



FACULDADE DE VETERINÁRIA

Departamento de Produção Animal e Tecnologia de Alimentos

Secção de Tecnologia de Alimentos

Curso de Licenciatura em Ciência e Tecnologia de Alimentos

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DE ESTUDOS

Pesquisa dos resíduos de substâncias antimicrobianas em ovos de consumo comercializados na cidade de Maputo

Estudante:

Pedro Hermenegildo Munguambe

Supervisor:

Mestre Charmila Mussagy

Co-supervisor:

Lic. Agnaldo Joaquim Manhiça

Maputo, junho de 2024

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, **Pedro Hermenegildo Munguambe** declaro por minha honra que o presente trabalho de culminação do curso é fruto de investigação por mim realizada para obtenção do grau de licenciatura em **Ciências e Tecnologia de Alimentos** sob as orientações dos meus supervisores, o seu conteúdo é original e todas as fontes consultadas estão devidamente referidas no texto e nas referências bibliográficas. Declaro ainda que, este trabalho de pesquisa não foi apresentado parcialmente nem totalmente em nenhuma outra instituição para obtenção de qualquer grau académico.

Maputo, Junho de 2024

(Pedro Hermenegildo
Munguambe)

AGRADECIMENTOS

Á DEUS pelas bênçãos, proteção e liderança, me conferindo coragem, sabedoria, ânimo e determinação para que me mantivesse firme e forte durante essa jornada académica, sobre tudo nesse último ano em que eu e a minha colega **Albertina** sofremos um acidente laboratorial, por isso, também sou grato a Ele pela minha saúde física e emocional.

Aos meus pais **Hermenegildo** e **Elina**, que incansavelmente depositaram a sua confiança em mim e na minha formação, mesmo com dificuldades eles nunca deixaram faltar nada para minha formação. A vocês meus pais vai o meu profundo e eterno obrigado.

A Universidade Eduardo Mondlane (UEM), de forma particular a Faculdade de Veterinária pelos ensinamentos e a formação académica no grau de licenciatura.

Aos meus supervisores Mestre **Charmila Mussagy** e ao Lic. **Agnaldo Manhiça** por terem aceitado trabalhar comigo e pelo grande apoio na elaboração deste trabalho dando-me devidas orientações.

Aos docentes da UEM, com destaque aos docentes da Faculdade de Veterinária na secção de Tecnologia de Alimentos que fizeram grandes contribuições de forma directa e indirecta na minha formação académica, de forma particular a Prof^a. Doutora **Custódia Macuamule**, Prof^o. Doutor **Belisário Moiane**, Prof^a. Doutora **Dácia Correia**, Mestre **Emelda Simbine**, Mestre Engenheiro **Felizardo Severino**, e aos técnicos de laboratórios nomeadamente Lic. **Joaquim Manguale** e ao Senhor **António Guambe**, pois que, de forma incansável transmitiram para mim os seus conhecimentos técnico científicos.

Aos meus colegas da Faculdade, **Edmilson Comé**, **Resto Macheembe**, **Emidio Gerson**, e aos meus colegas do curso em especial aos colegas da turma do Curso de Ciências e Tecnologia de Alimentos 2019 nomeadamente, **Joline Mugabe**, **Joaquim Amado**, **Inocência Mucavel**, **Albertina Mathe**, **Jolena Licone**, **Kátia Matosse** só vocês sabem como foi a nossa jornada (risos).

Em linhas gerais, agradeço a todos aqueles que fizeram parte da minha vida e do meu percurso académico, meu muito obrigado.

