

Utilização de hormônios e antibióticos em produtos alimentícios de origem animal: aspectos gerais e toxicológicos

Use of hormones and antibiotics in animal food products: general and toxicological aspects

ABSTRACT

Objective: To approach the use of hormones and antibiotics in the production of animal origin food, mechanisms of action, toxicity, regulations in Brazil and worldwide and methods for residues detection in food. **Data source:** For this review, articles were searched using databases indexed in MEDLINE, LILACS, PUBMED and SciELO, using the key words: residues, antibiotics, hormones, meat, milk, eggs, in addition to their translations in Portuguese and Spanish. **Data synthesis:** We considered publications in the last 10 years, including 28 articles. **Conclusions:** The consumption of foods containing antibiotics and hormones residues is a problem to be considered, therefore, it is necessary to develop better methods of compounds detection and invest in food inspection.

Keywords: Chemical waste. Meat. Milk. Food contamination.

RESUMO

Objetivo: Abordar o uso de hormônios e antibióticos na produção de alimentos de origem animal, mecanismos de ação, toxicidade, regulamentação no Brasil e no mundo e os métodos para detecção dos resíduos nos alimentos. **Fonte de dados:** Para essa revisão, artigos foram pesquisados usando bancos de dados indexados no MEDLINE, LILACS, PubMed e SciELO, utilizando as palavras-chave: resíduos, antibióticos, hormônios, carne, leite, ovos, além das respectivas traduções em inglês e espanhol. **Síntese dos dados:** Foram consideradas publicações dos últimos 10 anos, sendo incluídos 28 artigos. **Conclusões:** O consumo de alimentos contendo resíduos de hormônios e antibióticos constitui um problema a ser considerado, entretanto há necessidade de desenvolver melhores metodologias de detecção dos compostos e investir em fiscalização de alimentos.

Palavras-chave: Resíduos químicos. Carne. Leite. Contaminação de alimentos.

Regiane Lopes de Sales^{1*},
José Luiz Marques Rocha²,
Josefina Bressan³

¹Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Rio Paranaíba-MG, Brasil

²Programa de Pós-graduação Ciência da Nutrição, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa-MG, Brasil

³Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa-MG, Brasil

*Dados para correspondência:

Regiane Lopes de Sales
Universidade Federal de Viçosa – UFV – Campus Rio Paranaíba, Rodovia MG 230, Km 7, BBT sala 301, CP 22, CEP 38810-000, Rio Paranaíba-MG, Brasil
E-mail regiane@ufv.br

INTRODUÇÃO

O aumento populacional ao longo da história impulsionou o uso de novos métodos e produtos químicos na produção de alimentos. A criação intensiva de animais elevou o uso de medicamentos veterinários e de substâncias promotoras do crescimento no intuito de maximizar a eficiência alimentar e reduzir o tempo de criação.¹

A produção animal é a atividade mais expressiva do agronegócio brasileiro. O país é o segundo produtor mundial de carne bovina, terceiro de carne de frango, quarto de carne suína e quinto na produção de leite de vaca. Ocupa ainda local de destaque no *ranking* da exportação, sendo o maior exportador de carne bovina e de frango e quarto lugar para a carne suína.^{2,3} Nesse contexto, o uso de medicamentos terapêuticos e profiláticos assegura a produtividade e a competitividade no país.¹

Os aditivos são utilizados para melhorar o desempenho dos animais e reduzir os custos de produção.⁴ Considera-se aditivo a substância, o microrganismo ou produto formulado normalmente não utilizado como ingrediente, com ou sem valor nutritivo. Esse pode melhorar as características dos produtos destinados à alimentação animal, o desempenho deles e de seus produtos.⁵

A segurança alimentar zela pelo controle de resíduos nos alimentos, em decorrência do uso de pesticidas e drogas veterinárias, ou por acidentes envolvendo contaminantes ambientais.⁶ Entretanto, poucos países dispõem de estatísticas sobre a quantidade de fármacos veterinários usados nas criações animais.⁷ Estima-se que mais de 70% desses compostos sejam antibióticos.⁸ Nos EUA são comercializados, anualmente, cerca de 11 mil toneladas de agentes antimicrobianos para a produção animal, sendo quase metade destinada à avicultura.⁹ Dentre as poucas informações existentes no Brasil, um estudo qualitativo da comercialização de medicamentos veterinários em frangos no Paraná revelou o uso de 126 produtos comerciais, com 49 diferentes princípios ativos.¹⁰

Como visto, o uso de antibióticos e hormônios é uma realidade na produção de alimentos de origem animal. Essas questões assumem um papel determinante para aqueles envolvidos na produção agropecuária. No entanto, essas práticas devem ser

discutidas considerando seus impactos sociais e ambientais, bem como na saúde dos consumidores.

OBJETIVO

Analisar criticamente os aspectos toxicológicos e regulamentares de antibióticos e hormônios perante o consumo humano de resíduos inclusos nos alimentos de origem animal.

MÉTODO

A presente revisão bibliográfica foi realizada a partir dos periódicos disponíveis no portal da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e nas principais bases de dados em saúde: MEDLINE, LILACS, PubMed e SciELO, utilizando as palavras-chave: resíduos, antibióticos, hormônios, carne, leite, ovos, além das respectivas traduções em inglês e espanhol. Os artigos considerados foram especialmente aqueles publicados nos últimos 10 anos.

