(c) Limite de referência refere-se ao somatório de Enrofloxacina e Ciprofloxacina.  
(l) Quando se tratar de substância banida ou de uso proibido para a espécie em questão o limite de referência para tomada de ação regulatória gerencialmente adotada, será igual ou maior do que o respectivo limite mínimo de desempenho requerido, quando estabelecido pela legislação vigente.

As análises relativas ao Subprograma de Monitoramento serão realizadas nos laboratórios oficiais e credenciados, pertencentes à rede nacional de laboratórios agropecuários do sistema unificado de atenção à sanidade agropecuária (BRASIL, 2012b).

De acordo com MAURICIO & LINS (2012), o governo brasileiro reorganizou o sistema de laboratórios do MAPA, com o objetivo de atualizar e melhorar as políticas e atividades analíticas relacionadas à defesa sanitária vegetal e animal. Assim, uma rede nacional de laboratórios foi criada, com a responsabilidade de realizar estudos e ensaios para avaliar a conformidade dos insumos agrícolas e alimentos produzidos no país, especialmente em matéria de controle oficial de resíduos e contaminantes. Trabalham com os Laboratórios Nacionais Agropecuários (LANAGRO), localizados em Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Pará, Pernambuco e Goiás e laboratórios privados/públicos credenciados pelo MAPA.

A área de resíduos e os contaminantes é uma frente estratégica da rede LANAGRO, em que a Secretaria de Defesa da Agricultura baseia-se substancialmente, sendo responsável para a execução do PNCR. Todas as análises do LANAGRO na área de resíduos e contaminantes seguem rigorosos métodos de validação e controle de qualidade interno para que os resultados emitidos sejam

fundamentados (MAURICIO & LINS, 2012).

Ferramentas de monitoramento baseadas em sistemas informatizados são extremamente úteis para fornecer orientações para iniciativas de gestão que devem ser tomadas a fim de otimizar o funcionamento do PNCRC (LINS et al., 2012).

### ***Antimicrobianos***

Os antimicrobianos são substâncias químicas usadas para combater os microrganismos, podendo ser específicos ou não. Os antimicrobianos inespecíficos atuam sobre microrganismos patogênicos ou não, são representados pelos desinfetantes e antissépticos. Os antimicrobianos específicos atuam sobre microrganismos responsáveis pelas doenças infecciosas que acometem os animais, representados pelos quimioterápicos e os antibióticos (SPINOSA et al., 2006).

De acordo com a FAO (2009) a avaliação de risco quanto a ingestão de alimentos de origem animal com resíduos de agentes antimicrobianos, depende se estes resíduos representam ou não perigo para saúde humana, por exercer pressão sobre a microbiota intestinal, o que pode favorecer o crescimento de microrganismos com resistência natural ou adquirida.

O termo quimioterápico foi conceituado por Paul Ehrlich como substância química definida (produzida por síntese laboratorial) que, introduzida no organismo animal, age de maneira seletiva sobre o agente causador do processo infeccioso, sem causar efeito nocivo sobre o hospedeiro (SPINOSA et al., 2006).

O termo antibiótico foi introduzido pelo biólogo russo naturalizado americano Selman Abraham Waksman, para definir substâncias químicas produzidas por microrganismos que tem a capacidade de, em pequenas doses, inibir o crescimento ou destruir microrganismos causadores de doenças (SPINOSA et al., 2006).

Ampliando esse conceito, antibióticos são substâncias químicas produzidas por microrganismos, ou seus equivalentes sintéticos, que têm a capacidade de, em pequenas doses, inibir o crescimento (bacteriostático) ou destruir (bactericida) microrganismos causadores de doenças (SPINOSA et al., 2006).

### ***Quimioterápicos***

Os primeiros antimicrobianos utilizados via sistêmica, na prevenção e cura das infecções bacterianas foram as sulfas, que são derivados de para-aminobenzenossulfonamida, sulfonilamida. As sulfonamidas são um grupo de compostos orgânicos sintéticos que têm desempenhado um papel importante como agentes quimioterápicos eficazes em infecções bacterianas e protozoárias em medicina veterinária (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001; SPINOSA et al., 2006).

Administradas em concentrações terapêuticas as sulfas são bacteriostáticas, em concentrações altas são bactericidas, porém podem causar reações adversas ao hospedeiro nessas concentrações. São sensíveis aos sulfonamídicos apenas os microrganismos que não conseguem utilizar o ácido fólico pré-formado. São antimicrobianos de amplo espectro efetivos contra Gram-positivas e algumas Gram-negativas como *Enterobacteriaceae* (SPINOSA et al., 2006).

As sulfas são biotransformadas no fígado por acetilação e oxidação, e excretadas pelo rim, via filtração glomerular e também secreção tubular. Uma pequena proporção pode ser eliminada pelo leite, por isso preconiza-se a utilização do leite de vacas tratadas com estes quimioterápicos somente quatro dias após a última administração (SPINOSA et al., 2006).

Resíduos de sulfonamidas são distribuídos nos tecidos e fluidos corporais com velocidade muito variável, dependem de muitos fatores como a natureza do

composto, sua formulação, via de administração e a espécie animal. No entanto, a eliminação dos resíduos de sulfonamidas ocorre muito antes no fígado, rim, leite, do que o músculo e gordura (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Sulfametoxazol é frequentemente co-administrado com Trimetoprim para melhorar o tratamento contra uma variedade de infecções bacterianas. Nos seres humanos e nos animais, pode provocar alterações na medula óssea e efeitos significativos em alguns pesos de órgãos (LI et al., 2012).