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

CAC - Comissão do *Codex Alimentarius*

EU4pt - Técnica de quatro placas da União Europeia

FAO - *Food and Agriculture Organization*

FAVET- Faculdade de Veterinária

HDL - *High Density Lipoproteins*

INE- Instituto Nacional de Estatística

LMR - Limites Máximos de Resíduos

MADER - Ministério de agricultura e Desenvolvimento Rural

MRPL - Limite mínimo de desempenho exigido

TA -Tecnologia de Alimentos

TSB - *Tryptical Soy Broth*

LISTA DE FEGURAS

Figura I Localização geográfica dos pontos de colheita das amostras.....	13
Figuras II, III e IV. Respectivamente ilustram o momento da rotulagem das placas de <i>Petri</i>	33
Figuras V, VI e VII ilustram o momento da incorporação das amostras do ovo nas placas de <i>petri</i> contendo os respetivos agar.....	34
Figuras VIII, IX mostram os halos formados pela inibição do crescimento microbiano em volta dos poços e a Figura X. Ilustra o momento das medições dos halos formados pelas inibições microbianas.....	35

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico I. Evolução de produção dos ovos de consumo em Moçambique (2013-2022).....	7
---	---

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Produção de ovos de consumo em alguns países de África no ano de 2019.....	6
Tabela II. Limite máximo de resíduos de antibióticos em ovos conforme estabelecido pela Comissão do <i>Codex Alimentarius</i>	10
Tabela III. Relação de microorganismos-teste, padrões de antibióticos e condições de incubação.....	11
Tabela IV. Resultados das Frequências das amostras positivas.....	17
Tabela V. Comparação dos halos de inibição nas amostras de clara de diferentes proveniências.....	18
Tabela VI. Comparação dos halos de inibição nas amostras da gema de diferentes proveniências.....	18
Tabela VII. Comparação dos halos de inibição nas amostras de ovo inteiro de diferentes proveniências.....	19
Tabela VIII. Avaliação global da presença de resíduos antimicrobianos em ovos comercializados na cidade Maputo.....	19

Índice

1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJECTIVOS	5
2.1. Geral	5
2.2. Específicos.....	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1. Produção mundial de ovos de consumo.....	6
3.2. Produção de ovos de consumo em Africa	6
3.3. Produção de ovos de consumo em Moçambique	7
3.4. Panorama actual da avicultura de postura	7
3.5. Composição nutricional e estrutural do ovo.....	7
3.6. Uso de antimicrobianos na produção de ovos	8
3.7. Cinética dos resíduos em diferentes tecidos do ovo.....	9
3.8. Monitoria de resíduos de antibióticos em produtos de origem animal.....	10
3.9. Método de inibição microbiológica em 4 placas (EU4PT).....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. Local de estudo.....	13
4.2. Amostragem e colheita de amostras	14
4.3. Procedimentos laboratoriais	14
4.3.1. Preparação das amostras	15
4.3.2. Preparação dos meios de Cultura	15
4.3.3. Reactivação das bactérias	15
4.3.4. Preparação de suspensões bacterianas	15

4.3.5. Inoculação.....	16
4.3.6. Leitura e interpretação dos resultados	16
4.3.7. Análise estatística	16
5. RESULTADOS.....	17
6. DISCUSSÃO.....	20
7. CONCLUSÃO	24
8. RECOMENDAÇÕES.....	25
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
10. Anexos.....	33