REVISÃO

ASPECTOS GERAIS

ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos são utilizados na medicina veterinária para combater patologias causadas por bactérias, bem como para profilaxia, evitando a propagação das doenças.⁸ As tetraciclina e os macrolídeos são exemplos de antibióticos administrados em suínos para estabilização da flora intestinal no período de desmame e em bovinos no tratamento de doenças respiratórias e mastites.^{4,11} Além do aspecto profilático, os antibióticos são adicionados à ração animal para melhorar o desenvolvimento animal e reduzir custos de produção.¹²

O potencial de uso dos antibióticos como promotores do desenvolvimento animal foi descoberto nos anos 1940 em aves que consumiram ração a que foi adicionada uma dose subterapêutica de antibiótico.⁹ Acreditava-se que a redução das bactérias intestinais patogênicas dos animais tratados melhorava seu crescimento. Além disso, o uso de doses subterapêuticas aumentou a produção das aves, o número de filhotes por parto em suínos e a produção em vacas leiteiras. Diante disso, essa prática se tornou rotina nos sistemas modernos de produção animal, especialmente de aves e suínos.¹³

Os mecanismos pelos quais os antibióticos promovem o crescimento estão relacionados à interferência na síntese da parede celular e a replicação cromossômica bacteriana, além de eles interferirem no processo de respiração celular e síntese protéica (translação bacteriana)¹⁴, provocando redução da população bacteriana¹⁵ e, conseqüentemente, das perdas energéticas devidas à fermentação microbiana. Estima-se que em suínos cerca de 6% da energia da dieta é perdida na fermentação microbiana.¹⁶

Os antibióticos também diminuem a produção de toxinas bacterianas e o consumo de aminoácidos dietéticos pela microbiota, conseqüentemente aumentam a sua disponibilidade para o desenvolvimento animal. Eles também reduzem a espessura da parede intestinal e melhoram a absorção de monossacarídeos, aminoácidos, vitaminas e minerais.¹⁵

Antibióticos podem ser administrados através de injeção (intramuscular, endovenosa ou subcutânea), via oral (em alimentos ou na água), uso tópico e por infusões intramamárias e intrauterinas. Além disso, podem ser continuamente adicionados às rações ou à água de beber para prevenir ou controlar doenças específicas. Teoricamente, todas essas vias, em condições de abuso, levam ao aparecimento de resíduos em produtos de origem animal como leite e ovos.¹⁷ O uso indevido e o descumprimento dos períodos de carência são as principais causas dessa contaminação.¹⁸ Dependendo do antibiótico e da espécie animal, são administrados de 5 a 20g/tonelada.¹⁹

HORMÔNIOS

Os hormônios anabolizantes também são eficazes para aumentar a produtividade animal.²⁰ Estudados há mais de 40 anos, aumentam a eficiência na produção de carne. Esses hormônios aumentam a retenção de nutrientes da dieta, principalmente a retenção e transformação de nitrogênio em proteínas.²⁰ O ganho de massa muscular não se deve ao aumento do número de células (hiperplasia) mas ao aumento do volume celular (hipertrofia). Porém, o ganho de massa muscular não é proporcional ao aumento da força.²¹

Essas substâncias podem ser classificadas como compostos hormonais esteróides endógenos (naturalmente presentes no organismo animal) ou exógenos. Esses últimos dividem-se em

xenobióticos (acetato de trembolona – TBA, acetato de malengestrol – MGA e zeranol), esteróis sintéticos (etinilestradiol e metiltestoteron) e estilbenos (dietilelbestrol – DES e hexoestrol).²²

Destacam-se os DES, que são proibidos mundialmente²³ e o zeranol, que também é proibido no Brasil²⁴, porém de uso controlado em outros países.²⁵ Em determinadas espécies esses produtos aumentam a eficiência alimentar, o ganho de peso vivo e da carcaça, além do percentual de carne.²¹

A maioria dos agentes anabólicos é convertida no fígado em metabólitos menos ativos e mais solúveis em água, sendo secretados na bile e excretados nas fezes ou urina.²⁵ Entretanto, uma parte desses metabólitos pode entrar no sistema circulatório e permanecer em outros tecidos como resíduo. Os endógenos são mais rapidamente metabolizados, sendo menos ativos quando administrados oralmente, dessa forma, em geral não representam riscos em produtos animais. Já os anabólicos exógenos ou sintéticos são mais resistentes às biotransformações, o que favorece seu acúmulo na musculatura, rins e fígado.¹²

A combinação dessas substâncias é prática comum e exerce efeito sinérgico sobre o ganho de peso. A aplicação de menores doses de cada anabolizante dificulta a detecção de resíduos pelos órgãos de fiscalização. Resíduos de anabolizantes estão presentes em maiores concentrações na bile, nas fezes e na urina, seguidas do fígado e dos rins. Músculos e gordura apresentam menores concentrações desses resíduos.²²

Anabolizantes são aplicados como implantes, injeções ou como aditivos alimentares. A via de administração mais utilizada em bovinos é o implante em parte não comestível da carcaça como, por exemplo, na orelha. A administração oral ou injeção (oleosa ou cristalina) aumenta a possibilidade de abusos e a ocorrência de resíduo em tecidos comestíveis, o que torna esse um problema de saúde pública.²¹

ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

ANTIBIÓTICOS EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

Antibióticos alteram o número de bactérias e seus metabólitos, bem como a resistência bacteriana a antibióticos e a habilidade de prevenir colonização patogênica, como da *Salmonella spp.* e *Escherichia*

coli.²⁶ Seu uso prolongado e excessivo para fins terapêuticos na medicina humana e veterinária pode levar a uma seleção de linhagens bacterianas resistentes.²⁷

Drogas clássicas no arsenal terapêutico, como aquelas de introdução recente no comércio, vêm se tornando ineficientes.²⁸ Esse quadro tende a se agravar, principalmente nos casos de patógenos que infectam tanto animais quanto humanos. Mesmo quando esses não são coincidentes, há possibilidade de transferência dessa resistência entre bactérias, inclusive entre espécies.¹² Essa resistência interfere na manifestação de patologias. Por exemplo, a presença de *Campylobacter* resistentes aumenta em 3 a 4 dias a duração da diarreia em humanos.²⁹ Nos EUA, 25% das bactérias *Salmonella* isoladas em peru eram resistentes a um ou mais antibióticos.³⁰ Devido às alterações em humanos e animais, o uso de antibióticos para melhorar a produção animal foi proibido em alguns países.

