

COMPARAÇÃO ENTRE OS REGULAMENTOS BRASILEIROS E EUROPEUS SOBRE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS EM OVOS

RESUMO

A produção intensiva de ovos de galinha contribui para a disseminação das resistências antimicrobianas (RAM) devido ao uso continuado de antibióticos na saúde dos animais. O antibiótico pode passar da galinha ao ovo na forma residual e contribuir para a seleção de bactérias resistentes em quem o consome. Por esse motivo, regulamentos estabelecem limites máximos de resíduo (LMR) de insumos farmacologicamente ativos (IFA) em alimentos de origem animal e parâmetros de validação dos métodos analíticos utilizados para sua determinação. Ao comparar os regulamentos brasileiros com os da União Europeia (UE), destino de boa parte das exportações de alimentos de origem animal do Brasil e bastante ativa no combate às RAM, constatou-se que o LMR em ovos de alguns antibióticos é bastante superior no Brasil e em alguns casos antibióticos proibidos na UE são permitidos no Brasil. O regulamento brasileiro de validação é mais generalista e com conceitos simples, coincidindo apenas nos parâmetros precisão e seletividade com o regulamento da UE.

INTRODUÇÃO

O ovo é um alimento bastante consumido em todo o mundo devido ao seu elevado valor nutricional, importância cultural e gastronômica (1). No Brasil em 2021, o consumo per capita foi de 257 ovos e a produção nacional foi uma das maiores do mundo, chegando a 54,9 bilhões de ovos (2). O agravamento da crise financeira provocada pela pandemia do coronavírus associado a aumentos consecutivos do preço da carne fez com que o ovo se tornasse a fonte principal de proteínas (3). Durante esse período, o ovo foi o alimento que teve o maior aumento do consumo no Brasil com 18,8% (4). Com tamanha demanda, o sistema de produção de ovos predominante no Brasil é o intensivo utilizando gaiolas convencionais (95%), sistema proibido na UE (5). A elevada densidade de aves restringe o bem-estar animal, gerando doenças que demandam o uso de antibióticos.

Embora cada vez mais restrito, o banimento total do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho, já em vigor na UE, ainda não ocorreu no Brasil. Na produção caipira de ovos, o uso indiscriminado de antibióticos é ainda mais preocupante devido à falta de controle da venda dos antimicrobianos em lojas agropecuárias e de conhecimento técnico para administração dos medicamentos (6). Alimentos que possuem antibióticos residuais são promotores das RAM, pois o consumo frequente de antibióticos pode selecionar estirpes de bactérias tolerantes ao medicamento que as combate (7). Esse é um problema grave de saúde pública que já se tornou mais letal que o HIV e a malária, sendo a causa 1,27 milhão de mortes em todo o mundo no ano de 2019 (8). Para realizar o controle de qualidade dos alimentos de origem animal e garantir a segurança alimentar do consumidor são definidas as substâncias proibidas e, para as permitidas são definidas os LMR. Os métodos utilizados para determinar essas substâncias deve seguir parâmetros regulamentados e requisitos específicos de validação.

OBJETIVO

Considerando a importância do controle das RAM, pretende-se expor os aspectos principais dos regulamentos brasileiros e europeus sobre LMR de antibióticos em ovos e

parâmetros de validação dos métodos analíticos. Em específico, o objetivo é identificar as diferenças entre os regulamentos.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Limite máximo de resíduo

No Brasil, a Instrução Normativa nº 51 de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é a que estabelece os LMR para IFA de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal discriminando por tipo de tecido e espécie animal e indicando seu resíduo marcador (9).

Entre os antibióticos, apenas o cloranfenicol, nitrofuranos, metronidazol, carbadox e olaquinox são citados como IFA proibidos e sem LMR estabelecido. Para animais produtores de ovos, não é permitida a aplicação de: ácido oxolínico, amoxicilina, ampicilina, apramicina, avilamicina, cloxacilina, benzilpenicilina, virginiamicina, tilmicosina, tianfenicol, espiramicina, sarafloxacina, kanamicina, flumequina, florfenicol, enrofloxacina, doxiciclina dicloxacilina, difloxacina, danofloxacina, sulfonamidas e trimetoprima (9). Caso um IFA esteja presente em medicamento veterinário registrado no país com longo histórico de utilização e sem efeitos adversos em humanos comprovados, mas não possua LMR definido no *Codex Alimentarius*, a Anvisa adota um LMR de 10µg/kg analisando individualmente o caso (10).

