

Ingride Míriam Capela Favas

Tetraciclinas no leite e no mel

Monografia realizada no âmbito da unidade curricular de Acompanhamento Farmacêutico do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Celeste Matos Lino, e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Março 2014



Índice

Resumo.....	2
Abstract.....	3
Lista de Abreviaturas.....	4
Introdução.....	6
Capítulo I – Tetraciclinas.....	8
1.1. Classificação.....	8
1.2. Resistências às tetraciclinas.....	10
Capítulo 2 – Tetraciclinas no Leite e no Mel.....	12
2.1. Constituição do Leite e Mel.....	13
2.2. Aspetos Legislativos.....	15
2.3. Leite e Mel destinados ao consumo humano.....	16
2.4. Métodos de determinação.....	20
Conclusão.....	25
Bibliografia.....	26
Anexos.....	30

Resumo

O uso de medicamentos veterinários para tratamento, prevenção de doenças e como suplemento alimentar em animais produtores de alimentos, exige um grande controlo sobre o Limite Máximo de Resíduo (LMR) que os produtos podem apresentar.

As tetraciclinas são os medicamentos veterinários mais utilizados em animais produtores de produtos alimentícios. Estes medicamentos são uma classe de antibióticos com um amplo espectro de ação.

O leite pode apresentar resíduos devido ao facto do gado bovino ser tratado com tetraciclinas em caso de mastites, infeções uterinas e cervicais e como suplemento alimentar quando em doses subterapêuticas.

O mel pode apresentar resíduos destes medicamentos devido ao facto das colmeias serem atingidas por microrganismos que causam a morte às abelhas e para que estes microrganismos não ataquem as colmeias, os apicultores procedem à prevenção através do uso de tetraciclinas.

Devido ao seu largo uso, é obrigatório proceder a análises para deteção de resíduos destes medicamentos que podem causar reações de hipersensibilidade, resistência e casos mais graves como nefrotoxicidade e hepatotoxicidade. Vários são os métodos de deteção e quantificação, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) acoplada a detetor de díodos, de fluorescência, etc., que permitem obter os teores exatos dos resíduos nos alimentos antes de chegarem aos mercados, como é o caso do leite e do mel, onde as tetraciclinas são bastante utilizadas.

Palavras-chave: tetraciclinas, leite, mel, LMR, tratamento, prevenção, HPLC

Abstract

The use of veterinary medicinal products in the treatment and prevention of diseases, and as a food supplement in food-producing animals, requires a restrict control of the Maximum Residue Limit (MRL), the maximum concentration of residue accepted in food products obtained from an animal that has received a veterinary medicine.

Tetracyclines are the veterinary drugs most used in food- producing animals products. These drugs are a class of antibiotics with a broad spectrum of action.

The milk can present residues due to the fact that the dairy cattle are treated with tetracycline in case of mastitis, uterine and cervical infections, and as a food supplement in subtherapeutic doses.

Honey can also have residues of these drugs, because the hives can be attacked with some microorganisms that could murder them. To prevent these attacks, the beekeepers use tetracyclines.

As a result of its wide use, it is mandatory to carry out analyzes for the detection of residues of these drugs that may cause hypersensitivity reactions, resistance and in more serious cases nephrotoxicity and hepatotoxicity. There are several methods for detecting and quantifying these drugs such as High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) coupled with a diode array detector, fluorescence, etc. This allows us to obtain the exact levels of residues in food before reaching the market, like in the examples above, where tetracyclines are widely used.

Keywords: tetracyclines, milk, honey, MRL, treatment, prevention, HPLC

Lista de Abreviaturas

ADI – Dose Diária Admissível

CAC – Comissão Codex Alimentarius

CTC – Clorotetraciclina

CVMP – Comité de Avaliação de Medicamentos Veterinários

DAD – Detetor de Díodos

EEC – Comunidade Económica Europeia

EFSA – Autoridade de Segurança Alimentar Europeia

EFS – Extração em Fase Sólida

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ELL – Extração Líquido-Líquido

EMA – Agência Europeia do Medicamento

FD – Detetor de Fluorescência

HLB – Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

LMR – Limite Máximo de Resíduo

MCAC – Coluna de Afinidade de Quelação de Metal

MS ou MS/MS – Espectro de Massa

OMS – Organização Mundial de Saúde

OTC – Oxitetraciclina

RNA – Ácido Ribonucleico

RIA – Radioimunoensaio

TC – Tetraciclina

TCs – Tetraciclina

UE – União Europeia

UHT – Ultrapasteurização

Introdução

O leite por apresentar na sua constituição hidratos de carbono, vitaminas, sais minerais e proteínas, é considerado como um alimento de alto valor nutricional e deve ser incluído numa dieta saudável (Vieira *et al.*, 2012). Mas para que seja considerado um alimento de alto valor nutricional e para que apresente qualidade e seja isento de risco para a saúde pública, é necessário submetê-lo a determinados métodos de deteção de resíduos que o podem considerar não apto para venda, como é o caso de resíduos de medicamentos veterinários, que são utilizados no gado bovino (Vieira *et al.*, 2012).

O mel “é o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas que ficam sobre partes vivas das plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos das colmeias” (Monteiro *et al.*, 2010). O mel é rico em açúcares (glicose e frutose, maioritariamente), em constituintes orgânicos (vitaminas, etc.), e em constituintes inorgânicos (água, sódio, etc.). Por isso, o mel é considerado um alimento muito rico nutricionalmente. Infelizmente, aquando da sua produção, as colmeias podem sofrer infestações causadas por diversos microrganismos, sendo as doenças mais importantes o Loque Americano, o Loque Europeu e a Varroatose. Quando estas doenças atingem as colmeias não há tratamento e a única solução é queimar as colmeias, mas o apicultor pode proceder à prevenção, aplicando medicamentos veterinários nas colmeias (Monteiro *et al.*, 2010).

São vários os medicamentos veterinários usados no tratamento, prevenção de doenças e como promotores de crescimento. Estes medicamentos são de várias classes químicas com ações terapêuticas diversas, incluindo antibióticos, antiparasitários, inseticidas, fungicidas e sedativos. Contudo, a classe de medicamentos mais utilizada é a dos antibióticos, mais precisamente a classe das tetraciclina por apresentarem um amplo espetro de ação antibacteriana (Monteiro *et al.*, 2010).

As tetraciclina são utilizadas no gado leiteiro para o tratamento de mastites, infeções cervicais, intrauterinas e vaginais. São também utilizadas como suplemento alimentar quando em doses subterapêuticas (Denobile, Nascimento, 2004). No caso das abelhas, as tetraciclina são utilizadas para a prevenção de certas doenças que afetam as colmeias e

matam as abelhas prejudicando assim a produção de mel (Monteiro *et al.*, 2010).

Por estas razões, muitos países estipulam, através de legislação, um Limite Máximo de Resíduo (LMR) para as tetraciclinas em vários produtos de origem animal. Aquele LMR é de 100 µg/Kg para o músculo e o leite, de 300 µg/Kg para o fígado e de 600 µg/Kg para o rim (Giannetti *et al.*, 2010).

Para identificação dos resíduos existem os chamados métodos de triagem que consistem maioritariamente em métodos biológicos como é o caso do Método Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Para a deteção e quantificação existem vários métodos analíticos. Contudo a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) acoplada ao detetor de fluorescência, ao detetor de díodos ou ao detetor de massa, são os mais referenciados na bibliografia científica.