Resíduos de antibióticos em produtos de origem animal, além de causar um possível efeito toxicológico direto, pode também acarretar reações alérgicas em consumidores sensíveis, cujos efeitos variam de reações cutâneas, náuseas, vômitos e urticária ao choque anafilático.¹² Por exemplo, estudo documentado por Martin (2011)³¹ relata reações de hipersensibilidade após consumo de leite em pessoas que apresentaram testes cutâneos positivos à penicilina e negativos ao leite. Nesses casos, doses irrisórias já desencadeariam o processo. Essa reação se torna relevante uma vez que indivíduos com essa hipersensibilidade representam aproximadamente 10% da população.

A contaminação de alimentos com antibióticos pode trazer prejuízos para a indústria de laticínios, seja inibindo culturas utilizadas na produção láctea (queijos e iogurtes) seja influenciando nos testes de qualidade do leite.^{17,32} Outros problemas relacionados ao consumo de antibióticos incluem: discrasias sanguíneas (cloranfenicol), danos aos aparelhos auditivo e renal, além de efeito teratogênico (metronidazol, rifampicina, trimetopim, estreptomicina e tetraciclina) *in vivo* e *in vitro*.³³

A resistência bacteriana deve ser estudada a fundo a fim de prevenir potenciais danos à saúde humana e animal. Porém, esse assunto deve ser tratado sem extremismos. Apesar do risco de

abusos indiscriminados em animais, os principais casos documentados dizem respeito ao descontrole no uso de antibióticos através de medicamentos e não por alimentos. Das 20 espécies bacterianas resistentes aos antibióticos citadas por Cervantes (2009)⁴, 12 não possuem relação com a cadeia alimentar. Nas oito restantes constatou-se que o percentual de contribuição de resistência bacteriana através dos alimentos é menor que 1%. O estudo da resistência bacteriana provocada por consumo de alimentos com resíduos de antibióticos exige uma visão multidimensional, com estudos envolvendo o antibiótico na produção animal, a presença de resistência, o consumo humano e um rastreamento genético da bactéria. Parte desses estudos é realizada antes da aprovação do antimicrobiano, com estabelecimento do LMR (limite máximo de resíduos).³⁴

A cocção da carne em altas temperaturas e a fervura do leite destroem as bactérias contaminantes e, assim, quando esses alimentos são ingeridos por humanos⁴ não podem transmitir resistência bacteriana. Ademais, muitos antibióticos administrados aos animais são excretados nas fezes e urina na sua forma original ou parcialmente metabolizados.^{35,36}

Outro ponto a ser discutido é o uso de excretas animais e do lodo de esgoto como adubo, uma das principais formas de disseminar os resíduos de antibióticos no ambiente.³⁷ Uma vez no ambiente, esses resíduos podem se acumular no solo, sofrer lixiviação ou, ainda, ser transportados para os rios. Além disso, eles podem ser absorvidos e se acumular nos tecidos vegetais, resultando em risco à saúde humana, principalmente quando são consideradas a classe dos medicamentos: a maioria utilizada na produção animal é a mesma utilizada na medicina humana. Individualmente, pequenas dosagens em criações individuais não têm apresentado risco, mas com relação ao conjunto, considerando principalmente resíduos em efluentes de água para consumo humano, ainda há muitas incertezas sobre essa contaminação.^{38,39}

Pequenas quantidades dessas substâncias são encontradas em diferentes matrizes alimentares (ngL^{-1} ou kg^{-1} a μgL^{-1} ou kg^{-1}).^{8,39,40} Entretanto, a extensão e as possíveis implicações para a saúde humana da exposição indireta a resíduos de antibióticos via ambiente ainda são pouco conhecidas. As pesquisas em solo brasileiro são escassas, sendo

ainda muito incipientes os conhecimentos sobre os impactos ambientais.¹ Em adição às questões já mencionadas, sabe-se muito pouco sobre os efeitos, em diferentes organismos animais, da exposição crônica a baixas concentrações desses compostos.³⁹

Apesar de todo o exposto, há considerável controvérsia sobre o prejuízo causado pelo uso de antibióticos para promover o crescimento em animais destinados à produção de alimentos.¹¹ Além disso, a remoção do uso dessas substâncias aumentaria o custo de produção, mas não reduziria o risco dos seres humanos serem acometidos por bactérias resistentes a esses medicamentos.⁴¹ Por exemplo, relatório sobre o uso de antibióticos na agricultura americana concluiu que um aumento de 1,76% nos custos de produção de aves surgiria a partir da remoção do uso de antibióticos, resultando em um maior custo para os consumidores de \$2,20 por capita ao ano.⁴²

Esses dados e discussões sobre o uso contínuo de antibióticos na criação de animais destinados à alimentação demonstram a necessidade de debates, considerando os possíveis efeitos sobre a saúde dos consumidores.

HORMÔNIOS EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

O uso de anabolizantes naturais e sintéticos foi proibido no Brasil após a constatação científica de que esses produtos desencadeiam uma série de efeitos colaterais. Dentre suas peculiaridades químicas e biológicas, esses compostos são capazes de mimetizar os efeitos dos hormônios presentes nos organismos animais e humano.²¹

De acordo com o 32º Informe do Comitê Misto do Codex Alimentarius/FAO/WHO (1988)²³, a ingestão de alimentos contaminados pode levar ao aparecimento de distúrbios endócrinos tais como a indução de puberdade precoce em crianças, avanços na idade óssea, com repercussões negativas no crescimento, modificações de caracteres sexuais, entre outros.