MOR et al.(2012), fizeram um estudo determinando resíduos de sulfonamidas em carnes de bovinos pelo sistema Charm-II (contador de cintilação multiuso líquido e sistema de luminômetro) e validando com cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-FLD). Analisaram 157 amostras de carne bovina de mercados de três províncias da Turquia, destas nove deram resultado positivo pelo sistema Charm-II, e submetidas a CLAE-FLD somente quatro deram resultado positivo, considerando assim que os resultados devem ser confirmados por sistemas sensíveis como CLAE, após o uso de Charm-II.

As quinolonas são um grupo de substâncias antibacterianas. O ácido nalidíxico foi a primeira quinolona a ser utilizada, seguida da flumequina e do ácido oxónílico (quinolonas de primeira geração). Na década de 80 surgiram as quinolonas de segunda geração denominadas fluorquinolonas, representadas pela enrofloxacin, orbifloxacin, difloxacin entre outras. Depois vieram as quinolonas de terceira geração representadas pela levofloxacin e a esparfloxacin. As quinolonas de quarta geração tem seu uso restrito a hospitais devido a efeitos colaterais graves (SPINOSA et al., 2006).

As quinolonas de primeira geração atuam somente contra Gram negativo, já as de segunda geração possuem amplo espectro de ação, nas de terceira geração esse espectro foi ampliado, as de quarta geração possuem potente atividade contra anaeróbios. As quinolonas são bactericidas e sua atividade antimicrobiana se relaciona com a inibição das topoisomerases bacterianas tipo II (DNA girase) e tipo IV (SPINOSA et al., 2006; PEREIRA, 2009).

De acordo com PEREIRA (2009), nas bactérias Gram-negativas, o principal mecanismo é o da inibição da topoisomerase II, enquanto nas Gram-positivas a inibição da topoisomerase IV é mais importante.

Enrofloxacin foi desenvolvida para uso exclusivo em animais, sua absorção é boa e amplamente distribuída nos tecidos, com maiores concentrações no fígado e rins, sendo eliminada pela urina e fezes (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

O ácido nalidíxico, é aplicado para infecções do trato urinário devido à sua má absorção sistêmica, com a introdução das fluorquinolonas tem-se uma melhor penetração nos tecidos e um aumento do seu espectro de ação. Essa melhoria de absorção e penetração foi decisiva para a sua eficácia em tecidos onde anteriormente as suas concentrações eram inferiores às necessárias para debelar a infecção (PEREIRA, 2009).

Os derivados nitrofurânicos, dependendo da concentração usada podem ser bactericidas ou bacteriostáticos. Seu mecanismo de ação não está totalmente elucidado, sua ação antimicrobiana pode estar relacionada com a redução destes compostos por flavoproteínas bacterianas, formando intermediários altamente reativos que causam danos ao DNA bacteriano e, conseqüentemente, morte (SPINOSA et al., 2006).

Realizar análises para saber se houve uso de nitrofuranos e se ficaram resíduos nos produtos é importante, pois a longo prazo a exposição a estes compostos tem sido associada ao aumento dos riscos de carcinogênese e

mutagênese em humanos (THONGSRISOMBOON et al., 2010).

Conforme a Instrução Normativa nº. 09, de 27 de junho de 2003, foi proibida a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos nitrofuranos e produtos que contenham este princípio ativo, para uso veterinário e susceptível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos (BRASIL, 2003).

Dados do PNCR divulgados através de um trabalho analisando o monitoramento dos resultados em relação ao uso de nitrofuranos no Brasil durante o período de 2004 a 2010 foi apontada uma quantidade mínima encontrada. Foram 10 detecções, equivalendo a 0,03% do total de 28.884 amostras analisadas durante todo o período mencionado, sendo detectadas inconformidades em aves, camarão de cultivo e suínos (MOITA et al., 2011).

### **Antibióticos**

Segundo BLASCO et al., (2007), resíduos de antibióticos em alimentos constituem um risco para a saúde humana, embora dados epidemiológicos sobre a real magnitude de seus efeitos adversos serem muito escassos, eles indicam que o alimento seis uma via importante para a evolução e disseminação de bactérias resistentes a antibióticos.

Os antibióticos beta-lactâmicos são largamente utilizados na prática veterinária. Todos os beta-lactâmicos, tem a estrutura básica do anel beta-lactâmico, responsável pela atividade antibacteriana e varias cadeias laterais que representam as principais diferenças em suas propriedades químicas e farmacológicas (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Os beta-lactâmicos são provavelmente a classe de antibióticos mais utilizada em medicina veterinária para o tratamento de infecções bacterianas dos animais, tanto na criação de bovinos de corte, como de leite (STOLKER & BRINKMAN, 2005).

Os antibióticos beta-lactâmicos são representados pelas penicilinas, que são derivadas do ácido 6-amino-penicilânico e as cefalosporinas do ácido 7-amino-cefalosporânico, além do ácido clavulânico, ácido sulfonopenicilânico, tienamicina, antibióticos monobactâmicos, etc. (SPINOSA et al., 2006).

O uso inadequado de antibióticos beta-lactâmicos podem deixar resíduos em leite, carne e fígado, podendo causar danos à saúde humana, além de problemas tecnológicos em indústrias de laticínios. É conhecido que antibióticos beta-lactâmicos podem causar reações alérgicas em pessoas sensíveis a seus compostos, portanto altos níveis de resíduos podem causar tal reação de hipersensibilidade (BECKER et al., 2004).

A amoxicilina, representante dos beta-lactâmicos inativado pelas betalactamses, é largamente distribuída nos tecidos do corpo e o seu metabolismo é limitado, sua excreção é através dos rins, o que resulta em altas concentrações nos tecidos do rim e na urina (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Descoberta em 1928 por Alexander Fleming a penicilina, advinda do fungo *Penicillium*, recebe classificação como penicilinas naturais (K, F, G e X), com pouco espectro de ação, penicilina biossintética (V), penicilinas resistentes à penicilinase, penicilinas de amplo espectro de ação (2º, 3º e 4º geração) e amidinopenicilina, o mecanismo de ação das penicilinas é impedir a síntese da parede celular bacteriana (SPINOSA et al., 2006).