Capítulo I – Tetraciclinas

Os antibióticos são substâncias químicas que provocam a morte ou a inibição do crescimento de microrganismos. Podem ser de origem natural ou de origem sintética (total ou parcial). Os antibióticos diferem, essencialmente, nas suas propriedades físicas, químicas e farmacológicas, no espectro antibacteriano e, ainda, no mecanismo e ação. Por esta razão os critérios adotados para a classificação dos antibióticos são diversas, sendo a mais comum, a classificação que divide os antibióticos em 9 classes: os β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas), aminoglicósidos (gentamicina), quinolonas (ciprofloxacina), tetraciclinas (tetraciclina), macrólidos (azitromicina), glicopéptidos (vancomicina), sulfonamidas (trimetoprim), lincomicinas (clindamicina) e os oxazolidinonas (linezolid) (Pacheco-Silva et al., 2013).

1.1. Classificação

As TCs representam uma das mais importantes famílias farmacológicas e, tendo em conta o seu largo espectro de ação antibacteriana (ação contra clamídias, rickettsias, micoplasma e algumas espiroquetas, tem também ação em Gram-positivos e Gram-negativos), são usadas como tratamento de primeira escolha. O grupo inclui a tetraciclina, a oxitetraciclina, a doxiciclina e a clorotetraciclina (Figura 1). As tetraciclinas são amplamente utilizadas em medicina veterinária, em nutrição animal e em aditivos alimentares destinados a uso pecuário (Lemos et al., 2013).

São um grupo de substâncias cristalinas de natureza anfotérica, que possuem em comum um esqueleto hidronaftacénico. Como a sua estrutura química apresenta um grande número de possíveis locais de ligações, as TCs quando em solução, formam complexos metálicos com grande facilidade (Lemos et al., 2013).

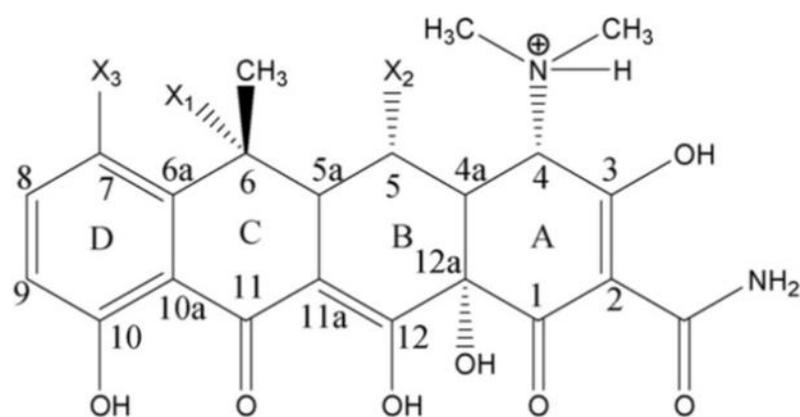
O seu mecanismo de ação consiste na inibição de uma grande quantidade de reações enzimáticas vitais no processo das células bacterianas. A reação bioquímica mais sensível que inibe é a síntese de proteínas, através da sua ligação específica no 30S do ribossoma da bactéria, impedindo assim a ligação do aminoacil RNA ao complexo RNA-ribossoma. As

TCs podem também provocar uma alteração da membrana citoplasmática da célula, o que leva a uma fuga de nucleótidos e outros compostos para fora da célula. Pode-se então concluir que a tetraciclina, dependendo da sua dose, apresenta uma ação bactericida ou bacteriostática (Lemos *et al.*, 2013).

Relativamente à sua absorção, as tetraciclinas têm uma absorção adequada a nível do trato gastrointestinal, contudo é incompleta. A maior parte da absorção ocorre no estômago e no intestino delgado superior, sendo maior em jejum. Já nas porções inferiores do trato gastrointestinal, a absorção é incompleta. O tempo de semi-vida das TCs é de 6 a 12 horas, e visto que nem toda a sua dose é absorvida e as tetraciclinas formam quelatos com muita facilidade, estas podem manter-se durante muito tempo nos fluidos biológicos (Pereira-Maia *et al.*, 2010).

Após absorção são vastamente distribuídas pelo organismo, com níveis mais elevados no rim e fígado, mas os seus resíduos, devido à grande afinidade para o cálcio, tendem a acumular-se preferencialmente no tecido ósseo das aves, suínos, bovinos e peixes, e também em cascas de ovos, mesmo para doses subterapêuticas, podendo, ainda, ser eliminadas no leite (Navrátilová, 2008).

Os efeitos adversos da presença de tetraciclinas ou dos seus resíduos em alimentos de origem animal estão maioritariamente relacionados com o desenvolvimento de reações alérgicas, descoloração dos dentes e perturbações gastrointestinais, sendo ainda conhecidos, entre outros, efeitos nefro e hepatotóxicos (Navrátilová, 2008).



TCs	X ₁	X ₂	X ₃
Tetraciclina (TC)	OH	H	H
Oxitetraciclina (OTC)	OH	OH	H
Doxiciclina (DC)	H	OH	H
Clorotetraciclina (CTC)	OH	H	Cl

Figura I – Estrutura química das Tetraciclina (adaptado de Jeon *et al.*, 2008).

1.2. Resistências às Tetraciclina

Devido ao facto de se utilizar muitos antibióticos, nomeadamente tetraciclina, ciprofloxacina, etc., em animais produtores de alimentos, a Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (EFSA) realizou um estudo relativo a 26 países da União Europeia, para averiguar a possibilidade de existir resistências nos humanos aos antibióticos que são utilizados nos animais que se consomem (EFSA, 2013).

A base do estudo foram algumas bactérias como a *Salmonella spp*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Enterococci* e *Staphylococcus aureus*, que estão presentes nas carnes dos animais que os humanos consomem e várias classes de antibióticos utilizadas para tratamentos, prevenções e como suplementos alimentares dos animais como é o caso das tetraciclina, ciprofloxacina, cefalosporina, ampicilina, etc.. Este estudo demonstrou que, pelo facto de se administrar estes antibióticos aos animais, estas bactérias e as suas estirpes apresentam resistência aos antibióticos, o que faz com que elas permaneçam no seu organismo e contaminem todos os seus produtos (EFSA, 2013).

No caso específico das tetraciclina, elas apresentam uma média a alta resistência nos animais e nos humanos. No caso dos humanos a resistência aparece porque ao consumirem os produtos dos animais com resíduos dos medicamentos, vão fazer com que estes medicamentos sejam ingeridos indiretamente pelo organismo humano e que as bactérias se tornem imunes às tetraciclina (EFSA, 2013).

O último report científico da EFSA sobre resistências antimicrobianas em bactérias zoonóticas, relativas a 26 países da U. E. em 2011, publicado em Maio de 2013, refere níveis de resistência elevados para TCs em isolados de *Salmonella* em humanos. Em isolados de *Campylobacter* de casos humanos, a resistência às TCs foi alta (EFSA, 2013).

Este estudo veio comprovar que este é um problema muito grande para a saúde pública, daí ser necessário existir um controlo muito grande e apertado sobre os resíduos que os produtos alimentares provenientes de animais contenham.

Capítulo 2 – Tetraciclina no Leite e no Mel

As tetraciclina são a classe de antibióticos mais utilizada em medicina veterinária devido ao seu amplo espectro de ação, que abrange bactérias Gram-positivo e Gram-negativo, devido à fácil acessibilidade, à flexibilidade no uso e à relação custo/benefício (Monteiro *et al.*, 2010).

No gado leiteiro, as TCs são utilizadas não só para tratamento de infeções mas também como suplementos na sua dieta. A administração das tetraciclina pode ser feita por via intramamária, para o tratamento de mastites (Aires, 2010); por via parenteral, na terapia das infeções; por via intrauterina, para tratamento de infeções uterinas, cervicais e vaginais; e por fim, por via oral, como suplemento alimentar em doses subterapêuticas (Denobile, Nascimento, 2004).