Na UE, os LMR estão estabelecidos no Regulamento nº 37/2010 de 22 de dezembro de 2009, o qual difere da norma brasileira nos antibióticos proibidos para aplicação em animais por incluir também a dapsona na lista de proibições e não citar o carbadox e olaquinox. Aos antibióticos proibidos para animais produtores de ovos acresce a espectinomomicina (11), permitido do Brasil com LMR elevado de 2000 µg/kg, sendo bastante utilizada em associação com a lincomicina em galinhas no controle de aerossaculite e doença crônica respiratória (12). O regulamento europeu se diferencia do brasileiro por incluir a paromomicina na lista de antibióticos permitidos e não incluir bacitracina. Todavia, a resistência antimicrobiana devido ao uso de bacitracina não é comum e, em algumas estirpes de bactéria, a resistência é transitória e desaparece na maioria dos casos após a suspensão do tratamento com o medicamento (13).

Os antibióticos que podem ser administrados em galinhas poedeiras, no Brasil e na UE, estão listados na Tabela 1. Entre os antibióticos permitidos, há diferenças entre os LMR das clortetraciclina, oxitetraciclina e tetraciclina, sendo o do regulamento brasileiro o dobro do regulamento europeu. As tetraciclina são antibióticos utilizados no tratamento de infecções respiratórias e gastrointestinais, mas podem ser utilizadas como aditivos alimentares em aves no Brasil (14), uma vez que a Portaria nº171 de 2018 apenas proíbe o uso dos antimicrobianos tilosina, lincomicina, virginiamicina, bacitracina e tiamulina como aditivos (15). Além do risco de seleção das RAM, as tetraciclina também propiciam a ocorrência de reações alérgicas, efeitos adversos à flora intestinal e prejudicam a ação protetora local (16). Também há diferença no LMR da tilosina, o qual corresponde a 300 µg/kg no Brasil e a 200 µg/kg na UE. A tilosina é bastante utilizada para tratar e prevenir doenças respiratórias crônicas em galinhas poedeiras, sua subdosagem ou seu uso por período inferior ao recomendado pode causar RAM à tilosina e outros macrólidos (17). Com LMR três vezes maior que o brasileiro, na UE destaca-se a eritromicina, da família dos macrólidos com ação bacteriostática e bactericida em

maiores concentrações. Caso seja administrada de modo indevido, pode resultar em resistência bacteriana à eritromicina e reduzir a eficácia do tratamento com outros macrólidos, lincosamidas e estreptograminas por resistência cruzada (18).

Tabela 1. Antibiótico, resíduo marcador e LMR para ovos de galinha no Brasil e UE

Antibiótico	Brasil		UE	
	Resíduo marcador	LMR (µg/kg)	Resíduo marcador	LMR (µg/kg)
Clortetraciclina	Molécula precursora (isolada ou combinada)	400	Soma do princípio ativo e do seu 4-epímero	200
Colistina	Soma de Colistina A e Colistina B	300	Colistina	300
Eritromicina	Eritromicina A	50	Eritromicina A	150
Fenoximetilpenicilina	Fenoximetilpenicilina	25	Fenoximetilpenicilina	25
Lasalocida	Lasalocida A	150	Lasalocida A	150
Lincomicina	Lincomicina	50	Lincomicina	50
Neomicina	Neomicina B	500	Neomicina B	500
Oxitetraciclina	Molécula precursora (isolada ou combinada)	400	Soma do princípio ativo e do seu 4-epímero	200
Tetraciclina	Molécula precursora (isolada ou combinada)	400	Soma do princípio ativo e do seu 4-epímero	200
Tiamulina	Tiamulina	1000	Tiamulina	1000
Tilosina	Tilosina A	300	Tilosina A	200
Tilvalosina	Soma de tilvalosina e 3-O-acetiltilosina	200	Tilvalosina	200
Bacitracina	Soma de Bacitracina A e Bacitracina B	500		
Espectinomicina	Espectinomicina	2000		
Paromomicina			Paromomicina	200