Todas as penicilinas têm baixa toxicidade, os efeitos adversos mais comuns são reações de hipersensibilidade e erupções cutâneas. Distúrbios gastrointestinais

podem ocorrer, porém não há relatos de efeitos teratogênicos (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

As cefalosporinas provêm do fungo *Cephalosporium acremonium*, são antibióticos bactericidas, impedem a síntese de parede celular, são classificadas em cefalosporinas de primeira geração (que atuam predominantemente sobre Gram positivo), segunda geração (maior atividade contra bactérias entéricas Gram negativo), terceira geração (maior espectro de ação contra Gram negativo, com certa estabilidade na presença de beta-lactamase, porém menos ativas contra Gram positivo) e de quarta geração, são estáveis em meio ácido (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001; SPINOSA et al., 2006).

Cefazolina é pouco absorvida no trato gastrointestinal, sendo administrado principalmente por via parenteral, tem metabolismo limitado. Causa reações adversas semelhantes às penicilinas. Em tecidos a cefazolina pode ser encontrada nos rins e no fígado três horas após o tratamento, e em baixas concentrações nos rins após 24 horas. Em vacas leiteiras não foram detectados resíduos em tecidos comestíveis em amostragem de 21 dias após o tratamento (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001)

BECKER et al., (2004), realizaram um estudo descrevendo o desenvolvimento e validação de um método sensível para 15 resíduos de penicilinas e cefalosporinas em leite bovino, músculo e rim. As amostras de teste positivo para vários beta-lactâmicos com o teste Charm-II, foram analisados pela cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa, mostrando a aplicabilidade do método com amostras de campo.

Neste estudo, BECKER et al., (2004), analisaram amoxicilina, ampicilina, cefalexina, cefapirina, cefazolina, cefoperazona, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina e a protease Cephalonium, penicilina G, penicilina V nafcilina e sulfato de cefquinoma. Com amostras de carne sem resíduos eles acrescentaram os antibióticos com a metade do LMR e 1,5 a concentração do LMR, de acordo com a legislação da europa, assim, os que não possuíam limites definidos, foram colocadas 25, 50 e 75g/kg, depois fizeram análises e detectaram os resíduos dos antibióticos pela cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa. Para verificar a confiabilidade do método eles re-analizaram amostras positivas para resíduos, onde constataram a aplicabilidade do método.

Os antibióticos aminoglicosídeos são constituídos por um núcleo de hexose unido a aminoácidos através de ligações glicosídicas, sendo a estreptomicina a primeira a ser utilizado na terapêutica. Interferem na síntese proteica bacteriana, provocando a formação de proteínas defeituosas, podem causar danos na membrana celular. Os aminoglicosídeos não são biotransformados de maneira significativa, são ativos na luz intestinal, porém a via parenteral é a utilizada para tratar infecções sistêmicas. Sua eliminação do organismo animal ocorre por filtração glomerular. Aminoglicosídeos ligados a componentes celulares dos túbulos proximais podem permanecer nos rins por meses após as concentrações plasmáticas tornarem-se indetectáveis (SPINOSA et al., 2006; BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Diferenças nas substituições das estruturas básicas dos anéis dos aminoglicosídeos podem causar várias diferenças relativamente pequenas em espectros de antimicrobianos, nos padrões de resistência e toxicidade (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Apramicina se usada incorretamente pode resultar em grandes concentrações de resíduos em alimentos de origem animal, podendo representar tanto um risco

para o consumidor como um elemento perturbador para os processos de fabricação na indústria de alimentos. A apramicina é pobremente absorvida após a administração oral, mas é rapidamente e eficientemente absorvida após a administração parenteral e distribuída através do fluido extracelular. A excreção é através do rim, e o composto é encontrado inalterado na urina. Mais de 75% do total de resíduos encontrados no fígado e rins de animais abatidos 5-6 dias após tratamento parecem ser apramicina não metabolizada (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

O uso de antibióticos aminoglicosídicos é aprovado no Brasil para animais produtores de alimentos. Assim, a legislação brasileira de segurança alimentar define limites máximos para esses medicamentos nos tecidos desses animais, em um esforço para garantir que a segurança alimentar não seja comprometida (ALMEIDA et al., 2012).

Gentamicina é um complexo aminoglicosídeo composto de três componentes principais designados C1, C2, e C1a. É um agente bactericida, pobremente absorvido no trato gastrointestinal, geralmente excretado na urina e por isso pode deixar resíduos no rim. Após a aplicação intramuscular em bezerros o período de carência para a carne deve ser prolongada por cerca de 60 dias (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

ALMEIDA et al. (2012), com o objetivo de monitorar os níveis de aminoglicosídeos em tecidos de animais em alimentos, validaram um método quantitativo, confirmatório para detecção em amostras de rim, de aves, suínos, eqüinos e bovinos, com a extração usando uma fase sólida e detecção e quantificação por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa tandem (CLAE-EM/EM) adaptado do Departamento de Agricultura dos EUA, Segurança Alimentar e Serviço de Inspeção (USDA-FSIS). Há separação por esse método de dez aminoglicosídeos com uma resolução razoável em apenas 18 minutos no cromatógrafo.