No caso das abelhas produtoras de mel, as colmeias estão sujeitas a doenças epidérmicas que podem ser causadas por diferentes microrganismos, sendo as mais comuns em todo o mundo, a Cria Pútrida (Loque) Americana que é causada pela *Paenibacillus larvae*, a Cria Pútrida (Loque) Europeia que é causada pela *Mellisococcus pluton* e a varroatose que é causada pelo ácaro *Varroa jacobsonii* (Monteiro *et al.*, 2010). Os apicultores face a estes problemas têm a possibilidade de atuar na prevenção, no tratamento terapêutico ou na destruição completa das colmeias afetadas, sendo a mais utilizada a prevenção destas doenças epidérmicas. A prevenção baseia-se na aplicação de antibióticos, nomeadamente, tetraciclina nas colmeias e/ou nas flores onde as abelhas colhem o néctar, durante a primavera (Monteiro *et al.*, 2010).

Devido a estes factos, tanto no leite como no mel, podem ser encontrados resíduos de tetraciclina. A presença destes resíduos, em quantidades superiores às que são permitidas por lei, é uma preocupação para a saúde pública devido à possibilidade de reações alérgicas ou tóxicas, sobretudo em pessoas hipersensíveis, e do surgimento de resistências das bactérias a estes antibióticos (Monteiro *et al.*, 2010).

2.1. Constituição do Leite e do Mel

Leite

De acordo com a Portaria nº 470/87 de 4 de Junho, “considera-se «leite alimentar» o leite cru destinado ao consumo humano de forma direta ou indireta e que for produzido por animais saudáveis, bem alimentados, não fatigados, mantidos em bom estado de higiene, e que satisfaça os seguintes requisitos:

- a) Ser produto integral da ordenha completa e ininterrupta;
- b) Não conter colostro, pelo que o produto da ordenha obtido nos cinco dias seguintes ao parto não será considerado leite para o efeito deste diploma;
- c) Ser isento de coloração, cheiro e sabor anormais;
- d) Ser colhido, conservado e transportado com observância das prescrições regulamentares em vigor;
- e) Não conter microrganismos patogénicos, pus, sangue nem substâncias estranhas à sua constituição ou composição química original.”

A definição de leite está de acordo com 4 fatores, são eles o biológico, o legal, o técnico ou físico-químico e por último o zootécnico. Relativamente ao fator biológico, o leite é uma substância secretada pela fêmea dos mamíferos com a finalidade de nutrir as suas crias. Quanto ao fator legal, o leite é o produto ordenhado de um mamífero são e que não apresenta perigo para o consumo humano. No que respeita ao fator técnico ou físico-químico, o leite é um sistema em equilíbrio, constituído por três sistemas dispersos: solução, emulsão e suspensão. Por fim, relativamente ao fator zootécnico, o leite é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (Oliver *et al.*, 2012).

Assim, o leite é uma secreção nutritiva de cor esbranquiçada e opaca produzida pelas células secretoras das glândulas mamárias dos mamíferos (Oliver *et al.*, 2012).

O leite é constituído, na sua maioria, por água, cerca de 87%. O resto é denominado de extrato seco que representa 130g, das quais 35 a 45 são gorduras. Os componentes principais são orgânicos e minerais. Os orgânicos são os glúcidos (lactose), as proteínas, os lípidos e as vitaminas. Os componentes minerais são o cálcio (Ca), o sódio (Na), o potássio

(K), o magnésio (Mg) e o cloro (Cl₂). Por apresentar esta constituição, o leite é considerado um alimento complexo e essencial numa dieta saudável (Oliver *et al.*, 2012).

Mel

De acordo com a Norma Portuguesa 1307 de 1983, “entende-se por mel a substância açucarada produzida pelas abelhas melíficas a partir do néctar das flores ou das secreções provenientes de outras partes vivas das plantas, ou que sobre elas se encontrem, e que libam, transformam e combinam com matérias específicas e armazenam nos favos da colmeia. O mel é constituído, essencialmente, por diversos açúcares, predominando a glucose e a frutose. Contém, ainda, proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, matérias minerais, pólen e outras substâncias, podendo ter, também, sacarose, maltose, melezitose e outros oligossacáridos (incluindo dextrinas) e ainda vestígios de fungos, de algas, de leveduras e de outras partículas sólidas provenientes da colheita do mel.”

O mel é constituído na sua maior parte, cerca de 75%, por hidratos de carbono, nomeadamente por açúcares simples como a glucose e a frutose. Possui também na sua constituição uma percentagem, de água cerca de 20%, apresenta minerais como o cálcio (Ca), o ferro (Fe), o magnésio (Mg), o potássio (K), entre outros, aminoácidos, ácidos orgânicos como o ácido acético, entre outros, vitaminas do complexo B, vitamina C, D e E e possui ainda um teor considerável de antioxidantes como flavonóides e fenólicos (Bertoldi *et al.*, 2004).

Devido ao facto de apresentar fatores físicos como a sua alta osmolalidade e acidez, fatores químicos como o peróxido de hidrogénio que é uma substância inibidora e substâncias voláteis como é o caso dos flavonóides e ácidos fenólicos, o mel apresenta uma ação antimicrobiana e tem sido utilizado para aplicações terapêuticas (Bertoldi *et al.*, 2004).

2.2. Aspetos legislativos

O Regulamento n° 2377/90 do Conselho, de 26 de Junho e o Regulamento n° 470/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 6 de Maio, preveem um processo comunitário para o estabelecimento de Limites Máximos de Resíduos (LMRs), considerando que cada um constitui a “concentração máxima de resíduos resultante da utilização de um medicamento veterinário (expresso em mg/Kg ou µg/Kg de peso fresco) que a Comunidade pode aceitar como legalmente autorizada ou que é reconhecida como aceitável à superfície e ou no interior de um alimento”.

Este limite está relacionado não apenas com o tipo e quantidade de resíduos considerados inócuos para a saúde humana, ou seja, que não apresentam qualquer risco de toxicidade, nas condições expressas pela Dose Diária Admissível (ADI) ou com base numa ADI provisória associada a um fator de segurança adicional, mas também com aspetos de tecnologia alimentar e outros riscos relevantes para a saúde pública. O estabelecimento de LMR implica, ainda, a consideração dos resíduos presentes nos alimentos de origem vegetal e/ou no ambiente, podendo ser reduzido para ser conciliável com uma boa prática de aplicação de medicamentos veterinários, sempre que existam métodos práticos de análise (Regulamento n° 2377/90).

Qualquer substância farmacologicamente ativa, destinada a ser utilizada na União Europeia em animais produtores de géneros alimentícios, está sujeita a um parecer da Agência Europeia do Medicamento (EMA) sobre o LMR formulado pelo Comité de Avaliação de Medicamentos Veterinários (CVMP). O CVMP fica, então, encarregue de avaliar cientificamente as substâncias, resíduos e riscos associados e propor recomendações de gestão dos riscos, entre os quais, o estabelecimento de LMRs na União Europeia, para as espécies animais nas quais os compostos serão utilizados e, também, para os tecidos edíveis com eles relacionados, como por exemplo, leite, gordura e/ou músculo, entre outros. Se aceites, os LMRs são posteriormente adotados por um Regulamento do Conselho, e tornados lei, após publicação no Jornal Oficial das Comunidades Europeias, sendo imediatamente obrigatórios para todos os Estados-Membros (Regulamento n° 2377/90) (ANEXO I).