Parâmetros de validação do método

No Brasil, a Resolução nº166 de 2017 da Anvisa estabelece critérios para validação de métodos empregados em IFA, medicamentos e produtos biológicos, não havendo uma norma específica para detecção e quantificação de IFA em alimentos de origem animal. Um método analítico não descrito em compêndio oficial reconhecido pela Anvisa precisa de validação, que consiste numa avaliação por ensaios experimentais para fornecer evidências dos requisitos para o seu uso (19). Os parâmetros de validação de cada método encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros para validação de métodos analíticos no Brasil

Parâmetros	Ensaio limite	Quantitativo
Limite de Detecção	X	
Limite de quantificação		X
Precisão, Precisão Intermediária e Exatidão		X
Seletividade/especificidade	X	X
Linearidade e Intervalo		X

Nos testes de impurezas, há o ensaio limite, que permite verificar se a quantidade do analito encontra-se acima ou abaixo de um nível estabelecido, mas sem o quantificar com exatidão, e a ele se aplica o limite de detecção, que é a menor quantidade de analito presente na amostra possível de ser detectada. Há também a quantificação exata de analitos, à qual se aplica o limite de quantificação, que é a menor quantidade do analito

presente na amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob condições experimentais estabelecidas.

Na UE, o Regulamento de Execução 2021/808 de 2021 é o que determina os parâmetros de validação de métodos analíticos em específico para IFA em animais produtores de gêneros alimentícios, além de orientar sobre a interpretação de resultados e métodos de amostragem (20). Esse regulamento classifica os métodos em triagem e confirmação, sendo estes últimos os que geram informações completas de identificação e permitem quantificar. O método de triagem tem apenas a finalidade de identificar substâncias a um determinado nível, podendo ser qualitativa, semiquantitativa ou quantitativa (20). Em substituição ao limite de quantificação presente no regulamento brasileiro, tem-se o limite de decisão ($CC\alpha$), que é a concentração a partir da qual é possível afirmar que uma amostra não é conforme, estando associado aos métodos de confirmação. Para substâncias proibidas, o $CC\alpha$ deve ser o menor possível ou menor ou igual à referência para tomada de medidas. Para substâncias permitidas, o $CC\alpha$ deve ser superior, mas próximo do LMR. Ao invés de limite de detecção, tem-se a capacidade de detecção ($CC\beta$), o qual é o teor mais baixo de analito que pode ser detectado ou quantificado na amostra e é aplicado em triagem. Para substâncias proibidas, o $CC\beta$ é a concentração mais baixa possível de ser detectada, e para substâncias permitidas o $CC\beta$ é a concentração possível de ser detectada pelo método abaixo do LMR. Os parâmetros de validação encontram-se na Tabela 3

Tabela 3. Parâmetros para validação de métodos analíticos na UE

Parâmetros	Triagem			Confirmação	
	Qualitativa	Semi-quantitativa	Quantitativa	Qualitativa	Quantitativa
$CC\alpha$				X	X
$CC\beta$	X	X	X		
Veracidade			X		X
Precisão		X	X		X
Efeito de matriz e recuperação			X		X
Seletividade/especificidade	X	X	X		X
Estabilidade e Robustez	X	X	X		X

Além das distinções nos métodos e validação, o regulamento europeu se diferencia por detalhar os procedimentos por parâmetro, equipamento, técnica aplicada e outros critérios de desempenho necessários aos métodos analíticos.

CONCLUSÃO

Considerando os sistemas de produção de ovos e do uso de medicamentos, os regulamentos brasileiros encontram-se desatualizados em relação ao combate das RAM quando comparados aos da UE. LMR mais elevados para os antibióticos clortetraciclina, oxitetraciclina, tetraciclina e tilosina, e a permissão do uso de espectinomomicina e bacitracina podem constituir um entrave para relações econômicas de exportação, uma vez que a UE impõe restrições aos parceiros comerciais para conter a disseminação das RAM. O aumento no consumo de ovos no Brasil é um incentivo para que os LMR sejam revisados. Por fim, o regulamento brasileiro sobre validação de métodos não traz especificações sobre aplicação em matrizes alimentares nem utiliza os termos triagem, confirmação, $CC\alpha$ e $CC\beta$, mas apresenta métodos e parâmetros equivalentes com