Os metabólitos derivados de compostos hormonais sintéticos, como o DES, podem ser tóxicos e ter ação carcinogênica para os consumidores humanos.²¹ Estudos epidemiológicos realizados nos EUA constataram presença de tumores vaginais em filhas de pacientes que utilizaram DES como antiabortivo.⁴³ Tumores como o de

mama, endométrio, ovário, hipófise, testículos, rins e medula foram constatados em diferentes espécies (ratos, coelhos, camundongos, hamsters e cobaias) após administração do DES.⁴⁴

O DES e seus derivados, além da ação genotóxica, apresentam alta função estrogênica, que pode dar-se por via de ingestão e absorção digestiva. O risco potencial de seu efeito tóxico é aumentado devido à possibilidade de atuar por via oral ou por meio de carne ingerida.²¹

Os agentes anabólicos atuam diretamente sobre o crescimento tumoral, porém sem influência sobre o DNA. Assim, alguns parâmetros como carcinogenicidade e ação genotóxica devem ser analisados para constatar seu efeito tóxico.⁴⁴

Devido à escassez de estudos, principalmente no Brasil, pouco se sabe sobre o impacto do uso de hormônios na produção de alimentos de origem animal, seus efeitos na saúde deles e na dos consumidores. Entretanto, a existência de leis restritivas garante que são precipitadas as conclusões de que o consumo de carnes, ovos e leite deva ser evitado devido à presença de hormônios utilizados em sua produção. Assim, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas acessíveis de detecção rápida, que tornem a fiscalização constante e eficaz.

REGULAMENTAÇÃO DE HORMÔNIOS E ANTIBIÓTICOS

Diversos países têm restringindo o uso de hormônios na produção animal devido ao perigo potencial para saúde humana e a deficiência de metodologias sensíveis para sua detecção.²¹ Em 1989, a Comunidade Econômica Europeia proibiu o uso de substâncias anabolizantes na produção, o comércio e importação de produtos de origem animal que apresentem resíduos dessas substâncias. Em contrapartida, o uso de compostos anabolizantes naturais é permitido no Canadá, Austrália, Nova Zelândia e Argentina.²² Porém somente o DES tem uso proibido mundialmente devido à comprovação de seu efeito carcinogênico.⁴⁵

Alguns hormônios são permitidos nos EUA, no entanto, o mesmo não ocorre no Brasil. Desde 1991 proibiu-se a importação, produção, comercialização e uso de substâncias naturais ou artificiais para fins de crescimento e/ou engorda de animais de corte.²¹ E ainda, partir de 1999, tornou-se crime hediondo o uso de anabolizantes, reforçados pelas

IN 10/2001 e 17/2004.^{46,47} Entretanto, a exemplo do que ocorreu em outros países, apesar da proibição, muitos produtos são comercializados de forma ilegal.⁴⁸ Os efeitos indesejáveis na produção ocorrem frequentemente, resultado das altas doses aplicadas⁴⁵, entretanto pouco se sabe sobre esse comércio clandestino.

No Brasil, a presença de resíduos de antibióticos é controlada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA). A realização de programas de monitoramento de resíduos de contaminantes em alimentos, assim como o Plano Nacional de Controle de Resíduos (PNCR) do MAPA são essenciais para que ações de vigilância sanitária possam ser desenvolvidas, prevenindo e controlando possíveis danos à saúde do consumidor.⁴⁹

Atualmente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento brasileiro autoriza o uso de cerca de 15 compostos antibióticos como aditivos na alimentação animal e outros 50 para fins terapêuticos, muitos dos quais de uso comum entre as diversas espécies animais, como bovinos, suínos, aves, cães, caprinos.⁴⁸

Os órgãos reguladores e de pesquisa têm dado atenção especial aos riscos à saúde humana representados pela exposição direta aos resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal, considerando-se para isso os valores de Ingestões Diárias Aceitáveis (IDA) e LMR estabelecidos para esses produtos.^{50,51}

Estabelecer os LMR é competência do Ministério da Saúde. No caso de não estarem estabelecidos por aquele ministério, utilizam-se os internalizados no MERCOSUL, os recomendados pelo Codex Alimentarius, os constantes nas Diretivas da União Europeia e os utilizados pelo FDA/USA. Nesse sentido, o PNCR revisado e alterado pela Portaria 50/2006 prevê a adoção de programas de controle de resíduos em carne, mel, leite e peçados. 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, determinando o LMR e quantidades de amostragens a serem realizadas.⁵²

Outro ponto a ser considerado na determinação do LMR é a fonte de dados de consumo alimentar

utilizada pelos órgãos. Por exemplo, os dados de consumo de alimentos usados pela JECFA baseiam-se em uma cesta teórica de alimentos calculada com base em informações sobre os hábitos de consumo alimentar, fornecidas há décadas por poucos países. Embora essa abordagem leve a estimativas conservadoras da exposição crônica, ela não reflete a situação real. Portanto, uma nova abordagem, baseada na IDA, derivada da mediana dos valores de concentração nos tecidos, foi proposta e adotada na 66ª reunião da JECFA, em fevereiro de 2006. Mas essas ações ainda são muito incipientes.¹⁸

A ANVISA monitora desde 2003 os produtos de origem animal, pelo Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários (PAMVet), criado pela portaria 253/2003. Tem como objetivo monitorar carne, leite, ovos, mel. Entretanto, apesar de avanços contínuos na metodologia e fiscalização, só o leite foi monitorado desde que o programa foi criado.

O modelo atual existente para regular as relações produção-consumo de alimentos no Brasil, com a divisão de atribuições entre ANVISA e MAPA, ainda é relativamente recente, acarretando conflitos de competências e indefinições, tendo ainda que se desenvolver, aumentando as matrizes de fiscalização, localidades fiscalizadas e metodologia de detecção.