Os resíduos de kanamicina permanecem por longos períodos no rim, a neomicina não é indicada para o tratamento de infecções em animais produtores de alimento devido à persistência prolongada de seus resíduos em tecidos comestíveis, ovos e leite, resíduos de estreptomina persistem por um longo tempo no sítio de aplicação e podem ser encontrados no fígado (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

As tetraciclina são antibióticos produzidos por diversas espécies de *Streptomyces*, e algumas são semissintéticas, sendo denominada assim devida sua estrutura química, formada por quatro anéis. São bacteriostáticas e possuem largo espectro de ação, atuando sobre Gram +, Gram-, clamídias e riquetsias. Inibem a síntese proteica dos microrganismos sensíveis, ligando-se à subunidade 30S dos ribossomos. Após absorção através de várias vias de administração, as tetraciclina são amplamente distribuídas no organismo, com níveis mais elevados nos tecidos do rim e do fígado. Devido à sua lipofilia, geralmente baixa, tetraciclina não são detectáveis em gordura em grande extensão. Todas as tetraciclina, exceto a minociclina e a doxiciclina são excretadas na sua forma ativa pela urina (por meio de filtração glomerular), ou em menor proporção pela bile, sofrem o ciclo entero-hepático (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001; SPINOSA et al., 2006).

REZENDE et al., (2012), desenvolveram um método para determinação de antibióticos beta-lactâmicos e tetraciclina, baseado na extração com água/acetoneitrilo, utilizando CLAE-EM/EM. Utilizaram amostras de músculo bovino sem resíduos e adicionaram os antibióticos a serem pesquisados. Com este método cinco antibióticos beta-lactâmicos podem ser identificados (ampicilina, cefazolina,

oxacilina, penicilinas G e V) e três tetraciclinas (clortetraciclina, tetraciclina e oxitetraciclina), em uma corrida cromatográfica de onze minutos, sendo o método adequado para monitoramento no PNCR.

O cloranfenicol é produzido pelo *Streptomyces venezuelae*, porém pode ser obtido por síntese laboratorial. O tianfenicol e o florfenicol são análogos ao cloranfenicol, porém com atividade antimicrobiana idêntica. Possui largo espectro de ação, é um composto lipossolúvel que se difunde através da membrana celular e se liga de forma reversível à subunidade protéica 50S dos ribossomos das células de procariontes, evitando a transferência de aminoácidos das cadeias peptídicas em formação, inibindo assim a síntese da proteína., são antibióticos bacteriostáticos (JÚNIOR et al., 2006; SPINOSA et al., 2006).

Devido sua eficácia no tratamento de várias doenças infecciosas, juntamente com seu baixo custo e pronta disponibilidade, o cloranfenicol é amplamente utilizado desde muito tempo para o tratamento de animais em todo o mundo, incluindo a produção de animais destinados à alimentação. Em ruminantes o cloranfenicol é destruído pela microbiota ruminal. O cloranfenicol é biotransformado no fígado, sendo eliminado conjugado com o ácido glicurônico. Os metabólitos inativos são eliminados principalmente pela urina e pequena parte através da bile (ROONING et al., 2006; SPINOSA et al., 2006).

O Cloranfenicol é conhecido por exercer vários efeitos secundários em seres humanos tais como anemia aplástica com dois tipos de toxicidade da medula óssea causando supressão e reação de idiossincrasia (NITZAN et al., 2010). Nos estudos de MARTINS & SCHIMITZ (2007) sobre indução de anemia aplástica por cloranfenicol em ratos, foram observados valores significativamente inferiores aos valores de referência para células sanguíneas, sugerindo que o cloranfenicol agiu sobre a medula óssea destes animais, demonstrando assim uma associação direta entre o uso do medicamento e a alteração do perfil hematológico destes ratos. Porém a presença de policromatofilia sugere que essa pancitopenia seja reversível, não afirmando se ocorreu indução da mesma. Portanto os pesquisadores apenas afirmam que o cloranfenicol, possui efeito depressor sobre a medula óssea.

Conforme a Instrução Normativa nº. 09, de 27 de junho de 2003, foi proibida a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso do cloranfenicol e produtos que contenham este princípio ativo, para uso veterinário e susceptível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos (BRASIL, 2003).

O Comitê da FAO foi incapaz de estabelecer uma ingestão diária aceitável para o cloranfenicol pela falta de informações necessárias para avaliar a sua carcinogenicidade e efeitos na reprodução, e pelo composto ser genotóxico numa série de ensaios in vitro e em sistemas de teste in vivo, além de ser insuficientes, as informações disponíveis para identificar um marcador de resíduo adequado (FAO, 2012).

O uso de cloranfenicol é proibido para uso na produção de animais destinados a alimentação em muitos países, incluindo a UE. Afim de monitorar e controlar o cumprimento da tolerância zero de cloranfenicol é necessário métodos analíticos precisos, sensíveis e robustos, assim RONNING et al. (2006), desenvolveram um método simples e rápido para a determinação e confirmação de cloranfenicol em várias matrizes de alimentos com CLAE-EM/EM.

Em seus estudos ROONING et al. (2006), após extrações e calibrações desenvolveram um método de quantificação de cloranfenicol para amostras positivas, que independentemente da matriz, poderia ser alcançada com uma

calibração baseada em uma curva de água comum. A quantificação de cloranfenicol foi baseada nas transições de íons entre 321-152, já para confirmação a transição de íons é menos intensa entre 321-194. O método foi validado em critérios da União Européia, levando em consideração o CC $\beta$  (capacidade de detecção) para ambas transições de íons, estando bem abaixo do limite mínimo de desempenho requerido, que é de 0,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Os macrolídeos são antibióticos que possuem um anel lactônico macrolídeo, ao qual se ligam açúcares, se dividem em três grupos: com 14 átomos (eritromicina, oleandomicina, carbomicina, roxitromicina, etc.), com 15 átomos (azitromicina, macrolídeo semissintético) e com 16 átomos (espiramicina, josamicina, miocamicina, etc.). São ativos contra Gram+, micoplasma, boa atividade contra bactérias anaeróbias, impedem a síntese proteica bacteriana, ligando-se à subunidade 50S do ribossomo, impedindo a translocação do RNAt e inibindo a enzima peptidiltransferase, são antibióticos bacteriostáticos (SPINOSA et al., 2006).