conceitos simplificados. Com apenas os parâmetros precisão e seletividade presentes em ambos, o regulamento europeu se mostra mais rigoroso que o em vigor no Brasil.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ALMEIDA, M.; ROCHA, H.; MATEUS, T. L. Riscos e benefícios do consumo de ovos. **TecnoAlimentar**, n. 9, p.58-61, 2016.
2. Embrapa. **Mercado brasileiro de frangos de corte, suínos e ovos**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/mapas>. Acesso em: 22 de jul. 2022.
3. BBC News Brasil. **Aumento da pobreza e falta de comida transformam ovo em prato principal**, 2021. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/brasil-57110397>. Acesso em: 23 de jul. 2022.
4. GALINDO, E.; TEIXEIRA, M. A.; ARAÚJO, M.; MOTTA, R.; PESSOA, M.; MENDES, L.; RENNÓ, L. Efeitos da pandemia na alimentação e na situação da segurança alimentar no Brasil. **Food for Justice Working Paper Series**, n. 4, 2021.
5. SILVA, I. J. O. Sistemas de produção de galinhas poedeiras no Brasil. **Diálogos União Europeia-Brasil**, 2019. Disponível em: https://eubrdialogues.com/documentos/proyectos/adjuntos/b26c49_X-GUIA-GALINHAS-2019.pdf. Acesso em: 23 de jul. 2022.
6. ALVES, I.; SILVA, R. R.; CASTRO, S. M.; FONSECA, B. B. **Uso incontrolado de antimicrobianos e a crença de uma vida saudável pelo consumo de produtos de aves caipiras**, 2022. Disponível em: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/uso-incontrolado-de-antimicrobianos-e-a-crenca-de-uma-vida-saudavel-pelo-consumo/20220622-085153-v264>. Acesso em: 23 de jul. 2022.
7. CORREIA, M. C. M. A. **Padrão de prescrição de antibióticos em produção animal, em Portugal e a problemática das resistências aos antimicrobianos**. 2017. 58 f. Relatório de estágio (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, Portugal, 2017.
8. THE LANCET. Antimicrobial resistance: time to repurpose the global fund. **The Lancet**, v. 399, n. 10322, p. 335, jan. 2022.
9. ANVISA. Instrução Normativa nº 51, de 19 de dezembro de 2019. Diário Oficial da União, n. 249, seção 1, p. 98, 2019.
10. ANVISA. Resolução - RDC nº 328, de 19 de dezembro de 2019. Diário Oficial da União, n. 249, seção 1, p. 82, 2019.
11. Comissão Europeia. Regulamento (UE) nº 37/2010, de 22 de dezembro de 2009. Jornal Oficial da União Europeia, L15, p. 1-72.
12. CALDEIRA, L. G. M. **Pesquisa de resíduos de antimicrobianos em ovos e validação de método multirresíduos qualitativo e confirmatório por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial**. 2012. 138 f. Tese (Doutorado em Ciência animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2012.
13. DGAV. **Resumo das características do medicamento**, 2021. Disponível em: <https://medvet.dgav.pt/web/content?model=ir.attachment&field=datas&id=17517&filename=Vetalmex%20Bacitracina%20SRMV%20R%20fevereiro%202021.pdf&>. Acesso em: 23 de jul. 2022.
14. LANZA, I. P. **Utilização de antimicrobianos em galinhas de postura e avaliação do perfil de resistência de micro-organismos isolados da casca dos ovos**. 2016. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2016.
15. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 171, de 13 de dezembro de 2018. Diário Oficial da União, n. 243, seção 1, p. 23, 2018.
16. DENOBILE, M.; NASCIMENTO, E. S. Validação de método para determinação de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina e doxiciclina, em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 2, p. 209-218, jun. 2004.
17. DGAV. **Resumo das características do medicamento**, 2016. Disponível em: https://medvet.dgav.pt/medvet_dgav/static/RCM/Tylan_250.pdf. Acesso em: 25 de jul. 2022.
18. DGAV. **Resumo das características do medicamento**, 2017. Disponível em: https://medvet.dgav.pt/medvet_dgav/static/RCM/ERYTHROMICINE_200.pdf. Acesso em: 23 de jul. 2022.
19. ANVISA. Resolução - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Diário Oficial da União, n. 141, seção 1, p. 87-89, 2017.
20. Comissão Europeia. Regulamento de Execução (UE) 2021/808, de 22 de março de 2021. Jornal Oficial da União Europeia, L180, p. 84-109.