O uso de antibióticos na produção animal pode produzir benefícios inquestionáveis e algumas vezes insubstituíveis, como prevenção e controle das infecções entéricas, produção de alimentos mais seguros, maior bem-estar animal, maior eficiência de produção e menor custo de produção.⁴ Já o uso excessivo desses compostos pode estar associado a problemas no manejo sanitário e alimentar nos estabelecimentos de criação. Um manejo sanitário e alimentar adequado pode evitar o uso excessivo e desnecessário desses produtos.⁵³

Antes de utilizar um antibiótico de uso exclusivamente terapêutico, deve-se verificar a existência, entre as substâncias permitidas, de uma que possa obter resultado similar. Além disso, estratégias que empreguem outros produtos, como prebióticos e probióticos podem evitar o seu uso desnecessário.^{14,54}

Um resumo da legislação brasileira sobre o uso de hormônios e antibióticos na produção

de alimentos de origem animal é apresentado na Tabela 1.

MÉTODOS DE DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE HORMÔNIOS E ANTIBIÓTICOS

Inicialmente, as amostras são submetidas a métodos de triagem, definidos como métodos de análise qualitativos. Um resultado suspeito indica que pode ter sido superado o LMR e que a análise deverá ser realizada novamente por meio de métodos confirmatórios, fornecendo fundamento para ação regulatória.⁵⁵

Para fiscalização e monitoramento eficientes dos níveis de resíduos na produção de alimentos, são necessários métodos analíticos validados que garantam a segurança e confiabilidade dos resultados gerados.⁵⁶

Dois tipos são usados na detecção de resíduos de anabolizantes, os imunoenaios e os métodos físico-químicos. Os imunoenaios mais utilizados são o radioimunoensaio (RIA) e o método imunoenzimático (ELISA), os quais são empregados rotineiramente para detecção. São exemplos Penzyme e Teste de Receptor, métodos que baseiam-se na reação antígeno-anticorpo e posterior revelação dessa reação, a qual pode ser por reação enzimática ou por emissão de radioatividade.²² O RIA tem sido amplamente usado em análises de rotina, por ser uma técnica rápida, de alta sensibilidade e que permite análise de grande número de amostras, além de ter baixo custo. Entretanto, a baixa especificidade e o uso de agente radioativo do ELISA tornam o método uma alternativa vantajosa.⁵⁷

Tabela 1. Legislação brasileira que rege a utilização de antibióticos e hormônios.

Normativa	
Decreto 76.986/76	Revogado. Dispõe sobre a fiscalização obrigatória de produtos de origem animal.
IN 01/2003	Boas práticas de fabricação.
OC 006/2003	Procedimento para uso de substâncias medicamentosas via ração animal.
OC 09/2004	Forma de declaração dos aditivos nos registros e rótulos dos produtos para alimentação animal.
Decreto 5.053/2004	Regulamenta a fiscalização de produtos de uso veterinário e dos estabelecimentos que os fabriquem e/ou comercializem.
IN 13/2004	Aditivos para produtos destinados à alimentação animal.
IN 26/2009	Regulamentação técnica para fabricação, controle de qualidade, comercialização e emprego de antibióticos.
Restritiva	
Portaria SVS/MS 818/1998	Proíbe a avoparcina.
IN 10/2001	Proíbe o uso de anabolizantes para bovinos.
Portaria 31/2002	Proíbe o uso de princípios ativos de arsenicais e antimoniais.
IN 9/2003	Proíbe fabricação, importação, comercialização e uso do cloranfenicol e nitrofuranos.
IN 11/2004	Proíbe fabricação, importação, comercialização e uso do olaquinox.
IN 17/2004	Proíbe o uso de hormônios na alimentação e produção de aves.
IN 35/2005	Proíbe fabricação, importação, comercialização e uso do carbadox.
Portaria 50/2006	Programa nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal (PNCRPOA) – determina limites máximos de resíduos e quantidades de amostras a serem realizadas.

IN: instrução normativa; OC: ofício circular; SVS/MS: Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde. Fonte: Adaptado de Schroeder (2006).⁵³

Os métodos de análise descritos são eficientes quando há um número pequeno de substâncias a serem controladas. Devido ao aumento do número de substâncias ilegais usadas, os métodos de detecção baseados em anticorpos tornaram-se inadequados. De fato, a alta especificidade dos anticorpos impede a detecção precisa de mais de uma substância, o que torna impossível, por razões econômicas, a realização de um imunoenensaio específico para cada substância.⁵⁸

Para determinações quantitativas, assim como métodos de referência, são usados os métodos físico-químicos por cromatografia, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG – EM) e cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE).²² A técnica do CG – EM tem sido usada como método confirmatório⁵⁷, sendo uma das mais importantes na identificação de anabolizantes, visto que combina o poder de resolução do cromatógrafo a gás à alta seletividade do detector de massa, tendo-se, com isso, a identificação de anabolizantes em concentrações muito baixas (ng/L ou ng/kg).

A CCDAE permitiu uma determinação rotineira de vários resíduos anabólicos em amostras de urina bovina, com sensibilidade na faixa de 0,5 para 10µg/kg. O uso dessa técnica tem a capacidade de separar e analisar um grande número de compostos em poucos minutos e com alta resolução, detectando anabolizantes na ordem de ppb (parte por bilhão). A CLAE acoplada a detectores ultravioleta tem sido usada como método preparativo, ou seja, para purificação das amostras biológicas para posterior aplicação de técnicas mais sensíveis de detecção e quantificação, como CG-EM, CCDAE, ELISA, RIA.²²

Os métodos utilizados para detecção de resíduos de antibióticos em alimentos baseiam-se em três princípios básicos: o efeito direto em um microorganismo teste, o reconhecimento da forma tridimensional molecular e o uso das características físico-químicas dos antibióticos.⁵⁹ Dentre esses métodos, a maioria dos estudos baseia-se nos testes microbiológicos.