Por motivo de simplificação, no Regulamento n° 37/2010 da Comissão, de 22 de

Dezembro de 2009, atualmente em vigor, as substâncias farmacologicamente ativas e respetiva classificação no que respeita ao LMR foram integradas num único Anexo em 2 quadros, que no antigo Regulamento se apresentava em 4 Anexos. Neste Anexo, do Regulamento nº 37/2010, estão igualmente incluídas as condições de restrição para utilização ou aplicação de uma substância farmacologicamente ativa, usada em animais produtores de géneros alimentícios, assim como a sua classificação terapêutica (ANEXO II).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o consumidor padrão, considerando um indivíduo adulto com 60 Kg de peso, deve ingerir diariamente uma determinada quantidade de alimentos. De modo a avaliar o risco causado pela exposição a uma substância, as entidades reguladoras requerem testes específicos para efetuar essa avaliação, sendo que esta engloba os riscos toxicológicos, o risco ambiental, os efeitos microbiológicos e farmacológicos dos resíduos das substâncias farmacologicamente ativas presentes nos medicamentos veterinários.

Para a determinação da ingestão diária admissível e do nível máximo de uma substância, faz-se uma avaliação dos riscos farmacotoxicológicos em animais de laboratório. Depois desta avaliação, estabelecem-se os limites máximos de resíduos ou a proibição do uso da substância (Diretiva 2004/28/CE, de 31 de Março; Regulamento 470/2009, 6 de Maio).

A Norma da Comunidade Europeia (EEC) nº 2377/90 estipula o Limite Máximo de Resíduos (LMR) que é a concentração máxima de resíduos que resultam do uso de um medicamento veterinário em mg/Kg ou µg/Kg. No caso do leite e para as tetraciclinas, o valor é de 100 µg/Kg (Lemos et al., 2013). No caso do mel, o LMR é 10 µg/Kg (Diretiva 86/363 de 1986).

2.3. Leite e Mel destinados ao consumo humano

Por todas as razões anteriormente referidas, torna-se muito importante para a saúde pública que exista controlo sobre o teor de tetraciclinas presentes no leite e no mel.

Os teores de TCs em amostras de leite analisadas em diferentes países encontram-se explicitados na Tabela I.

Tabela I– Teores obtidos na deteção e quantificação de resíduos de tetraciclinas no leite, em vários países do mundo.

País	Nº de amostras	Resultados	Bibliografia
China	UHT: 94	UHT: negativo	Zhang et al., 2013
	Pasteurizado: 24	Pasteurizado: 37,08 µg/Kg – 47,3 µg/Kg	
Brasil, Paraná	Pasteurizado: 79	15 amostras suspeitas 3 positivas	Vieira et al., 2012
Brasil, Baía	Pasteurizado: 252	207 amostras negativas	Fernandes et al., 2013
		20 amostras positivas	
		25 amostras suspeitas	
Irão, Ardabil	Pasteurizado: 90	Oxitetraciclina: Pasteurizado - 24,1 µg/Kg Cru – 40 µg/Kg	Abbasi et al., 2011
		Esterilizado: 10	
	Leite cru: 14	Clorotetraciclina: Pasteurizado - 330,9 µg/Kg Esterilizado - 287,1 µg/Kg Cru - 320,8 µg/Kg	

Na China segue-se o LMR imposto pela União Europeia e pela Comissão do Codex Alimentarius (CAC), 100 µg/Kg. Neste estudo realizado por Zhang *et al.* (2013) o método de identificação utilizado foi o método biológico ELISA, de acordo com o China's National Standard (GB/T 27404-2008). Para o leite que sofreu o processo de ultrapasteurização (UHT), os resultados obtidos foram negativos para as tetraciclinas. No leite que sofreu pasteurização os valores oscilaram entre 37,08 e 47,3 µg/Kg.

No Paraná, Brasil, o leite analisado foi o pasteurizado. Das 79 amostras analisadas, 15 amostras eram suspeitas e, destas, 3 eram positivas. O método de identificação utilizado, tal como na China, foi o ELISA. O estudo em causa, não apresenta os valores em quantidades,

por isso apenas se pode afirmar que o leite estava contaminado (Vieira *et al.*, 2012).

No Brasil, na zonal sul e sudoeste do estado de Baía, foram recolhidas 21 marcas comerciais de leite ao longo de um ano, em épocas diferentes, num total de 252 amostras de leite. Neste estudo, o método utilizado foi a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada ao detetor de díodos. Destas 252 amostras analisadas, 207 apresentaram-se negativas para os resíduos de tetraciclinas, 20 eram positivas e 25 suspeitas. Das 20 amostras positivas, 13 foram detetadas no leite que foi recolhido entre janeiro e junho e das 25 amostras suspeitas, 22 também foram recolhidas na mesma altura, o que fez com que os autores concluíssem que a época do ano afeta a existência de resíduos no leite. Ou seja, das 21 marcas comerciais analisadas, apenas 4 apresentaram resultados positivos. O LMR neste caso foi de 100 ng/mL. Das amostras positivas o valor máximo apresentado foi de 2782 ng/mL para a oxitetraciclina (OTC) e de 1145 ng/mL para a tetraciclina (TC). Nas amostras suspeitas o valor máximo obtido para a TC foi de 2297 ng/mL. Neste estudo, pode-se concluir que o leite apresenta resíduos de tetraciclinas muito superiores ao LMR, o que significa que a qualidade do leite é afetada e põe em risco a saúde pública (Fernandes *et al.*, 2013).

Na cidade de Ardabil, no Irão, foram analisadas 114 amostras de leite, 90 amostras de leite pasteurizado, 10 de esterilizado e 14 de cru. Este estudo consistiu na análise de três tetraciclinas, oxitetraciclina (OTC), tetraciclina (TC) e Clorotetraciclina (CTC). O método utilizado neste estudo foi a HPLC acoplado a detetor de fluorescência. Os resultados obtidos para a OTC no leite pasteurizado foram de 24,1 µg/Kg e no leite cru de 40,0 µg/Kg; para a TC, no leite pasteurizado foi de 18,3 µg/Kg e para o leite cru foi 22,3 µg/Kg; para a CTC, no leite pasteurizado o teor foi de 330,9 µg/Kg, para o leite esterilizado foi de 287,1 µg/Kg e para o leite cru foi 340,8 µg/Kg. Com estes resultados pode-se concluir que o leite nesta cidade do Irão apresenta um valor muito acima do LMR para a CTC, 100 µg/Kg, o que significa que este leite é impróprio para consumo humano (Abbasi *et al.*, 2011).

Relativamente ao mel, os teores de TCs encontrados em diferentes países encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Teores obtidos na deteção e quantificação de resíduos de tetraciclinas no mel, em vários países do mundo.

País	Nº de amostras	Resultados (µg/Kg)	Bibliografia
China	8	5 -12	Monteiro et al., 2010
Espanha	11	0,02 - 2,50	
Itália, Espanha	7	23,9 - 41,7	
Japão	57	0,005 - 0,009	
Portugal, Espanha	57	20(OTC), 21(TC)	
Brasil	13	Ausente	

Ao contrário do que acontece com o leite, para o mel não existe um LMR estipulado geral, apenas alguns países estipularam um limite. No caso do Brasil, o LMR estipulado é de 25 µg/Kg (Monteiro *et al.*, 2010) e na EU, o LMR é de 10 µg/Kg. Se considerarmos o LMR estipulado no Brasil, para os restantes países da tabela, podemos afirmar que apenas em Itália e em Espanha as amostras de mel se apresentam contaminadas e que Portugal apresenta valores próximos desse limite. Mas se nos basearmos no LMR estipulado pela UE, quer em Espanha, quer em Itália, quer em Portugal, os teores são superiores a 10 µg/Kg, e que a China também apresenta das 8 amostras analisadas um valor um pouco acima do LMR. Podemos também afirmar que no Japão as amostras analisadas apresentam o valor mais baixo, longe dos LMRs do Brasil e da UE, o que pode significar que ou no Japão não é normal utilizarem as tetraciclinas como medicamento de prevenção ou então é utilizado em pequenas quantidades (Monteiro *et al.*, 2010).