Resumo

O uso irresponsável de agentes antimicrobianos na produção de ovos, pode resultar na ocorrência de seus resíduos nos ovos assim como nos seus derivados, tornando-se uma das principais preocupações para a saúde pública. Esta pesquisa, teve como objectivo avaliar a ocorrência de resíduos de substâncias antimicrobianas em ovos produzidos e comercializados na cidade de Maputo. Um total de 50 amostras de ovos foram adquiridas em 3 mercados municipais e 2 produtores locais. As amostras foram submetidas a testagem de resíduos de substâncias antimicrobianas, pelo método de inibição microbiana (difusão em agar), aplicando a técnica de quatro placas da União Europeia (EU4pt). Resíduos de antimicrobianos foram detectados em todas amostras do ovo inteiro e nas componentes das claras do ovo (50/50; 100%), e uma taxa de positividade relativamente menor nas gemas (50/38 76%). Foi possível determinar os valores médios e o respectivo desvio padrão dos halos de inibição nas unidades positivas, que variam de 3.3 ± 5.0 e 14.3 ± 1.7 , 13 ± 1.9 e 21.1 ± 0.5 , 2.3 ± 4.6 e 13.6 ± 1.6 mm de diâmetro no ovo inteiro, na clara e na gema do ovo, respectivamente. Todas as 50 amostras apresentavam resíduos de antimicrobianos pertencentes ao grupo dos Beta-lactâmicos e Aminoglicosídeos, adicionalmente 44 foram positivas para resíduos de antimicrobianos do grupo das Sulfonamidas, enquanto o grupo dos Macrolídeos revelou-se positivo somente em 39 amostras. Os ovos comercializados na Cidade de Maputo podem representar potenciais riscos químicos a saúde pública dos consumidores. Portanto, é necessário que sejam implementadas medidas de monitoria e controlo desses resíduos em alimentos.

Palavras-chave: Ovos de galinha; Antibióticos; Resistência antimicrobiana; Moçambique

Abstract

The irresponsible use of antimicrobial agents in egg production can result in the occurrence of their residues in eggs as well as in their derivatives, becoming a major concern for public health. This research aimed to evaluate the occurrence of residues of antimicrobial substances in eggs produced and sold in the city of Maputo. A total of 50 egg samples were purchased from 3 municipal markets and 2 local producers. The samples were tested for residues of antimicrobial substances, using the microbial inhibition method (agar diffusion), applying the European Union four-plate technique (EU4pt). Antimicrobial residues were detected in all whole egg samples and egg white matrices (50/50; 100%), with a relatively lower positivity rate in egg yolks (50/38 76%). It was possible to determine the mean values and the respective standard deviation of the inhibition halos in the positive samples, which range from 3.3 ± 5.0 and 14.3 ± 1.7 , 13 ± 1.9 and 21.1 ± 0.5 , 2.3 ± 4.6 and 13.6 ± 1.6 mm in the whole egg, in the white and in the yolk of the egg, respectively. All 50 samples presented residues of antimicrobials belonging to the Beta-lactams and Aminoglycosides group, 44 of which were positive for residues of antimicrobials from the Sulfonamides group, while the Macrolides group proved positive in only 39 samples. Eggs sold in the City of Maputo may pose potential chemical risks to the public health of consumers. Therefore, it is necessary to implement measures to monitor and control these residues in food.

Key words: Chicken eggs; Antibiotics; Antimicrobial resistance; Mozambique.

1. INTRODUÇÃO

O ovo infértil da galinha (ovo de consumo) é uma dos produtos agropecuários mais importantes do mundo. Todos os dias, bilhões de pessoas no mundo consome o ovo nas mais diversas formas e, por esta razão, este alimento representa importância económica como fonte de renda e sobrevivência para grande parte da população mundial, além de ser uma fonte vital de nutrientes essenciais como proteínas de excelente valor biológico, vitaminas, minerais e ácidos gordos (ISLAM *et al.*, 2016).

Alguns países como a China, Índia, Japão, México, Rússia, Brasil e Indonésia, têm registado uma crescente produção e consumo de ovos (FAOSTAT, 2011). O aumento do consumo de ovos e a utilização de suas vantagens nutricionais pela população dependem da qualidade do produto oferecido ao consumidor, determinada por um conjunto de características que podem influenciar o seu grau de aceitabilidade no mercado (Welker *et al.*, 2010).

O ovo está dentro dos produtos avícolas que apresentam maior susceptibilidade à contaminação microbiológica, as bactérias, aproveitam o conteúdo altamente nutritivo dos ovos, pois representam substratos ideais para a proliferação microbiana. A contaminação microbiana de ovos tem um impacto significativo na indústria através de perdas económicas e também pode resultar em infecções e doenças (Okorie-Kanue *et al.*, 2016 e El-Kholye *et al.*, 2020).