Muitas matrizes biológicas (urina, fezes e tecidos) podem ser usadas para controlar o uso ilegal de agentes anabólicos em animais. Mas o uso

de apenas uma matriz, como urina ou fezes, pode ser insuficiente para assegurar o não tratamento do gado com essas substâncias.⁵⁹

Já para detecção de antibióticos, como as bactérias da microbiota intestinal são afetadas pela utilização desse composto, os testes microbiológicos são realizados por meio de culturas do intestino de indivíduos, observando os efeitos das substâncias no metabolismo bacteriano.²⁰ Assim, são realizados testes para analisar a alteração qualitativa e quantitativa da população bacteriana, a mensuração da atividade bioquímica, como produção de ácidos graxos de cadeia curta, produção de metano, redução de sulfato, metabolismo de ácidos biliares e atividade de algumas enzimas (azoredutase, 7-dehidroxilase, b-glucuronidase, b-glicosidade). Esses métodos podem ser realizados *in vitro* (plaqueamento de culturas isoladas, incubação de suspensão fecal, culturas contínuas e semicontínuas, simulação do intestino por sistemas fechados) e *in vivo* (utilizando animais de laboratório com culturas próprias e do intestino humano e observação da microbiota no próprio indivíduo).⁶⁰

Dentre as desvantagens das técnicas microbiológicas destacam-se baixa seletividade na identificação de antibióticos; restritos limites de detecção para muitos compostos e incidência de resultados falsos positivos.³² Assim, os métodos físico-químicos, como os que empregam cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), são os que possuem maior sensibilidade para detectar resíduos de antibióticos. A capacidade de esses métodos identificarem seletivamente e quantificarem níveis baixíssimos de resíduos tem garantido seu uso, principalmente para a confirmação de amostras positivas em métodos de triagem.⁵⁸

Novos métodos de detecção de resíduos de agentes de crescimento têm sido pesquisados, o principal desafio é identificar substâncias novas, desconhecidas. Uma boa perspectiva são os marcadores biológicos, como os fatores de crescimento IGF-1 (fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1), IGF-1BP3 (proteína 3 ligadora de IGF-1), somatotropina, apo e lipoproteínas, valores séricos de creatinina e n-metil-histidina, citocinas inflamatórias como IL-1 α , IL-6 e β -actina, que sofrem alterações com a utilização de agentes anabólicos.⁶¹

Existe um conjunto de recomendações, realizadas por várias instituições como a Organização Mundial de Saúde (WHO), visando à proteção da saúde animal e humana. No entanto, sabe-se que, na prática, os abusos são frequentes e a fiscalização necessita de melhorias constantes. Assim, a atribuição de responsabilidades às autoridades de regulamentação ligadas à agropecuária e aos produtores responsáveis deve ser monitorada.

COMENTÁRIOS FINAIS

Problemas graves existem em relação ao uso e comercialização de hormônios, apesar da proibição. O contrabando se faz presente e deve ser combatido pela fiscalização brasileira. Mais estudos são necessários sobre a interface resíduos de antibióticos via ambiente, alimentos e resistência bacteriana. E ainda mais urgente é a necessidade de melhorar a base de dados para estabelecimento da IDA, tornando os dados dos LMR mais reais. Avanços tecnológicos relevantes vêm ocorrendo na área de uso de melhoradores de desempenho não

antibióticos ou hormonais (probióticos, enzimas, ácidos orgânicos), mas o conhecimento a esse respeito é escasso.

Existem fatores de confundimento, inclusive o consumo de antibióticos e resíduos de hormônios por humanos através de medicamentos, água e outros alimentos indiretamente relacionados. Além disso, não existe um padrão ouro, ou metodologias que possam ser aplicadas com simplicidade e agilidade, que muitas vezes são restritas ao campo experimental.

É importante o investimento na melhoria da fiscalização e maior investimento em alternativas de produção animal para reduzir a utilização excessiva e desnecessária desses compostos que podem gerar insegurança alimentar, com a presença excessiva de resíduos em alimentos.

AGRADECIMENTOS

A Juliana Gonçalves Vidigal, pela colaboração inicial na revisão.

REFERÊNCIAS

1. Regitano JB, Leal RMP. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. *Rev Bras Ciênc.* 2010;34(3):601-16. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832010000300002>.
2. Unites States Department Agriculture – USDA [Internet]. Washington: USDA; 2011 [citado em 06 maio 2011]. Disponível em: www.usda.gov.
3. Minas Gerais. Secretaria do Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Subsecretaria do Agronegócio. Perfil do Agronegócio Mundial [Internet]. Belo Horizonte: SEAPA; 2014 [citado em 14 nov. 2014]. Disponível em: http://www.agricultura.mg.gov.br/images/files/perfil/perfil_mundial_mar_2014.pdf.
4. Cervantes HM. El futuro de los antibióticos en la producción animal. *Indústria Avícola* [Internet]. 1 out. 2009 [citado em 13 ago. 2013];14-18. Disponível em: <http://www.wattagnet.com/articles/3697-el-futuro-de-los-antibioticos-en-la-produccion-animal>.
5. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 17, de 18 de junho de 2004. Proíbe a administração, por qualquer meio, na alimentação e produção de aves, de substâncias com efeitos tireostáticos, androgênicos, estrogênicos ou gestagênicos, bem como de substâncias b-agonistas, com a finalidade de estimular o crescimento e a eficiência alimentar. *Diário Oficial da União, Brasília; 2004.*
6. Brasil. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999. Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal. *Diário Oficial da União, Brasília; 1999.* p. 213-27.
7. Díaz-Cruz MS, Barceló D. Trace organic chemicals contamination in ground water recharge. *Chemosphere.* 2008;72(3):333-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.02.031>. PMID:18378277.
8. Thiele-Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. *J Plant Nutr Soil Sci.* 2003;166(2):145-67. <http://dx.doi.org/10.1002/jpln.200390023>.
9. Graham JP, Boland JJ, Silbergeld E. Growth promoting antibiotics in food animal production: an economic analysis. *Public Health Rep.* 2007;122(1):79-87. PMID:17236612.
10. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná – SESA. Levantamento do uso e comercialização de medicamentos