Giannetti *et al.* (2010) realizaram um estudo, em Itália, que incidiu sobre 153 amostras em que foram avaliados os teores de TC e OTC e respetivos epímeros (Tabela 3).

Dessas amostras, 8 estavam contaminadas com tetraciclinas. Dado que o LMR estipulado pela UE é de 10 µg/Kg, as 8 amostras apresentam teores superiores ao LMR, sendo uma das amostras multifloral, a que apresenta um teor muito alto, 127 µg/Kg (Giannetti *et al.*, 2010).

Tabela 3 – Amostras de mel analisadas, em Itália, cujos teores de TCs não são concordantes com o LMR estipulado pela UE, entre janeiro de 2005 e dezembro de 2009.

Tipo de mel	Compostos	Concentração (µg/Kg)
Multifloral	TC+4-epiTC	34
Multifloral	TC+4-epiTC	12,3
Multifloral	TC+4-epiTC	127
Acácia	OTC+4-epiOTC	27,5
Chestnut	TC+4-epiTC	13
Multifloral	TC+4-epiTC	11
Acácia	OTC+4-epiOTC	23,2
Chestnut	OTC+4-epiOTC	13,1

2.4. Métodos de determinação

Os valores baixos de LMR estipulados pelos órgãos internacionais de regulação para medicamentos veterinários em produtos de origem animal, o uso ilegal de algumas substâncias e a complexidade das matrizes requerem o desenvolvimento de metodologias analíticas sensíveis, seletivas e robustas. Vários métodos têm sido utilizados no controlo de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. Estes métodos podem ser divididos em 2 grandes grupos: métodos biológicos de triagem e métodos cromatográficos (Pacheco-Silva *et al.*, 2013).

Os métodos biológicos de triagem têm sido amplamente utilizados devido à simplicidade de execução, rapidez de resultados e baixo custo. Estes são métodos qualitativos e semiquantitativos. Os mais utilizados são o ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) e o Radioimunoensaio (RIA). No método ELISA, a atividade enzimática resultante da reação enzima-anticorpo-antígeno causa uma variação de cor que pode ser medida por técnicas colorimétricas. No método RIA, mede-se a radioatividade de

um complexo imunológico usando um contador. Estes métodos têm de ser capazes de detetar um analito ou uma classe de substâncias com teor igual ou superior ao LMR, contudo eles são pouco seletivos e podem fornecer resultados falso-positivos, tornando-se necessária a confirmação de amostras positivas por métodos cromatográficos (Pacheco-Silva *et al.*, 2013).

Relativamente aos métodos cromatográficos utilizados para análise de medicamentos veterinários, o mais usual é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a detetor ultravioleta/visível (UV/Vis), de fluorescência (FD), de díodos (DAD) e à espectroscopia de massa (MS ou MS/MS). A HPLC é uma técnica química analítica usada para separar componentes numa mistura, para identificar cada componente e para quantificar cada componente (Pacheco-Silva *et al.*, 2013).

Na figura 2 encontram-se representados um equipamento de HPLC e o esquema de funcionamento do método ELISA.

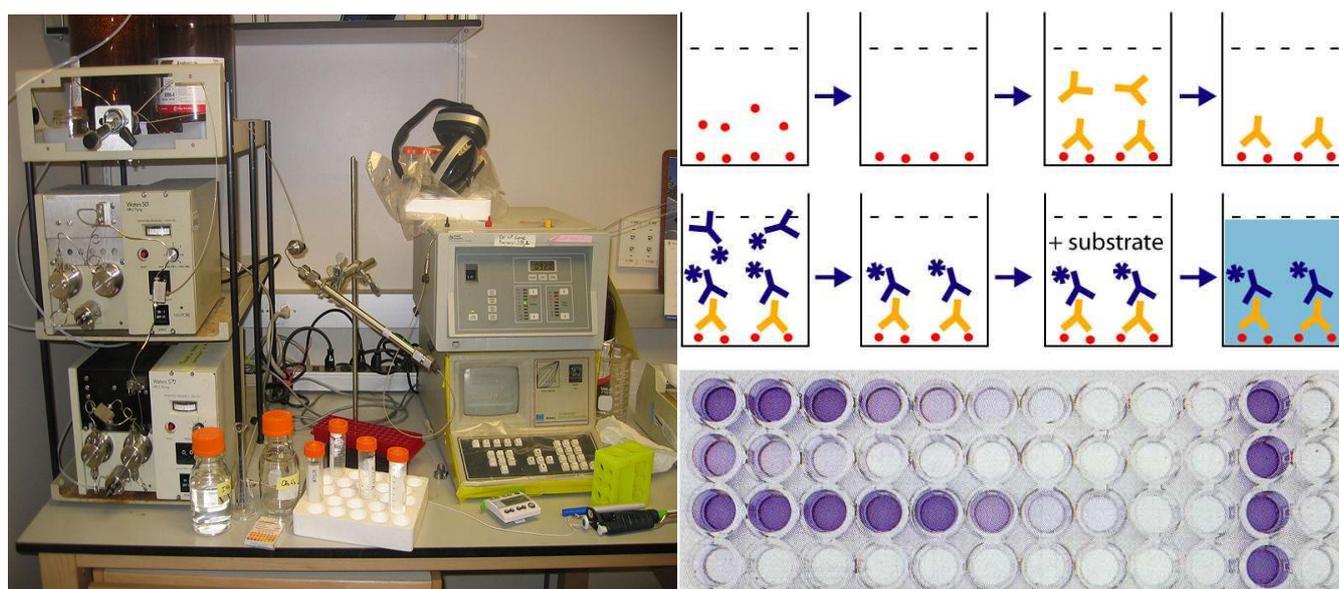


Figura 2 – HPLC e ELISA.

Na Tabela 4 encontram-se esquematizados os processos de extração, purificação, deteção e quantificação usados na determinação de TCs em leite e mel.

Relativamente aos métodos de determinação utilizados para a pesquisa de resíduos de tetraciclina no leite, podemos verificar que até existe alguma concordância entre os autores.

Dois dos autores utilizaram o método ELISA (Zhang *et al.*, 2013; Vieira *et al.*, 2012).

O método ELISA é um teste imunoenzimático que permite a deteção de anticorpos específicos, o que significa que é um ótimo método de identificação e quantificação de tetraciclinas, porque quantos mais anticorpos estiverem ligados mais tetraciclinas estão presentes na amostra do leite.

Monteiro *et al.* (2010) e Jeon *et al.* (2008) utilizaram o radioimunoensaio como método de identificação e quantificação de resíduos de antibiótico no mel.

Para Lemos *et al.* (2013), o método mais indicado para a pesquisa de resíduos de tetraciclinas no leite consiste na cromatografia em camada fina, utilizando como solventes uma solução que contém clorofórmio, acetonitrilo e etanol. A cromatografia em camada fina é uma técnica qualitativa que tem como objetivo a identificação de substâncias, ou seja, é um ótimo método de identificação mas não indica a quantidade em que a substância se apresenta. Logo, para a determinação de tetraciclinas no leite não é um método adequado.

