



MONITORIZAÇÃO DE FÁRMACOS EM PRODUÇÃO ANIMAL

O uso de fármacos, de forma continuada, em produção animal gera preocupações para a saúde pública. O estudo da presença de resíduos de fármacos em amostras provenientes de explorações animais é uma das atribuições do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Laura Grácio^{1,2}, Devesankar Sunilkumar², Marta Leite³, Andreia Freitas^{2,3}

¹ Escola Superior Agrária de Coimbra, Politécnico de Coimbra

esac
Politécnico de Coimbra

² Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

iniv Instituto Nacional de
Investigação Agrária e
Veterinária, I.P.

³ REQUIMTE/LAQV

LAQV
requimte

Introdução

O aumento da produção intensiva de alimentos de origem animal leva a uma maior utilização de fármacos, o que leva a preocupações quanto à presença de resíduos desses compostos na cadeia alimentar e no ambiente. A administração de fármacos em produção animal tem por finalidade:

- Profilaxia – na prevenção e restrição de doenças em sistemas intensivos de produção;
- Terapêutica – tratamento de infecções clínicas nos animais;
- Metafilaxia – tratamento em grupo para conter surtos;
- Promoção do crescimento – prática proibida na União Europeia.

A exposição contínua dos animais a fármacos pode favorecer a presença direta destes em diversos produtos da cadeia alimentar. Há ainda a considerar que os fármacos excretados pelos animais de produção chegam ao meio ambiente através da adubação dos solos por excrementos e águas residuais que contaminam os cursos de água e afetam a biodiversidade microbiana.

No caso específico de resíduos de antibióticos e antiparasitários, estes podem contribuir para o desenvolvimento de resistências antimicrobianas e antiparasitárias, colocando em risco a saúde humana e animal no âmbito do conceito “Uma Só Saúde” (*One Health*). Este conceito é definido como a colaboração entre várias saúdes que visa garantir uma saúde global para pessoas, animais e meio ambiente, reconhecendo a sua interligação^[1]. De acordo com a Comissão Europeia, as resistências antimicrobianas são responsáveis, atualmente, por mais de 35 mil mortes por ano na União Europeia^[2]. O uso intensivo de antibióticos, aplicados tanto no tratamento de doenças, como de modo a prevenir ou controlo da sua propagação, tem-se tornado prática global comum e crescente em produção animal. Esta prática pode resultar numa exposição contínua dos animais durante todo o seu ciclo de vida^[3] e daí favorecer a contaminação do meio ambiente, contaminando solos e recursos hídricos, e contribuindo para o aparecimento e propagação de resistências antimicrobianas.

Como país membro da União Europeia, Portugal segue os regulamentos europeus onde se inclui o controlo e monitorização dos fármacos de uso veterinário autorizados e proibidos, bem como garantir que os limites máximos de resíduos (LMR) de cada fármaco^[4] são cumpridos. Os LMR representam a quantidade máxima de resíduos de um fármaco que pode ser encontrado em tecidos ou produtos de origem animal sem apresentar risco à saúde do consumidor. Para responder a este desafio, foram desenvolvidos métodos analíticos de multidetecção que permitem identificar e quantificar simultaneamente resíduos em amostras de origem animal e ambiental (no sentido de monitorizar possíveis contaminações em ambientes de produção animal). Esta investigação contribui para a avaliação do risco, orientar estratégias de mitigação e reforçar a necessidade de práticas agrícolas sustentáveis que reduzam a ocorrência e propagação de contaminações químicas.

Resíduos de fármacos em leite e carne

Os fármacos mais frequentemente detetados no leite e na carne são antibióticos, mais concretamente pertencentes aos grupos dos β -lactâmicos, tetraciclina, sulfonamidas, aminoglicósidos, fluoroquinolonas e macrólidos^[5].