Com o aumento da população, a demanda por alimento cresce em proporção exponencial, exercendo uma maior pressão na produção de alimentos. Tais exigências levam os produtores a adotarem um sistema de produção intensivo, que maximiza a produção animal em uma pequena área (Fiorentino *et al.*, 2012). No entanto, a produção animal em uma elevada densidade pode acarretar em estresse para os animais, afectando sua imunidade e rompendo o equilíbrio microbiológico do ambiente e do animal. A partir deste desequilíbrio podem surgir doenças infecciosas (Menin *et al.*, 2008 e Rocha, 2010). Dentre estes patógenos, a *Escherichia coli* assume grande importância, por estar associada a infecções primárias e secundárias, bem como ao elevado índice de resistência a antimicrobianos (Souza *et al.*, 2004). Para o combate destas infecções, são empregues os antimicrobianos, com objectivos terapêuticos e profilácticos, assim como o seu uso metafiláctico e como aditivos zotécnicos (promotores de crescimento) (Spinosa e Tárraga, 2014).

Os antimicrobianos são agentes antibacterianos sintéticos, amplamente usados na medicina veterinária para prevenção e tratamento de doenças infecciosas e como suplementação alimentar com vista a promover o crescimento dos animais (Fernandes *et al.*, 2015). Os antimicrobianos são resistentes às altas temperaturas (processo de pasteurização, cozimento e frituras). Desta forma, a longa exposição humana dada pela ingestão contínua de alimentos contendo resíduos de antimicrobianos, pode proporcionar sérios riscos à saúde humana (Martins *et al.*, 2014 e Rang *et*

al., 2016). O desenvolvimento de problemas cardíacos, disfunção hepática e digestiva e reação alérgica, são alguns dos efeitos adversos. Além disso em casos mais graves, os antimicrobianos podem apresentar potencial carcinogénico (Brinkmann 2014).

O tempo de carência pode ser definido como o período após a administração de uma substância farmacologicamente activa, para que a sua concentração em todos os tecidos ou produtos obtidos de animais seja encontrada em quantidade não superior ao limite máximo de resíduos, sendo assim, segura à saúde humana (Rosa, 2016). Não aderir ao tempo de carência no uso de fármacos compromete a integridade do produto alimentício, gerando prejuízos económicos e danos para a saúde pública.

A maior preocupação no uso dos antimicrobianos na produção além da presença de resíduos é o desenvolvimento de resistência antimicrobiana, que é a capacidade de um microorganismo em não ser afectado pelo antimicrobiano. O desenvolvimento de resistência antimicrobiana, ocorre de forma natural e é acelerado pela pressão selectiva exercida pelo uso de antimicrobianos em quantidades acima do recomendado em humanos e animais (Organização mundial pra saúde animal, 2014).

Os ovos podem ser uma fonte potencial de transmissão de microorganismos resistentes aos antimicrobianos, substâncias antimicrobianas como *Penicilin G*, *Sulphadimidine*, *Eritromicina*, *Estreptomocina* são os mais predominantes em ovos do consumo (Braykov *et al.*, 2016 e Nonga *et al.*, 2010).

Em Moçambique, nota-se nos últimos anos a intensificação dos sistemas de produção dos ovos devido as altas demandas pelos ovos do consumo, o que normalmente é caracterizado por adopção de densidades maiores. Numa criação intensiva, é essencial evitar qualquer possibilidade de existências de substâncias antimicrobianas no ovo (Garcês e Martins 2006).

Factores como a fraca cobertura dos serviços de assistência veterinária e a falta de regulação do uso de antimicrobianos na produção animal, podem favorecer o seu uso irracional, constituindo um eminente factor de risco para o surgimento da AMR e ocorrência de resíduos de substâncias antimicrobianos nos produtos avícolas locais.