Abbasi *et al.* (2011) utilizaram a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor de fluorescência (HPLC-FD) com comprimento de onda de excitação de 255 nm e de emissão de 365 nm. A amostra foi previamente submetida a uma extração com uma mistura de etanol e acetonitrilo em ácido oxálico seguida de purificação por cartuchas EFS.

Segundo alguns autores (Denobile, Nascimento, 2004; Fernandes *et al.*, 2013) o melhor método de determinação que pode ser utilizado na deteção e quantificação de tetraciclinas no leite é o HPLC-DAD. Para estes autores o melhor solvente para a extração das tetraciclinas no leite é uma solução a 80% de ácido tricloroacético em acetonitrilo e a purificação efetuada é em cartuchas EFS. A HPLC-DAD é um método para a determinação química, qualitativa e quantitativa de compostos de elevado peso molecular e instáveis termicamente, o que no caso das tetraciclinas origina muitos bons resultados devido a apresentarem um elevado peso molecular.

Giannetti *et al.* (2010) utilizaram o método HPLC-LC-MS/MS. Para a extração utilizaram cartuchas MCAC e para a purificação utilizaram cartuchas Oasis HLB.

Martel *et al.* (2005) utilizaram o método de HPLC-DAD e ELISA. Para a extração e purificação apenas procederam à mistura de solventes e da amostra no vortex e centrifugação na centrífuga. A utilização de HPLC-DAD e de ELISA leva a resultados mais fidedignos, uma vez que permite a confirmação de um método com o outro. Contudo a utilização de dois métodos de determinação para a indústria não é viável devido aos elevados custos que apresenta.

Hakuta *et al.* (2009) utilizaram para a extração uma solução de ácido cítrico contendo EDTA e para a purificação o metanol. O método que utilizaram para a deteção e

quantificação foi a HPLC acoplada ao detetor de díodos.

Muitos são os métodos de determinação das tetraciclina em amostras de leite e mel que a indústria alimentar deve utilizar para evitar que os produtos em causa se apresentem contaminados. Como já foi previamente referido, estes resíduos acarretam problemas para a saúde pública e portanto devem ser muito bem controlados.

Tabela 4 – Métodos de determinação utilizados na deteção e quantificação de tetraciclinas no leite e no mel.

	Extração	Purificação	Deteção e Quantificação	Bibliografia
Leite			ELISA	Zhang <i>et al.</i> , 2013
			ELISA	Vieira <i>et al.</i> , 2012
	Clorofórmio, acetronitrilo, etanol (ELL)	Clorofórmio (ELL)	Cromatografia em camada fina	Lemos <i>et al.</i> , 2013
	Solução a 80% de ácido tricloroacético em acetoneitrilo (ELL)	Filtração com membrana Durapore	HPLC-DAD	Fernandes <i>et al.</i> , 2013
	Mistura de metanol e acetoneitrilo em ácido oxálico (ELL)	EFS cartuchas	HPLC-FL (255-365 nm)	Abbasi <i>et al.</i> , 2011
	Solução a 80% de ácido tricloroacético em acetoneitrilo (ELL)	Filtração com membrana Durapore	HPLC-DAD	Denobile <i>et al.</i> , 2004
Mel			Radioimunoensaio	Monteiro <i>et al.</i> , 2010
	MCAC cartuchas	Oasis HLB EFS cartuchas	HPLC-LC-MS/MS	Giannetti <i>et al.</i> , 2010
			ELISA	Jeon <i>et al.</i> , 2008
	Solução de ácido cítrico contendo EDTA (ELL)	Metanol	HPLC-DAD	Hakuta <i>et al.</i> , 2009
	Mistura no vortex e centrifugação na centrífuga		HPLC-DAD e ELISA	Martel <i>et al.</i> , 2005

Conclusão

Os animais produtores de alimentos são frequentemente tratados com medicamentos veterinários em ações profiláticas, terapêuticas e como promotores de crescimento. O uso destes medicamentos deixam resíduos nos alimentos produzidos por estes animais, como é o caso do leite e do mel, e a exposição humana veiculada pela dieta apresenta um grande risco para a saúde pública devido às reações de hipersensibilidade, às resistências antibacterianas que provocam e, mais grave, casos de nefro e hepatotoxicidade.

Posto isto, os órgãos nacionais e regionais de regulação para medicamentos veterinários estipulam limites máximos de resíduos (LMR) para cada medicamento com uso aprovado em matrizes alimentares onde estes resíduos são esperados.

Vários são os métodos utilizados para a deteção e quantificação de resíduos de antibióticos nos alimentos produzidos por estes animais, como é o caso do ELISA e da HPLC, acoplada a FD, a DAD e LC-MS/MS. Estes métodos são essenciais para avaliar a exposição humana a estes compostos e o potencial risco para a saúde do consumidor. Assim, é essencial que a legislação seja mantida e ampliada para viabilizar a continuação destes estudos.

Um dos mais graves problemas para a saúde pública resultante da aplicação de antibióticos é a resistência aos mesmos de acordo com os dados da EFSA.

Como se pôde verificar pelos resultados publicados na literatura científica, a presença de resíduos de TCs em matrizes como leite e mel atinge por vezes teores preocupantes, pondo em risco a saúde dos consumidores.

Um controlo mais apertado no que respeita à avaliação de resíduos de medicamentos veterinários em produtos alimentares, devido ao alto risco para a saúde pública, dever-se-ia observar em todos os países.

Bibliografia

ABBASI, Mehran M. *et al.* – **Simultaneous Determination of Tetracyclines Residues in Bovine Milk Samples by Solid Phase Extraction and HPLC-FL Method** *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 1 (2011) 34-39

AIRES, Túlia A. C. P. – **Mastite em Bovinos: caracterização etiológica, padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade do leite em explorações do Entre-Douro e Minho** *Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária apresentada à Universidade Técnica de Lisboa Faculdade de Medicina Veterinária*, 2010, Lisboa

BELAS, Adriana J. I. – **Resíduos de medicamentos veterinários em mel** *Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar apresentada à Universidade Técnica de Lisboa Faculdade de Medicina Veterinária*, 2012, Lisboa

BERTOLDI, F. C. *et al.* – **Características físico-químicas do mel de abelhas africanas (*Apis mellifera scutellata*), com florada predominante de hortelã-do-campo (*Hyptis crenata*), produzido no Pantanal IV Simpósio sobre Recursos Naturais e sócio-económicos do Pantanal.** Disponível em: http://www.cpap.embrapa.br/agencia/simpan/sumario/artigos/asperctos/pdf/bióticos/607RB_R eis_2_OKVisto.pdf

Decreto-Lei nº 131/85, Diário da República, 1ª Série, nº 98, de 29.4.1985, 1130

DENOBILO, Michela *et al.* – **Validação de método para determinação de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, clorotetraciclina e doxiciclina, em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 40 (2) (2004) 210-218

Diretiva 86/363/EEC do Conselho de 7 de agosto de 1986, Jornal Oficial da União Europeia, 43-47

Diretiva 2004/28/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 de março de

2004, Jornal Oficial da União Europeia

EFSA Journal 2013; 11 (5): 3196

ELISA imagem [acedido a 27 de fevereiro de 2014]. Disponível em: <file:///C:/Users/ingride/Downloads/Monografia%20de%20Acompanhamento%20Farmac%C3%AAAutico%20-%20Terapias%20em%20cancro%20da%20mama%20triplo-negativo.pdf>

FERNANDES, Sergio A. A. *et al.* – **Daily ingestion of tetracycline residue presente in pasteurized milk: a public health problem** *Environ Sci. Pollut Res.* (2013)
DOI: 1007/511356-013-2286-5