Os **antibióticos β -lactâmicos**, tal como a penicilina, amoxicilina e cefalosporinas, são amplamente utilizados no tratamento de infeções bacterianas em bovinos leiteiros. A presença destes antibióticos em alimentos pode provocar reações alérgicas em indivíduos sensíveis e interferir nos processos de fermentação usados na produção de derivados lácteos, como queijo e iogurte.

As **tetraciclina**s, nomeadamente a oxitetraciclina, clortetraciclina e doxiciclina, são também detetadas com frequência no leite. São utilizadas no tratamento de infeções respiratórias e sistémicas em animais de produção. A exposição prolongada a tetraciclina através do consumo de leite contaminado tem sido associada ao desenvolvimento de resistências antimicrobianas e efeitos tóxicos, para além de poder alterar a qualidade dos produtos lácteos. As **sulfonamidas**, como a sulfametazina, sulfadiazina e sulfametoxazol, são frequentemente usadas

em terapias combinadas para o tratamento de infecções bacterianas. Estudos indicam que a exposição prolongada a resíduos de sulfonamidas pode desencadear reações de hipersensibilidade em humanos e que algumas substâncias podem apresentar potenciais efeitos carcinogênicos.

Os **aminoglicósidos**, como a gentamicina, estreptomicina e neomicina, são usados principalmente no tratamento de infecções provocadas por bactérias Gram-negativas. Apesar da sua eficácia clínica, a exposição humana prolongada pode resultar em nefrotoxicidade e ototoxicidade, sublinhando a importância de uma monitorização rigorosa.

As **fluoroquinolonas**, como a ciprofloxacina, enrofloxacin e norfloxacina, são também antibióticos cruciais para o tratamento de infecções graves em bovinos leiteiros. Apesar da regulamentação rigorosa, métodos sensíveis e específicos continuam a ser essenciais para garantir o cumprimento dos limites legais.

Por fim, os **macrólidos**, como a tilmicosina, a gamitromicina, a azitromicina e a eritromicina, são utilizados no tratamento de infecções bacterianas, especialmente respiratórias, atuam na inibição da síntese proteica bacteriana. Resíduos destes antibióticos podem persistir na carne, o que proporciona reações alérgicas e o desenvolvimento de resistência bacteriana.

Estes fármacos são os mais frequentes no leite, mas o seu uso é permitido, dentro dos limites máximos estabelecidos. No entanto, existem antibióticos proibidos na União Europeia, nomeadamente cloranfenicol, nitrofuranos e nitroimidazóis, que são considerados como os antibióticos de “tolerância zero”.

Metodologias de deteção

Um método de análise tem de consistir num sistema de vigilância eficaz no que concerne à determinação qualitativa e quantitativa dos compostos presentes nas matrizes. O método preferencial para a deteção de fármacos em leite e carne é a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), ou seja, os componentes da amostra são separados com base nas suas propriedades físico-químicas, o que resulta em diferentes tempos de retenção; já a deteção por espectrometria de massa é utilizada para iden-

tificar inequivocamente as moléculas através da razão massa/carga dos iões dos compostos presentes e dos fragmentos característicos de cada molécula. Para que esta análise instrumental aconteça, as amostras têm de passar por um processo de extração, para isolar e purificar os extratos das amostras e os componentes a determinar. A Figura 1 sumaria os passos representativos dos processos de preparação/extração das amostras de leite e de carne para a análise por LC-MS/MS de antibióticos.

Métodos de extração

Extração líquido-líquido para amostras de leite^[6]: baseia-se na transferência de compostos presentes em matriz aquosa (leite) para um solvente normalmente orgânico, como o acetonitrilo (ACN). O processo da transferência acontece com a adição do solvente às amostras, as quais são homogeneizadas por agitação para melhorar a eficiência da extração. Posteriormente, as amostras são imersas num banho ultrassónico, centrifugadas e, por fim, evaporadas e injetadas num sistema de LC-MS/MS (cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa sequencial).