Macrolídeos representam os medicamentos mais efetivos contra doenças por *Mycoplasma*. Os macrolídeos são administrados via oral, algumas vezes por via parenteral, são bem absorvidos e distribuídos extensivamente pelos tecidos, especialmente pulmões, fígado e rins, são retidos nos tecidos por longos períodos após os níveis no sangue deixarem de ser detectáveis, sua eliminação ocorre principalmente através do metabolismo hepático, o restante é excretado na forma ativa pela urina e bile (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Eritromicina é rapidamente absorvida quando administrada via oral, duas horas após administração intramuscular as maiores concentrações são encontradas no fígado, pulmões e rins, é distribuída largamente no corpo com níveis de resíduos nos tecidos, geralmente superior ao do soro, sua eliminação ocorre tanto por metabolismo hepático como renal (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

As lincosamidas (lincomiinas, lincocinamidas) são monoglicosídeos ligados a um aminoácido. A lincomicina foi isolada de culturas de *Streptomyces lincolnensis*, já a clindamicina é um derivado semissintético. São ativas contra Gram positivo, micoplasma, boa atividade contra bactérias anaeróbias, impedem a síntese proteica bacteriana, ligando-se à subunidade 50S do ribossomo, impedindo a translocação do RNAt e inibindo a enzima peptidiltransferase, são antibióticos bacteriostáticos (SPINOSA et al., 2006).

Lincomicina é relatada por causar distúrbios gastrointestinais, e colite, além de úlceras cutâneas, urticária, poliartrite, danos hepáticos e distúrbios hematológicos. Sua absorção é rápida, amplamente distribuída no corpo e não se concentra em nenhum tecido em particular (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

REZENDE et al. (2012b) otimizaram e validaram um método de CLAE-EM/EM, com extração em fase sólida, para análise de confirmação de resíduos de lincomicina, clindamicina, tilmicosina, eritromicina e tilosina em rins bovinos, suínos, equino e de aves. O método de otimização foi realizado por meio de testes de mudanças no pH tampão de extração e nas concentrações de amônio / acetonitrilo de soluções eluente. Os resultados do processo de validação demonstram que este método é adequado para a quantificação e a confirmação de resíduos de antibióticos para o PNCR, pois separa os macrolídeos e a lincomicina com razoável resolução em uma corrida única de 18 minutos.

PIKKEMAAT et al., (2008), desenvolveram em seus estudos um método para a triagem de resíduos antimicrobianos aperfeiçoado para animais de abate. Baseia-se na análise do fluido da pelve renal e compreende cinco placas de ensaio, sendo as placas T para detecção de tetraciclina, Q para quinolonas, a B&M para

beta-lactâmicos e macrolídeos, A para aminoglicosídeos e S para sulfonamidas. O NAT-screening combina uma amostragem simples e eficaz e a estratégia de processamento da amostra com uma elevada capacidade de detecção, o sistema efetivamente detecta a grande maioria dos antibióticos utilizados na medicina veterinária abaixo de seu nível máximo de resíduos no rim.

DONKOR et al., (2011), realizaram um trabalho pesquisando um total de 414 amostras de carne, sendo carne bovina, caprina, ovina, suína e de aves, e 220 amostras de ovos, em Gana, para verificar a presença de resíduos de antibióticos nessas matérias-primas. Realizaram as pesquisas segundo o teste de inibição microbiana em placa descrito por Koenen-Dierick (1995), com algumas modificações.

A prevalência global de resíduos de antibióticos neste estudo em alimentos de origem animal foi de 21,1%. As taxas de prevalência de resíduos de antibióticos foram de 6.8 a 30.8% em que a carne bovina vem em primeiro lugar, depois carne ovina, carne suína, carne caprina e ovo, demonstrando assim, que é grande a quantidade de resíduos de medicamentos em Gana, ressaltando a importância das análises e a conscientização do produtor para respeitar o período de carência dos medicamentos. (DONKOR et al., 2011).

VRAGOVIC et al., (2011) analisaram a avaliação de risco de resíduos de estreptomicina e tetraciclina em carne e leite no mercado croata, considerando a ingestão diária desses produtos na alimentação. Analisaram 75 amostras de carne e 75 de leite no ano de 2009, pelo método de ensaio imunoenzimático. Nenhum dos resíduos encontrados ultrapassaram os seus limites máximos de resíduos.

Considerando que a ingestão diária tomada como referência para leite foi de 0,222Kg e para carne foi de 0,126Kg, com base nestes dados a ingestão de tetraciclina era 0,33µg/ pessoa/ dia para leite e 0,19µg/pessoa/dia para carne; e de estreptomicina de 2,56µg/ pessoa/ dia para leite e 4,78µg/pessoa/dia, sendo considerado o risco insignificante pois estão abaixo do valor médio para esses medicamentos veterinários (estreptomicina: 7,34 µg / pessoa / dia; tetraciclina: 0,52 µg / pessoa / dia) (VRAGOVIC et al., 2011).