- veterinários em frangos de corte no estado do Paraná. Curitiba: SESA/ISEP; 2005. 25 p.
11. Phillips I, Casewell M, Cox T, De Groot BD, Friss C, Jones R, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53(1):28-52. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg483>. PMID:14657094.
 12. Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. Ocorrência de resíduos no leite comercializado em Piracicaba, SP. *Rev Nutr.* 2001;14(2):119-24. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732001000200005>.
 13. Linzmeier L, Bazan CT, Endo RM, Menino BB, Publiese P, Shafranski E, et al. Uso de antibióticos em aves de produção. *Rev Cient Elet Med Vet.* 2009 Jan;7(12).
 14. García P, Rodríguez L, Rodríguez A, Martínez B. Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends Food Sci Technol.* 2010;21(8):373-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.010>.
 15. Boelter R. Resíduos de antibióticos nos alimentos de origem animal. In: Magalhães HM, organizador. *Farmacologia veterinária – temas escolhidos*. Guaíba: Agropecuária; 1998.
 16. Wegener HC, Aarestrup FM, Jensen LB, Hammerum AM, Bager F. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium* resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(3):329-35. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0503.990303>. PMID:10341169.
 17. Bartoloni A, Pallecchi L, Paradisi F, Rossolini GM. Antibiotic resistance in the absence of antimicrobial use: mechanisms and implications. *Expert Rev Anti-Infect Ther.* 2008;6(5):725-32.
 18. Spisso BF, Nóbrega AW, Marques MAS. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. *Ciênc Saúde Col.* 2009;14(6):2091-106. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232009000600016>.
 19. Spinosa HS, Górniak SL, Bernardi MM. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
 20. Sousa FC, Oliveira ENA, Santos DC, Silva EFM. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leites pasteurizados comercializados no estado do Ceará – Brasil. *Rev Verde.* 2010;5(4):10-4.
 21. Cardoso OMC, Silva TJP, Santos WLM, Pesquero JL. Ocorrência de resíduos de dietilbestrol e zeranól em fígado de bovinos abatidos no Brasil. *Ciênc Tecnol Alim.* 1999;19(3):1001-14. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611999000300001>.
 22. Duarte KMR, Silva FMSM, Meirelles CF. Resíduos de anabolizantes na produção animal: importância e métodos de detecção. *Ciênc Rural.* 2002;32(4):731-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000400030>.
 23. Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO, World Health Organization – WHO. Evaluation of certain veterinary drug residues in food: seventy-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO; 1988. 41 p. (Technical Report Series, v. 763).
 24. Brasil. Ministério da Agricultura. Portaria 51, de 24 de maio de 1991. Proíbe a produção, importação, comercialização e uso de substâncias naturais ou artificiais, com atividade anabolizante, ou outras, dotadas dessa atividade para fins de crescimento e ganho de peso dos animais de abate. *Diário Oficial da União, Brasília*; 1991.
 25. Heitzman RJ. Coordination of information on residues of veterinary drugs in the European Community. *Anal Chim Acta.* 1983;275(1-2):17-22. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2670\(93\)80273-N](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2670(93)80273-N).
 26. Carman RJ, Simon MA, Petzold HE 3rd, Wimmer RF, Batra MR, Fernández AH, et al. Antibiotics in the human food chain: establishing no effect levels of tetracycline, neomycin, and erythromycin using a chemostat model of the human colonic microflora. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2005;43(2):168-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2005.06.005>. PMID:16129531.
 27. Montagne L, Pluske JR, Hampson DJ. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences of digestive health in young non-ruminant animals. *An Feed Sci Technol.* 2003;108(1):95-117.
 28. Potera C. Phage renaissance: new hope against antibiotic resistance. *Environ Health Perspect.* 2013;121(2):a48-53. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.121-a48>. PMID:23380024.
 29. Marano N, Vugia D, Fiorentino T, Segler S, Carter M, Kassenborg H, et al. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* causes longer duration of diarrhea than fluoroquinolone – susceptible *Campylobacter* strains in FoodNet sites. In: *Proceedings of Second International Conference on Emerging Infections*