Extração sólido-líquido para amostras de carne^[7]: semelhante à extração líquido-líquido, no entanto, depois da primeira centrifugação é separada a parte líquida da parte sólida (carne). Por ser uma matriz com maior conteúdo de gordura, este processo inclui um passo de desengorduramento com n-hexano. Após concentração do extrato, este é injetado no sistema de LC-MS/MS para análise.

Conclusão

O impacto que as práticas de produção animal podem ter na Segurança Alimentar e consequentemente para o consumidor, deve ser valorizado e monitorizado. Uma das preocupações mais atuais está relacionada com a possibilidade de haver correlação entre o uso inadequado de antibióticos em produção animal e o desenvolvimento de estirpes de bactérias resistentes. Por forma a minimizar os impactos negativos do uso de fármacos em produção animal, é essencial adotar uma abordagem multidisciplinar que inclua estratégias de mitigação adequadas. Mais concretamente: i) o uso racional e adequada prescrição veterinária de me-

PROCESSOS ANALÍTICOS DE EXTRAÇÃO

EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO E
EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA
LEITE E CARNE



RECEÇÃO DE AMOSTRAS



ADIÇÃO DE SOLVENTES DE
EXTRAÇÃO

ACN + EDTA

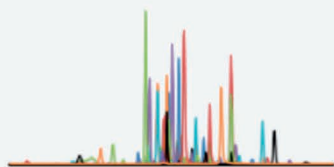


HOMOGENEIZAÇÃO &
CENTRIFUGAÇÃO



EVAPORAÇÃO SOB
CORRENTE DE AZOTO

DETERMINAÇÃO ANALÍTICA POR LC-MS/MS



dicamentos; ii) a monitorização de resíduos de fármacos em alimentos de origem animal; iii) investimento na melhoria das condições de bem-estar e biossegurança dos animais de produção (por forma a diminuir a necessidade de uso recorrente de medicamentos); e iv) sensibilização dos produtores para os problemas associados ao uso desadequado dos fármacos.

Em conclusão, é imprescindível ter controlo laboratorial adequado e com capacidade de deteção que garanta o cumprimento da legislação em vigor na perspetiva de proteger tanto o consumidor como, também, a saúde animal e ambiental. 🌱

Bibliografia

- [1] Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida (2023). "ONE HEALTH": Um Planeta, Uma Saúde, Uma Ética. Europress, Lisboa.
- [2] FAO (2024). Tackling antimicrobial resistance in food and agriculture.
- [3] Regitano, J.B.; Leal, R.M.P. (2010). Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. *Rev Bras Cienc Solo*, **34**:601–616. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000300002>.
- [4] European Parliament and the Council of the European Union (2010). COMMISSION REGULATION (EU) No 37/2010. *Official Journal of the European Union*.
- [5] Mishra, A.; Chhonker, Y.S.; Bisen, A.C.; Prasad, Y.D.; Tul-sankar, S.L.; Chandasana, H.; Dey, T.; Verma, S.K.; Bala, V.; Kanojiya, S.; Ghatak, S.; Bhatta, R.S. (2020). Rapid and Simultaneous Analysis of Multiple Classes of Antimicrobial Drugs by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Its Application to Routine Biomedical, Food, and Soil Analyses. *ACS Omega*, **5**:31584–31597. <https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.0C03863>.
- [6] Leite, M.; Marques, A.R.; Vila Pouca, A.S.; Barros, S.C.; Barbosa, J.; Ramos, F.; Afonso, I.M.; Freitas, A. (2023). UHPLC-ToF-MS as a High-Resolution Mass Spectrometry Tool for Veterinary Drug Quantification in Milk. *Separations*, **10**:457. <https://doi.org/10.3390/separations10080457>.
- [7] Freitas, A.; Barbosa, J.; Ramos, F. (2014). Multi-residue and multi-class method for the determination of antibiotics in bovine muscle by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Meat Sci.*, **98**. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.003>.

Figura 1 – Representação esquemática dos processos de extração de antibióticos de amostras de leite e de carne.