Apesar de clara e reconhecidas implicações para a saúde pública, da potencial ocorrência de resíduos antimicrobianos em produtos avícolas, em Moçambique escasseiam dados de monitoria destes perigos, particularmente em ovos de consumo. Com isso, a presente pesquisa teve como o objectivo avaliar a presença dos resíduos de substâncias antimicrobianas em ovos de galinha produzidos e comercializados na cidade de Maputo.

2. OBJECTIVOS

2.1. Geral

- Avaliar a ocorrência de resíduos de substâncias antimicrobianas em ovos produzidos e comercializados na cidade de Maputo.

2.2. Específicos

- Detectar a presença de potenciais resíduos de substâncias antimicrobianas nos ovos comercializados;
- Comparar os níveis dos resíduos detectados entre as gemas e claras dos ovos.
- Indicar os grupos de substâncias antimicrobianas potencialmente presentes nos ovos comercializados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Produção mundial de ovos de consumo

Actualmente, países como China, Estados Unidos da América (EUA), a Índia e o México dominam o mercado mundial, como os maiores produtores de ovos. A China foi responsável pela produção de 30 bilhões de dúzias de ovos, em 2017, e de acordo com os dados da FAO, poderá alcançar uma produção de 34,2 bilhões de dúzias, em 2020 (Poultry Trends, 2018). A FAO, em 2014, sugeriu que os países produtores sejam distribuídos em três partes: a primeira representada pela China como responsável por 36% da produção mundial, em seguida, os EUA (7,9%), Índia (6%), México (4%), Brasil (3,5%), Japão (3,3%), Rússia (3,2%), Indonésia (2,3%), Ucrânia (1,5%) e Turquia (1,3%) os quais correspondem a 33% da produção, ficando a terceira parte, 31% da produção mundial, com os outros países do mundo (Portal do Avisite, 2022).

3.2. Produção de ovos de consumo em Africa

No ano de 2019, a produção de ovos de consumo, atingiu um total 3,430,202 bilhões de dúzias. Embora não esteja entre os maiores produtores a nível mundial, a Nigéria é o país que apresentou maior produção seguida da Africa do Sul e Marrocos, tal como ilustra a tabela I (FAO, 2019).

A tabela I: Produção de ovos de consumo em alguns países de África no ano de 2019.

Categoria	País	Milhões de Dúzias	Contribuição (%)
1	Nigéria	640,000	18,65
2	Africa do Sul	564,000	16,44
3	Marrocos	414,000	12,06
4	Egipto	390,357	11,38
5	Argélia	317,787	9,26
6	Tunísia	98,800	2,88
7	Quênia	98,544	2,87
8	Tanzânia	81,450	2,37
9	Líbia	71,847	2,09
10	Sudão	70,000	2,04
11	Outros países	683,417	19,92
Total de Africa		3,430,202	100%

Fonte: Adaptado da FAO, 2019

3.3. Produção de ovos de consumo em Moçambique

Em Moçambique, verificou-se um aumento de produção de ovos de consumo, de 2013 à 2022, saindo de 9 663 987 dúzias para 26 516 467 dúzias (gráfico I), sendo as províncias de Maputo, Manica, e Nampula maiores produtoras (INE, 2020; MADER, 2020).

Gráfico I: Evolução de produção dos ovos de consumo em Moçambique (2013-2022)



Fonte: Adaptado de MADER, 2020

3.4. Panorama actual da avicultura de postura

A indústria avícola se caracteriza pela agregação contínua de novas tecnologias, o que resulta em uma actividade com os mais destacados índices de produtividade entre os diversos segmentos da pecuária. O melhoramento genético das galinhas poedeiras, obtido por gerações de cruzamentos industriais, resultou em aves com produção de até 320 ovos no seu primeiro ciclo de postura de um ano (Zaheer, 2015). Além disso, a galinha de postura moderna consegue transformar recursos alimentares de menor valor biológico em produto de alta qualidade nutricional para consumo humano. Essa eficiente transformação depende de factores biológicos relacionados à fisiologia da ave, aliados a conhecimentos sobre o aporte nutricional necessário, manejo e ambiente adequados de criação. Nesse sentido, a utilização de agentes quimioterápicos trouxe uma enorme contribuição ao sector, sendo, por muitas vezes, imprescindíveis para uma actividade rentável (Nau *et al.*, 2010).