- Diseases; 2000 March 24-27; Atlanta, EUA. Atlanta: CDC; 2000. 59 p.
30. Nayak R, Kenney PB. Screening of salmonella isolates from a turkey production facility for antibiotic resistance. *Poult Sci.* 2002;81(10):1496-500. <http://dx.doi.org/10.1093/ps/81.10.1496>. PMID:12412915.
 31. Martin JGP. Resíduos de antimicrobianos em leite – uma revisão. *Segur Aliment Nutr.* 2011;18(2):80-7.
 32. Nero LA, Mattos MR, Beloti V, Barros MAF, Franco BDGM. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteras no Brasil. *Cienc Tecnol Aliment.* 2007;27(2):391-3. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000200031>.
 33. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em alimentos expostos ao consumo – PAMVet [Internet]. Brasília: ANVISA; 2003 [citado em 05 abr. 2013]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/pamvet.pdf>
 34. Brambilla G, Testa C. Food safety/food security aspects related to the environmental release of pharmaceuticals. *Chemosphere.* 2014;115:81-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.024>. PMID:24602346.
 35. Sarmah AK, Meyer MT, Boxall ABA. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment. *Chemosphere.* 2006;65(5):725-59. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.026>. PMID:16677683.
 36. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol Indic.* 2008;8(1):13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2007.06.002>.
 37. Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment. A review – part 1. *Chemosphere.* 2009;75(4):417-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>. PMID:19185900.
 38. Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. *Chemosphere.* 2003;52(7):1233-44. [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00272-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00272-8). PMID:12821004.
 39. Boxall ABA, Johnson P, Smith EJ, Sinclair CJ, Stutt E, Levy LS. Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *J Agric Food Chem.* 2006;54(6):2288-97. <http://dx.doi.org/10.1021/jf053041t>. PMID:16536609.
 40. Martínez-Carballo E, González-Barreiro C, Scharf S, Gans O. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environ Pollut.* 2007;148(2):570-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2006.11.035>. PMID:17291647.
 41. Casewell M, Friis C, Marco E, McMullin P, Phillips I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52(2):159-61. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg313>. PMID:12837737.
 42. National Research Council. The use of drugs in food animals: benefits and risks. Washington: National Academy Press; 1999.
 43. Astete RB. Modelo para o desenvolvimento de um sistema de vigilância de resíduos químicos diferente de pesticidas em produtos de origem animal. *Hora Vet.* 1993;13(74):62-70.
 44. Do Vale C, Lemke-De-Castro ML. Comparação entre métodos de detecção de resíduos de antimicrobianos no leite bovino. *Rev Analg.* 2013;11(64):60-6.
 45. Climeni BSO, Dellalibera FL, Monteiro MV, Cretela F, Cicoti CAR, Fagundes ES. A legislação quanto à utilização de anabolizantes em bovinos, equinos e cães. *Rev Cient Elet Med Vet.* 2008 Jul;6(11).
 46. Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 10, de 30 de abril de 2001. Proíbe a importação, a produção, comercialização e o uso de substâncias naturais ou artificiais, com atividade anabolizante, ou mesmo outras dotadas dessa atividade, mas desprovidas de caráter hormonal, para fins de crescimento e ganho de peso em bovinos de abate. Diário Oficial da União, Brasília; 2001.
 47. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 17, de 18 de junho de 2004. Proíbe a administração, por qualquer meio, na alimentação e produção de aves, de substâncias com efeitos tireostáticos, androgênicos, estrogênicos ou gestagênicos, bem como de substâncias β -agonistas, com a finalidade de estimular o crescimento e a eficiência alimentar. Diário Oficial da União, Brasília; 2004.
 48. Palermo-Neto J, Almeida RT. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: Spinoza HS, Górniak SL, Bernardi MM, editores. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 641-58.
 49. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano nacional de controle de resíduos e contaminantes-Animal [Internet]. Brasília: MAPA; 2009 [citado em 13 ago. 2013]. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/qualidade-dos-alimentos/residuos-e-contaminantes>.

50. Jardim ANO, Caldas ED. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para a saúde. *Quim Nova*. 2009;32(7):1898-909. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000700036>
51. Palermo-Neto J. O problema do uso inadequado de antibióticos na produção de suínos. *Acta Sci Vet*. 2007;35:s199-208.
52. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 50, de 20 de fevereiro de 2006. Aprova os programas de controle de resíduos em carne (bovina, aves, suína e equina), leite, mel, ovos e pescado do exercício de 2006. *Diário Oficial da União, Brasília*; 2006.
53. Schroeder R. A legislação brasileira para uso de antimicrobianos via ração e segurança alimentar. In: *Anais do I Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína*; 2006 Maio 16-18; Porto Alegre, Brasil. Porto Alegre: UFRGS; 2006. p. 117-9.
54. Faria DE, Henrique APF, Franzolin R No, Medeiros AA, Junqueira OM, Faria DE Fo. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 1. Probióticos. *Ciênc Anim Bras*. 2009;10(1):18-28.
55. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 27, de 30 de abril de 2003. Estabelece o regulamento técnico Mercosul sobre critérios para definição de prioridades junto aos programas de controle de resíduos de drogas veterinárias em produtos de origem animal destinados ao consumo humano. *Diário Oficial da União, Brasília*; 2003.
56. Marcos V, Perogordo E, Espinosa P, Pozuelo MM, Hooghuis H. Multiresidue analysis of anabolic compounds in bovine hair by gás chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2004;507(2):219-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2003.11.026>.
57. Draisci R, Palleschi L, Ferretti E, Lucentini L, Cammarata P. Quantitation of anabolic hormones and their metabolites in bovine serum and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2000;870(1-2):511-22. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01293-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01293-5). PMID:10722109.
58. Scippo M-L, Weerd CVD, François J-M, Rentier-Delrue F, Muller M, Martial JA, et al. Detection of illegal growth promoters in biological samples using receptor binding assays. *Anal Chim Acta*. 2002;473(1-2):135-41. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00770-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00770-5).
59. Ruela ICA, Lima JA, Souza SVC, Junqueira RG. Otimização e validação de métodos para determinação de resíduos de oxitetraciclina, tetraciclina e clotetraciclina em leite por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2005;25(1):139-46. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000100023>.
60. Cerniglia CE, Kotarski S. Evaluation of veterinary drug residues in food for their potential to affect human intestinal microflora. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1999;29(3):238-61. <http://dx.doi.org/10.1006/rtph.1999.1300>. PMID:10388611.
61. Riedmaier I, Tichopad A, Reiter M, Pfaffl MW, Meyer HHD. Identification of potential gene expression biomarkers for the surveillance of anabolic agents in bovine blood cells. *Anal Chim Acta*. 2009;638(1):106-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2009.02.014>. PMID:19298887.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Sales RL: Professora adjunta do IBP, UFV.

Rocha JLM: Doutorando do Programa de Pós-graduação Ciência da Nutrição, UFV.

Bressan J: Professora associada, Departamento de Nutrição, UFV.

Local de realização: Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

Fonte de financiamento: O artigo foi desenvolvido com financiamento próprio.

Declaração de conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Recebido: Set. 19, 2013

Accito: Ago. 31, 2015