Aminoglicosídeos são compostos muito hidrofílicos e são tradicionalmente difíceis de retenção em colunas de CLAE, assim, TAO et al., (2012), aperfeiçoaram a extração, parametrizaram a espectrometria de massa PR de pulverização, sob múltiplas monitorações de reação e fizeram separações por CLAE utilizando a coluna ST Capcell PAK para obter resultados satisfatórios. Neste estudo TAO et al. (2012) analisaram 15 aminoglicosídeos em carnes e fígados bovino, suíno e de aves, rins de bovinos e suínos, leite e ovos coletados a partir de mercados locais em Wuhan (Hubei, China). Encontraram a presença de resíduos de neomicina em 5 amostras de fígados suíno e 15 amostras de músculo de aves, resíduos de kanamicina em 11 amostras de fígado suíno, e 7 amostras de músculo e aves e resíduos de gentamicina em 8 amostras de fígado suíno. Os autores demonstraram a eficiência do método, utilizando valores de detecção menores do que os estabelecidos pelos critérios da EU e dos EUA, utilizaram valores entre 10-50µg/Kg, sendo portanto eficiente para detecção de vestígios de aminoglicosídeos.

Para que ocorra detecção eficiente de resíduos de antibióticos de diferentes classes, vários métodos tem sido pesquisados e neste intuito, BITTENCOURT et al. (2012), em que a metodologia apresentou separação de compostos adequado, por um processo de extração simples e capacidade de detecção entre 25% e 50% dos resíduos, do nível máximo estabelecido pelas autoridades legais. Utilizando de CLAE-EM, desenvolveram e validaram este método para triagem de 20

medicamentos veterinários (sulfonamidas, tetraciclinas e fluorquinolonas) através da Aplicação da Dispersão de Fase de Matriz Sólida (MSPD), utilizando areia e alguns mililitros de solvente orgânico, fornecendo um método rápido, muito barato e com protocolo ecológico, sendo importante no monitoramento do PNCR.

NONAKA et al. (2012), fizeram um estudo com os resultados do PNCR entre 2008 e 2009 para os resíduos de macrolídeos e aminoglicosídeos. Encontraram em 2008, em um total de 463 amostras de rins analisadas, 13 amostras positivas para macrolídeos e duas para aminoglicosídeos. Em 2009 foram 469 amostras de rins analisadas com 13 amostras positivas para macrolídeos e nenhuma para aminoglicosídeos, porém em somente uma amostra positiva foi encontrado valor superior ao LMR, mostrando assim que o programa vem aumentando o número de análises e que os produtores de bovinos, com o passar do tempo, estão se conscientizando da necessidade de respeitar o uso de antimicrobianos e o período de carência dos mesmos.

Um fator que pode reduzir o consumo de resíduos de medicamentos, é que a maioria dos tecidos de origem animal são processados (cozidos) antes do consumo, o que pode diminuir o grau de contaminação dos alimentos por vários tipos de resíduos, incluindo as penicilinas e tetraciclinas (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

Segundo REIG & TOLDRA (2008), os laboratórios de controle devem enfrentar uma demanda crescente de análises, assim como um maior número de resíduos a serem analisados em diferentes tipos de amostras, com orientações cada vez mais rigorosas de metodologias de acordo com as diretivas que vão surgindo, além da necessidade de investir em novos instrumentos importantes para a identificação e confirmação destes resíduos, tornando-se necessárias cada dia mais pesquisas nesta área.

Assim no Brasil, de acordo com LINS et al., (2012), para uma melhor eficácia do PNCR deveriam aumentar o número de laboratórios espalhando-os pelas cinco regiões do Brasil, tendo em conta o tipo de análises exigidas para estas regiões, bem como o recolhimento de amostras de forma equalizada e sazonal, podendo levar a um melhor perfil de desempenho em termos de laboratório, tempo de resposta e eficiência. Evitar a concentração de análises em alguns laboratórios. Procurar otimizar a recepção de amostras com procedimentos automatizados, dando aos laboratórios a possibilidade de estarem preparados para absorver os diferentes números de amostras ao longo das estações. Diversificar os métodos de triagem. Definir claramente os parâmetros de desempenho para a rede, permitindo ações corretivas eficientes, além do cumprimento das diretrizes regulatórias, mantendo os prazos e avaliando regularmente, a fim de melhorar o serviço.

Requisitos regulamentares nas análises de resíduos de medicamentos são limitados na maioria dos casos, geralmente identificam apenas o metabolito principal. Selecionam os metabolitos maiores, enquanto os menores não são detectados. Os metabolitos tóxicos são geralmente transitórios e muitas vezes presentes em pequenas quantidades. No entanto, o isolamento e identificação de todos os metabolitos é difícil e uma avaliação correta da toxicidade dos resíduos de medicamentos ainda é um desafio (BOTSOGLOU & FLETOURIS, 2001).

De acordo com BLASCO et al. (2007), são necessários métodos multiclases para monitorar em uma única fonte de alimento, uma variedade de medicamentos além de outros produtos químicos, otimizando o processo para oferecer resultados mais confiáveis à população.

Todos os anos são publicados os resultados do PNCR do ano anterior para

demonstrar a eficiência do plano e informar as ocorrências de contaminações. De acordo com a IN nº7 de 04 de abril de 2012, no ano de 2011 no Brasil, não foram encontradas amostras positivas para antimicrobianos na espécie bovina (BRASIL, 2012a).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como os antimicrobianos são necessários para o tratamento e cura de enfermidades que acometem os animais, o seu uso deve ser baseado em prescrições de médicos veterinários, respeitando a posologia e principalmente o período de carência dos mesmos, para que não ocorra a presença de resíduos nos alimentos de origem animal.

O PNCR está sendo eficaz e os produtores estão se conscientizando do uso de antimicrobianos, respeitando os períodos de carência. Porém como só ocorre fiscalização em bovinos abatidos em frigoríficos com SIF, com apenas amostras e não uma quantidade grande de animais analisados, esta pode não ser a realidade em todos os bovinos abatidos no país.