3.5. Composição nutricional e estrutural do ovo

Nutricionalmente, o ovo é composto por proteínas com baixo teor de gordura, contendo em seus componentes lípidos de maiores concentrações de ácidos gordos insaturados. O ovo contém todos os aminoácidos essenciais e fornece vitaminas e minerais tais como vitamina A, vitamina D, ácido fólico, riboflavina, vitamina B12, colina, ferro, potássio, fósforo e zinco. É constituído maioritariamente por água (51% peso fresco) e proteínas (16% peso fresco), seguido de lípidos

(3,6% peso fresco), minerais (1,7% peso fresco) e carboidratos (0,6% peso fresco), (Huopalahti *et al.*, 2007 e Sarcinelli *et al.*, 2007).

Estruturalmente o ovo é constituído pela casca, gema e clara. A casca constitui de 12% do peso do ovo, sendo composta de 94% de carbonato de cálcio (CaCO₃), 1,4% de carbonato de magnésio (MgCO₃), 3% de glicoproteínas, mucoproteínas, colágeno e mucopolissacarídeos (Ornellas, 2001). É uma barreira natural cálcica e porosa, que protege todo o seu conteúdo interno contra perdas e danos do meio externo, devendo estar limpa, intacta e isenta de cheiros (Aquino, 2016).

A gema, por sua vez, representa aproximadamente 32% do peso do ovo e é constituída basicamente por água (50% peso fresco), lípidos (32% peso fresco), 10 mg de carotenoides/kg de ovo, além de proteínas (17% peso fresco) e carboidratos (1,8% peso fresco) (Gessulli, 1999 e Benites *et al.*, 2005).

A clara representa cerca de 56% do peso do ovo e é constituída principalmente por água (85% peso fresco) e proteínas (10% peso fresco), contendo um baixo teor de gorduras (0,15% peso fresco), e conseqüentemente um baixo valor calórico (Gessulli, 1999., Huopalahti *et al.*, 2007).

3.6. Uso de antimicrobianos na produção de ovos

Os antimicrobianos são usados em aves como agentes terapêuticos, profiláticos, para aumentar o crescimento, produção e eficiência alimentar dos animais que geram produtos para o consumo humano, como carne e ovos (Van den bogaard e Stobberingh, 2000; Teuber, 2001; Ungemach *et al.*, 2006). As razões para o uso de antimicrobianos na medicina veterinária incluem a proteção do bem-estar animal, prevenção da propagação epidémica de doenças infecciosas, melhora da eficácia da produção animal, prevenção da transferência de zoonoses de animais aos seres humanos, segurança dos produtos de origem animal e prevenção de doenças de origem alimentar. Assim, os antimicrobianos são fármacos vitais em medicina veterinária e dificilmente podem ser substituídos se não existirem alternativas viáveis (Ungemach *et al.*, 2006).

Os sistemas de produção animal da actualidade, são capazes de impor uma dinâmica cada vez diferente quanto ao uso de antimicrobianos, o convívio entre animais em espaços restritos, de mesma linhagem, idade, nas mesmas condições nutricionais e de higiene, alimentando-se da mesma ração, bebendo da mesma água e respirando o mesmo ar, possibilita o aparecimento de doenças que não serão restritas a um único indivíduo, mas sim, a toda a população animal. Esta situação impõem ao sector de produção, a necessidade de uso de antimicrobianos em grande escala (Almeida e Palermo-Neto 2005), culminando em graves conseqüências do ponto de vista de manejo, sanidade, mortalidade, rentabilidade do agronegócio e principalmente da qualidade do alimento produzido (Spinosa *et al.*, 2005).