GIANNETTI, L. *et al.* – **Tetracycline residues in royal jelly and honey by liquid chromatography tandem mass spectrometry: validation study according to Comission Decision 2002/657/EC** *Anal Bioanal Chem* 398 (2010) 1017-1023

HAKUTA, Tadao *et al.* – **Practical Method for the Detection of Tetracyclines in Honey by HPLC and Derivative UV-Vis spectra** ©The Japan Society for Analytical Chemistry, 5 (2009) 1149-1153

HPLC imagem [acedido a 27 de Fevereiro de 2014]. Disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Hplc.JPG>

JEON, MoonSun e PAENG, Insook Rhee – **Quantitative detection of tetracycline residues in honey by a simple sensitive immunoassay** *Analytica Chimica Acta*, 626 (2008) 180-185

LEITE wikipedia [acedido a 24 de Fevereiro de 2014]. Disponível em: <pt.wikipedia.org/wiki/Leite>

LEMOES, Ana Ferreira *et al.* – **Determination of tetracycline in milk by thin-layer chromatography** *Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária*, 6 (2013) 24-29

MARTEL, Anne-claire *et al.* – **Tetracycline Residues in honey after hive**

treatment *Food Additives and Contaminants*, 23 (3) (2006) DOI: 10.1080/02652030500469048

MEL wikipedia [acedido a 24 de Fevereiro]. Disponível em: pt.wikipedia.org/wiki/Mel

MONTEIRO, Gisele V. T. A. *et al.* – **Avaliação da presença de resíduos de tetraciclinas em amostras de mel comercializadas no estado da Bahia** *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 9 (2) (2010) 102-107

NAVRÁTILOVÁ, Pavlína – **Screening Methods Used for the Detection of Veterinary Drug Residues in Raw Cow Milk – A Review** *Czech Journal Food Sci.*, 26 (6) (2008) 393-401

Norma Portuguesa 1307 de 1983

OLIVER, C. E. *et al.* – **Is it just lactose intolerance?** *Allergy and Asthma Proceedings*, 33 (5) (2012) 432-436

PACHECO-SILVA, Érica *et al.* – **Resíduos de Medicamentos Veterinários em leite e ovos** *Quim. Nova*, 37 (1) (2013) 111-122

PENA, A. *et al.* – **Validation of an Analytical Methodology for Determination of Tetracycline Residues in Honey by HPLC with Fluorescence Detection** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2005) 3784-3788

PEREIRA-MAIA, Elene C. *et al.* – **Tetraciclinas e gliciliclinas: uma visão geral** *Quim. Nova*, 33 (3) (2010) 700-706

PERES, Gustavo T. *et al.* – **Medicamentos Veterinários na apicultura: metodologias analíticas para determinação de resíduos no mel** *Revista Brasileira de Toxicologia*, 20 (1-2) (2007) 21-28

Portaria n° 470/87, Diário da República, 1ª Série, n° 128 de 4.6.1987

RAVASQUEIRA, Cláudia M. R. S. – **Avaliação da segurança química das carnes e produtos de origem animal produzidos em Portugal: Análise dos resultados obtidos pelo Plano Nacional de Controlo de Resíduos para o Triénio 2006-2008** *Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar*, 2010, Lisboa

Regulamento (UE) n° 37/2010 da Comissão de 22 de dezembro de 2009, Jornal Oficial da União Europeia

Regulamento (CE) n° 470/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 6 de maio de 2009, Jornal Oficial da União Europeia

Regulamento (CEE) n° 2377/90 do Conselho de 26 de junho de 1990, Jornal Oficial 224 de 18.8.1990

RUELA, Iara C. A. et al. – **Optimização e validação de método para determinação de resíduos de oxitetraciclina, tetraciclina e clorotetraciclina em leite por cromatografia líquida de alta eficiência** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 25 (1) (2005) 139-146

SAMANIDOU, Victoria F. et al. – **Development and validation of an HPLC confirmatory method for the determination of seven tetracycline antibiotics residues in milk according to the European Union Decision 2002/657/EC** *J. Sep. Sci.*, 30 (2007) 2430-2439

VIEIRA, Thállitha S. W. J. et al. – **Detection of antibiotic residues in pasteurized milk samples from Paraná State, Brazil** *Ciências Agrárias, Londrina*, 33 (2) (2012) 791-796

ZHANG, Y. D. et al. – **Occurrence of tetracyclines, sulfonamides, sulfamethazine and quinolones in pasteurized milk and UHT milk in China's market** *Food Control*, 36 (2014) 238-242

Anexos

Anexo I – Regulamento (CEE) N° 2377/90 do CONSELHO, de 26 de Junho de 1990.

1990R2377 — PT — 21.01.2007 — 052.001 — 27

Substância(s) farmacologicamente activa(s)	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos alvo	Observações
▼M196 ▼M58 Tiamfenicol	Tiamfenicol	Bovinos	50 µg/kg	Músculo	
			50 µg/kg	Tecido adiposo	
			50 µg/kg	Fígado	
		Galinha	50 µg/kg	Rim	
			50 µg/kg	Leite	
			50 µg/kg	Músculo	
		Não utilizar em animais produtores de ovos para consumo humano	50 µg/kg	Pele mais tecido adiposo	
			50 µg/kg	Fígado	
			50 µg/kg	Rim	
1.2.6. Tetraciclina					
Substância(s) farmacologicamente activa(s) Clortetraciclina	Resíduo marcador Soma do princípio activo e do seu 4-epímero	Espécie animal Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	100 µg/kg	Músculo	
			300 µg/kg	Fígado	
			600 µg/kg	Rim	
			100 µg/kg	Leite	
			200 µg/kg	Ovos	

▼ M58

Substância(s) farmacologicamente activa(s)	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos alvo	Observações
Doxiciclina	Doxiciclina	Bovinos Não utilizar em animais produtores de leite para consumo humano	100 µg/kg 300 µg/kg	Músculo Fígado	
		Suínos	600 µg/kg 100 µg/kg	Rim Músculo	
		Aves de capoeira Não utilizar em animais produtores de ovos para consumo humano	300 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg	Pele mais tecido adiposo Fígado Rim	
			100 µg/kg 300 µg/kg	Músculo Pele mais tecido adiposo	
Oxytetraciclina	Soma do princípio ativo e do seu 4-epímero	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	300 µg/kg 600 µg/kg	Fígado Rim	
			100 µg/kg	Músculo	
			300 µg/kg 600 µg/kg	Fígado Rim	
			100 µg/kg 200 µg/kg	Leite Ovos	
Tetraciclina	Soma do princípio ativo e do seu 4-epímero	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg	Músculo Fígado Rim	

▼ M58

Substância(s) farmacologicamente activa(s)	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos alvo	Observações
			100 µg/kg 200 µg/kg	Leite Ovos	

1.2.7. Ansamicina com sistemas naltalénicos

Substância(s) farmacologicamente activa(s)	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos alvo	Observações
Rifaximina	Rifaximina	Bovinos	60 µg/kg	Leite	

1.2.8. Pleuromutilinas

▼ M71

Substância(s) farmacologicamente activa(s)	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos alvo	Observações
Tiamulina	Soma dos metabolitos que podem ser hidrolisados para 8-a-hidroxi-mutilina	Suínos Galinha	100 µg/kg 500 µg/kg 100 µg/kg 100 µg/kg 1 000 µg/kg	Músculo Fígado Músculo Pele e tecido adiposo Fígado	
		Coelhos	100 µg/kg 500 µg/kg	Músculo Fígado	
		Peru	100 µg/kg 100 µg/kg 300 µg/kg	Músculo Pele e tecido adiposo Fígado	