Assim com a implementação de novos laboratórios, uma política melhor de controle e uma maior quantidade de amostras para pesquisas, o PNCR possibilitará um maior fiscalização e melhores resultados para a segurança alimentar da população.

A necessidade de intensificação de pesquisas nesta área ocorre devido a falta de informações relativas aos efeitos que esses resíduos provocam nos seres humanos, além da investigação com relação à resistência das bactérias aos antimicrobianos. A responsabilidade dos médicos veterinários é grande no sentido de prescrever corretamente os antimicrobianos e informar ao produtor a necessidade de respeitar o período de carência dos medicamentos.

### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.P.; REZENDE, C.P.; SOUZA, L.F.; BRITO, R.B. Validation of a quantitative and confirmatory method for residue analysis of aminoglycoside antibiotics in poultry, bovine, equine, and swine kidney through liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Additives and Contaminants**. Londres, v. 29, n.4, p.517-525, 2012.

BECKER, M.; ZITTLAU, E.; PETZ, M. Residue analysis of 15 penicillins and cephalosporins in bovine muscle, kidney and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.540, p.19-32, 2004.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Portaria n.º 51, de 6 de fevereiro de 1986. Dispõe sobre a instituição do Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal – PNCRB. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal> Acesso em: 01 nov.2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 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. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16717> Acesso em 04 nov. 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 09 de 27 de junho de 2003. Proíbe a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol e nitrofuranos e os produtos que contenham estes princípios ativos, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal> Acesso em 06 nov. 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 7 de 04 de abril de 2012 (a). Publicar os resultados do acompanhamento dos Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes dos subprogramas de monitoramento e exploratório em Carnes (Bovina, Suína, de Aves e Equina), em Leite, Ovos, Mel e Pescado do exercício de 2011, na forma dos Anexos à presente Instrução Normativa. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal> Acesso em: 01 nov. 2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 11 de 22 de maio de 2012 (b). Publica o Subprograma de Monitoramento em Carnes (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Pescado, Mel, Ovos e Avestruz para o exercício de 2012, referente ao Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal - PNCRB, na forma dos Anexos I e II. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal> Acesso em 09 out. 2012.

BITTENCOURT, M.S.; MARTINS, M.T.; ALBUQUERQUE, F.G.S.; BARRETO, F.; HOFF, R. High-throughput multiclass screening method for antibiotic residue analysis in meat using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: a novel minimum sample preparation procedure. **Food Additives and Contaminants**. Londres, v. 29, n.4, p.508-516, abr. 2012.

BLASCO, C.; TORRES, C.M.; PICO, Y. Progress in analysis of residual antibacterials in food. **Trends in Analytical Chemistry**. Amsterdam v. 26, n. 9, p. 895-913, 2007.

BOTSOGLOU, N. A.; FLETOURIS, D. J. **Drug residues in food- pharmacology, food safety, and analysis**. 1 ed., Nova York, Marcel Dekker, 1194p, 2001.

CUNHA, A.L; SILVA, P.F, SOUZA E.A.; JÚNIOR, J.R.A.M; SANTOS, F.A.; VARGAS, E.A. Producing a sulfamethazine quality control material under the framework of ISO/CD Guide 80. **Food Additives and Contaminants**. Londres, v. 29, n.4, p.571-576, abr. 2012.

DONKOR, E.S.; NEWMAN, M.J.; TAY, S.C.K.; DAYIE, N.T.K.D.; BANNERMAN, E.; OLU-TAIWO, M. Investigation into the risk of exposure to antibiotic residues contaminating meat and egg in Ghana **Food Control**. Guildford. v.22. p.869-873. 2011.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Report of the World ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p.1935 2013

**Food Summit.** Roma, 1997. Disponível em: <http://www.fao.org/wfs> Acesso em: 21 nov. 2012.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food.** Roma, 2009. Capítulo 8 : Maximum residue limits for pesticides and veterinary drugs. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44065/1/WHO\\_EHC\\_240\\_11\\_eng\\_Chapter8.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44065/1/WHO_EHC_240_11_eng_Chapter8.pdf) Acesso em: 27 nov. 2012.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations - Online Edition: **"Residues of some veterinary drugs in foods and animals"** Roma, 2012 Disponível em: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-vetdrugs/en/> Acesso em: 27 nov. 2012.

GRATACÓS-CUBARSI, M.; CASTELLARI, M.; VALERO, A.; GARCÍA-REGUEIRO, J.A. Hair analysis for veterinary drug monitoring in livestock production. **Journal of Chromatography B.** Amsterdam. v. 834, p.14-25, 2006.

HOFF, R.; RIBARCKI, F. ZANCANARO, I.; CASTELLANO, L.; SPIER, C.; BARRETO, F.; FONSECA, S.H. Bioactivity-based screening methods for antibiotics residues: a comparative study of commercial and in-house developed kits. **Food Additives and Contaminants.** Londres, v. 29, n.4, p.577-586, abr. 2012.

LI, H.; Sun, H.; Zhang, J.; Pang, K. Highly sensitive and simultaneous determination of sixteen sulphonamide antibiotics, four acetyled metabolites and trimethoprim in meat by rapid resolution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Control.** Guildford, doi: 10.1016/j.foodcont.2012.09.028, 2012.

LINS, E.S.; CONCEIÇÃO, E.S.; MAURICIO, A.Q. Evolution of a residue laboratory network and the management tools for monitoring its performance. **Food Additives and Contaminants.** Londres, v. 29, n.4, p.490-496, abr. 2012.

MAGALHÃES, C.G.; PAIVA, C.R.; BOTELHO, B.G.; OLIVEIRA, A.M.G.; SOUZA, L.F.; NONAKA, C.V.; SANTOS, K.V.; FARIAS, L.M. CRAVALHO, M.A.R. In-house validation of PremiTest, a microbiological screening test with solvent extraction, for the detection of antimicrobial residues in poultry muscles. **Food Additives and Contaminants.** Londres, v. 29, n.4, p.535-540, abr. 2012.