Em África, as galinhas desempenham um papel importante nas condições socioeconómicas, pois muitos povos dependem das galinhas para sua renda e subsistência. No entanto, o uso de antimicrobianos em alguns países africanos permanece não regulamentado, o que pode contribuir para a contaminação de alimentos de origem animal por resíduos antimicrobianos (Van *et al.*, 2020). Estudos foram feitos em relação aos antimicrobianos, conseqüentemente, em alguns países como Moçambique, sabe-se muito pouco sobre o uso de antibióticos na produção de ovos (Ben Mahdi e Ouslimani, 2009; Titouchee *et al.*, 2013 e Layadae *et al.*, 2016).

3.7. Cinética dos resíduos em diferentes tecidos do ovo

A formação do ovo tem processos fisiológicos por isso, a cinética dos resíduos de fármacos na gema e na clara do ovo parecem apresentar várias particularidades, tais como:

- Os resíduos aparecem primeiro na gema, pelo menos quando o fármaco se distribui neste compartimento.
- Os resíduos na clara são o reflexo dos níveis plasmáticos do fármaco e por isso manterão um nível constante durante o tempo que tal acontecer também no plasma.
- Os resíduos na gema reflectem a concentração plasmática do fármaco nos dez dias de crescimento rápido da mesma.
- A concentração do fármaco pode aumentar, manter-se constante ou diminuir dependendo da intensidade e do tempo de exposição ao fármaco em relação ao desenvolvimento da gema.
- Para se obter uma concentração constante de resíduos na gema é necessária uma exposição de cerca de 8-10 dias ao fármaco.
- Dependendo do fármaco, e da sensibilidade do método analítico utilizado, podem detectar-se resíduos desse mesmo fármaco quer na gema, quer na clara, após uma exposição única.
- A depleção do fármaco quer da gema, quer da clara, depende da sua concentração plasmática.
- Um fármaco que é eliminado rapidamente do organismo é eliminado da clara cerca de 2-3 dias após o fim da exposição.
- A eliminação dos fármacos da gema normalmente demora cerca de 10 dias. Assim os fármacos ligados às lipoproteínas transportadoras que foram incorporadas no ovo na fase

rápida de crescimento da gema já foram excretados no ovo entretanto posto (Kan e Petz 2000).

3.8. Monitoria de resíduos de antibióticos em produtos de origem animal

Para proteger a segurança alimentar e a saúde do consumidor, Limites Máximos de Resíduos (LMR) foram estabelecidos pela União Europeia, Codex Alimentarius e pela FAO, tal como ilustra a tabela II para compostos farmacologicamente activos (Acaroz *et al.*, 2020). Na mesma direção, a União Europeia (UE) actualizou os critérios técnicos que devem ser aplicados na triagem e análise confirmatória desses resíduos em alimentos de origem animal, introduzindo também o parâmetro denominado limite mínimo de desempenho exigido (MRPL) (Moga *et al.*, 2020).

Tabela II. Limite máximo de resíduos de antibióticos em ovos conforme estabelecido pela Comissão do Codex Alimentarius.

Antibióticos	LMR (µg/kg)
Clortetraciclina/oxitetraciclina/tetraciclina	4400
Estreptomicina	-
Eritromicina	550
Flumequina	-
Gentamicina	-
Lincomicina	-
Monensina	-
Narasina	-
Neomicina	5500
Colistin	3300
Sarafloxacina	-
Espectinomicina	22000
Espiramicina	-
Sulfadimidina	-
Tilmicosina	-
Tilosina	3300

Se não tiver sido estabelecido nenhum LMR para ovos, a substância não deve ser utilizada em animais produtores de ovos para consumo humano.

Fonte: Adaptado da Comissão do Codex Alimentarius (2021)

Existem dois grupos de métodos para a determinação de resíduos de antibióticos: métodos confirmativos e métodos de triagem. Os métodos confirmativos incluíram imunoensaios, eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e cromatografia líquida (Acaroz *et al.*, 2020). Todos esses métodos são caros e demorados e requerem pessoal e laboratório adequado (Bacanli e Başaran, 2019).