▼ M77▼ M83

Anexo II – Regulamento (UE) N° 37/2010 da COMISSÃO, de 22 de Dezembro de 2009

L 15/22

PT

Jornal Oficial da União Europeia

20.1.2010

Substância farmacologicamente activa	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos-alvo	Outras Disposições (em conformidade com o artigo 14.º, n.º 7, do Regulamento (CE) n.º 470/2009)	Classificação terapêutica
Cloridrato de vetrabutina	NÃO SE APLICA	Suínos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Cloridrato de xilazina	NÃO SE APLICA	Bovinos, equídeos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Clorito de sódio	NÃO SE APLICA	Bovinos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso tópico	NENHUMA ENTRADA
Clormadinona	Clormadinona	Bovinos	4 µg/kg 2 µg/kg 2,5 µg/kg	Tecido adiposo Fígado Leite	Exclusivamente para utilização zootécnica	Agentes que actuam sobre o sistema reprodutor
Clorocresol	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Clorofenamina		Todos os mamíferos destinados à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Clorotetraciclina	Soma do princípio activo e do seu 4-epímero	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg 100 µg/kg 200 µg/kg	Músculo Fígado Rim Leite Ovos	No tocante aos peixes de barbatana, o LMR para músculo refere-se a «músculo e pele em proporções naturais». Os LMR para fígado e rim não se aplicam aos peixes de barbatana.	Agentes anti-infecciosos/antibióticos
Clorsulon	Clorsulon	Bovinos	35 µg/kg 100 µg/kg 200 µg/kg	Músculo Fígado Rim	Não utilizar em animais produtores de leite para consumo humano	Agentes antiparasitários/Agentes activos contra os endoparasitas
Closantel	Closantel	Bovinos	1 000 µg/kg 3 000 µg/kg 1 000 µg/kg 3 000 µg/kg	Músculo Tecido adiposo Fígado Rim	Não utilizar em animais produtores de leite para consumo humano	Agentes antiparasitários/Agentes activos contra os endoparasitas
		Ovinos	1 500 µg/kg 2 000 µg/kg 1 500 µg/kg 5 000 µg/kg	Músculo Tecido adiposo Fígado Rim		

Substância farmacologicamente activa	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos-alvo	Outras Disposições (em conformidade com o artigo 14.º, n.º 7, do Regulamento (CE) n.º 470/2009)	Classificação terapêutica
Doramectina	Doramectina	Todos os mamíferos destinados à produção de alimentos	40 µg/kg 150 µg/kg 100 µg/kg 60 µg/kg	Músculo Tecido adiposo Fígado Rim	No tocante aos suínos, o LMR para tecido adiposo refere-se a «pele e tecido adiposo em proporções naturais». Não utilizar em animais produtores de leite para consumo humano.	Agentes antiparasitários/Agentes activos contra endo- e ectoparasitas
Doxapram	NÃO SE APLICA	Todos os mamíferos destinados à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Doxiciclina	Doxiciclina	Bovinos	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg	Músculo Fígado Rim	Não utilizar em animais produtores de leite para consumo humano.	Agentes anti-infecciosos/antibióticos
		Suínos, aves de capoeira	100 µg/kg 300 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg	Músculo Pele e tecido adiposo Fígado Rim	Não utilizar em animais produtores de ovos para consumo humano.	
Echinacea	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso em medicamentos veterinários homeopáticos preparados segundo farmacopeias homeopáticas, em concentrações correspondentes à tintura-mãe e respectivas diluições. Exclusivamente para uso tópico. Exclusivamente para uso em medicamentos veterinários homeopáticos preparados segundo farmacopeias homeopáticas, em concentrações no medicamento não superiores a uma parte por dez.	NENHUMA ENTRADA
Echinacea purpurea	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso tópico	NENHUMA ENTRADA
Emamectina	Emamectina B1a	Peixes de barbatana	100 µg/kg	Músculo e pele em proporções naturais	NENHUMA ENTRADA	Agentes antiparasitários/Agentes activos contra endo- e ectoparasitas
Embonato de pirantel	NÃO SE APLICA	Equídeos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA

Substância farmacologicamente activa	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos-alvo	Outras Disposições (em conformidade com o artigo 14.º, n.º 7, do Regulamento (CE) n.º 470/2009)	Classificação terapêutica
Oxiclozanida	Oxiclozanida	Todos os ruminantes	20 µg/kg 20 µg/kg 500 µg/kg 100 µg/kg 10 µg/kg	Músculo Tecido adiposo Fígado Rim Leite	NENHUMA ENTRADA	Agentes antiparasitários/Agentes activos contra os endoparasitas
Óxido de albendazole	Soma de óxido de albendazole, albendazole-sulfona e albendazole-2-amino-sulfona, expressos como albendazole	Bovinos, ovinos	100 µg/kg 100 µg/kg 1 000 µg/kg 500 µg/kg 100 µg/kg	Músculo Tecido adiposo Fígado Rim Leite	NENHUMA ENTRADA	Agentes antiparasitários/Agentes activos contra os endoparasitas
Óxido de cálcio	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Óxido de cobalto	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Óxido de cobre	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Óxido de dicobre	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Óxido de magnésio	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Óxido de manganês	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso oral	NENHUMA ENTRADA
Óxido de zinco	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Oxitetraciclina	Soma do princípio activo e do seu 4-epímero	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg 100 µg/kg 200 µg/kg	Músculo Fígado Rim Leite Ovos	No tocante aos peixes de barbatana, o LMR para músculo refere-se a «músculo e pele em proporções naturais». Os LMR para o tecido adiposo, fígado e rim não se aplicam aos peixes de barbatana.	Agentes anti-infecciosos/antibióticos
Oxitocina	NÃO SE APLICA	Todos os mamíferos destinados à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA

Substância farmacologicamente activa	Resíduo marcador	Espécie animal	LMR	Tecidos-alvo	Outras Disposições (em conformidade com o artigo 14.º, n.º 7, do Regulamento (CE) n.º 470/2009)	Classificação terapêutica
<i>Terebinthinae aetheroleum rectificatum</i>	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso tópico	NENHUMA ENTRADA
<i>Terebinthinae laricina</i>	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso tópico	NENHUMA ENTRADA
Tetracaína	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso como anestésico	NENHUMA ENTRADA
Tetraciclina	Soma do princípio activo e do seu 4-epímero	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	100 µg/kg 300 µg/kg 600 µg/kg 100 µg/kg 200 µg/kg	Músculo Fígado Rim Leite Ovos	No tocante aos peixes de barbatana, o LMR para músculo refere-se a «músculo e pele em proporções naturais». Os LMR para o fígado e rim não se aplicam aos peixes de barbatana.	Agentes anti-infecciosos/antibióticos
<i>Thuja occidentalis</i>	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente para uso em medicamentos veterinários homeopáticos preparados segundo farmacopeias homeopáticas, em concentrações no medicamento não superiores a uma parte por cem	NENHUMA ENTRADA
<i>Thymi aetheroleum</i>	NÃO SE APLICA	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	NENHUMA ENTRADA	NENHUMA ENTRADA
Tiabendazol	Soma de tiabendazol e 5-hidroxitiabendazol	Bovinos, caprinos	100 µg/kg 100 µg/kg 100 µg/kg 100 µg/kg 100 µg/kg	Músculo Tecido adiposo Fígado Rim Leite	NENHUMA ENTRADA	Agentes antiparasitários/Agentes activos contra os endoparasitas
Tiamilal	NÃO SE APLICA	Todos os mamíferos destinados à produção de alimentos	LMR não exigido	NÃO SE APLICA	Exclusivamente por via endovenosa	NENHUMA ENTRADA