MARTINS, A.A.; SCHMITZ, W.O. Indução de anemia aplástica por cloranfenicol em ratos wistar machos. **Interbio.** Dourados, v.1, n<sup>2</sup>, p.21-29, 2007.

MAURICIO, A.Q.; LINS, E.S. The national Agricultural Laboratories of Brazil and the control of residues and contaminants in food. **Food Additives and Contaminants.** Londres, v. 29, n.4, p.482-489, abr. 2012.

MOITA S. R.; PORTZ A.J.; MARTINS A. R. L.; ROCHA R. S.; FEIJÓ L. D. ; DANTAS R. M. Inocuidade de alimentos pelo controle de resíduos de nitrofuranos no Brasil. In CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Anais eletrônicos.** Disponível

em:[http://www.agricultura.gov.br/arg\\_editor/file/CRC/Poster%20CONBRAVET%202011%20-%20Nitrofuranos.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arg_editor/file/CRC/Poster%20CONBRAVET%202011%20-%20Nitrofuranos.pdf) Acesso em 17 out. 2012.

MOR, F.; SAHINDOKUYUCU KOCASARI, F. OZDEMIR, G.; OZ, B. Determination of sulphonamide residues in cattle meats by the Charm-II system and validation with high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Food Chemistry**. Londres, v. 134, p.1645-1649, 2012.

NITZAN, O.; SUPONITZKY, U; KENNES, Y.; CHAZAN, B.; RAZ, R.; COLODNER, R. Is Chloramphenicol Making a Comeback? **The Israel Medical Association Journal (IMAJ)**. Ramat Gan, v. 12, p.371-374, jun.2010.

NONAKA, C.K.V.; OLIVEIRA, A.M.G.; PAIVA, C.R.; ALMEIDA, M.P. REZENDE C.P.; MORAES, C.G.O.; BOTELHO, B.G.; SOUZA, L.F., DIAS, P.G. Occurrence of antimicrobial residues in Brazilian food animals in 2008 and 2009. **Food Additives and Contaminants**. Londres, v. 29, n.4, p.526-534, abr. 2012 .

PASCHOAL, J.A.R.; RATH, S.; AIROLDI, F.P.S.; REYES, F.G.R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**. São Paulo, v.31, n.5, p.1190-1198, 2008.

PEREIRA, A. M.P.T. Determinação de resíduos de fluoroquinolonas em amostras de tecido muscular de frangos e respectivo impacto na saúde humana [online].2009.129f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra. Disponível em: <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/13478> Acesso em: 04 out. 2012.

PIKKEMAAT, M.I.G.; DIJK, S.O-v.; SCHOUTEN, J.; RAPALLINI, M.; van EGMOND, H.J. A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT-screening). **Food Control**. Guildford. V. 19. P. 781-789. 2008.

REIG, M.; TOLDRA, F. Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection. **Meat Science**. Barking, v. 78, p.60-67, 2008.

REZENDE, C.P.; ALMEIDA, M.P. BRITO, R.B.; NONAKA, C.K., LEITE, M.O.Optimisation and validation of a quantitative and confirmatory LC-MS method for multi-residue analyses of  $\beta$ -lactam and tetracycline antibiotics in bovine muscle. **Food Additives and Contaminants**. Londres, v. 29, n.4, p.541-549, abr. 2012.

REZENDE, C.P.; SOUZA, L.F.; ALMEIDA, M.P.; DIAS, P.G.; DINIZ, M.H.; GARCIA, J.C. Optimisation and validation of a quantitative and confirmatory method for residues of macrolide antibiotics and lincomycin in kidney by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Food Additives and Contaminants**. Londres, v. 29, n.4, p.587-595, abr. 2012b.

RONNING, H.T.; EINARSEN, K.; ASP, T.N. Determination of chloramphenicol residues in meat, seafood, egg, honey, milk, plasma and urine with liquid chromatography–tandem mass spectrometry, and the validation of the method based on 2002/657/EC. **Journal of Chromatography A**. Amsterdam v.1118. P.226-233.

2006.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 897p.

SOFOS, J.N. **Improving the safety of fresh meat**. 1 ed. Boca Raton, CRC Press LLC, 2005, 780p.

STOLKER, A.A.M.; BRINKMAN, U.A.T. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals—a review. **Journal of Chromatography A**. Amsterdam. v.1067, p. 15-53. 2005.

STOLKER, A.A.M.; ZUIDEMA, T.; NIELEN, M.W.F. Residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam v. 26, n. 10, p. 967-979, 2007.

TAO, Y.; CHEN, D.; YU, H.; HUANG, L.; LIU, Z.; CAO, X.; YAN, C.; PAN, Y.; LIU, Z.; YUAN, Z. Simultaneous determination of 15 aminoglycoside(s) residues in animal derived foods by automated solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**. Londres v. 135, p. 676-683, 2012.

THONGSRISOMBOON, P.; LIAWRUANGRATH, B.; LIAWRUANGRATH, S.; SATIENPERAKUL, S. Determination of nitrofurans residues in animal feeds by flow injection chemiluminescence procedure. **Food Chemistry**. Londres, v. 123, p. 834-839, 2010.

VRAGOVIC, N.; BAZULIC, D.; NJARI, B. Risk assessment of streptomycin and tetracycline residues in meat and milk. **Food and Chemical Toxicology**. Oxford. v.49, p. 352–355, 2011.

VÉKEY, K. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**. Amsterdam. v. 921, n.2, p.227-236, 2001.