Os métodos de triagem são classificados como ensaios microbiológicos e imunoensaios. Os ensaios microbiológicos são métodos qualitativos ou semiquantitativos, baseados em uma reação específica entre um organismo suscetível (geralmente bactérias) e o antibiótico presente na amostra. Algumas vantagens desses ensaios são sua confiabilidade, custo-benefício e simplicidade (Châfer-Pericàs *et al.*, 2010).

O método mais utilizado para a detecção de resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal é o método de inibição microbiana, o mesmo foi usado na presente pesquisa. Este método não é apenas econômico, mas também capaz de abranger um grande número de antibióticos em uma execução de teste único (Vishnuraj *et al.*, 2016).

3.9. Método de inibição microbiológica em 4 placas (EU4PT)

O Método EU4PT, consiste em três placas de meio de ágar inoculadas com *Bacillus subtilis* de (ATCC 6051) em pH 6, 7,2 e 8, e um *Kocuria rhizophila*, anteriormente conhecido como *Micrococcus luteus* Placa (ATCC 9341) a pH 8 (Pikkemaat 2009; Pikkemaat *et al.*, 2011). A maioria dos testes de inibição microbiológica com difusão em ágar baseia-se na medição do diâmetro do halo de inibição. Nesses testes, as amostras são aplicadas em placas de meio de ágar inoculado com esporos de bactérias tal como a tabela III ilustra. A difusão de uma substância antibacteriana é demonstrada pela formação de zonas de inibição (Chàfer-Pericàs *et al.*, 2010).

Tabela III. Relação de microorganismos-teste, padrões de antibióticos e condições de incubação

Microrganismo (pH)	Suplemento	Incubação	Antimicrobianos
<i>B. subtilis</i> (pH=6.0)	-	30°C – 18-24 h	Penicilinas G
<i>B. subtilis</i> (pH=7.2)	Trimethoprim	30°C – 18-24 h	Sulfadimidine
<i>B. subtilis</i> (pH=8.0)	-	30°C – 18-24 h	Eritromicina
<i>M. luteus</i> (pH=8.0)	-	37°C – 18-24 h	Gentamicina

Fonte: adaptado (Bogaerts e Wolf, 1980)

No entanto, esse método tem algumas desvantagens, como falta de especificidade ao longo do tempo de incubação necessário (Bacanli e Başaran 2019). O EU4pt foi desenvolvido para detecção de resíduos em carnes. Ao contrário de outros testes, o método das quatro placas é baseado na combinação de condições de pH, que conseqüentemente, promovem ou inibem a actividade dos antimicrobianos. O pH do meio afecta a actividade de certas substâncias antimicrobianas. Por exemplo, a actividade de aminopenicilinas e tetraciclina é aumentada em pH ácido, e a actividade de macrólidos, quinolonas e aminoglicosídeos em pH alcalino (Yamada *et al.*, 1981; De Zutter *et al.*, 1985). O EU4pt é um método trabalhoso e por isso maior são as chances de obter resultados falsos positivos, é recomendável que o teste seja acompanhado por um teste alternativo (Nolan *et al.*, 2000).

Neste caso seriam os testes confirmatórios como o caso de testes de imunoensaios, eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e cromatografia líquida-espectrometria de massa tandem (LC-MS/MS) (Acaroz *et al.*, 2020).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de estudo

A cidade de Maputo tem uma área de cerca de 300 Km², administrativamente é dividida em 7 Distritos Municipais, designadamente: Distrito Municipal KaMpfumu, Nihamankulu, KaMaxakeni, KaMavota, KaMubukwana, KaTembe e Distrito Municipal KaNyaka. O presente estudo foi realizado nos distritos KaMpfumu, Nihamankulu e no distrito KaMubukwana.

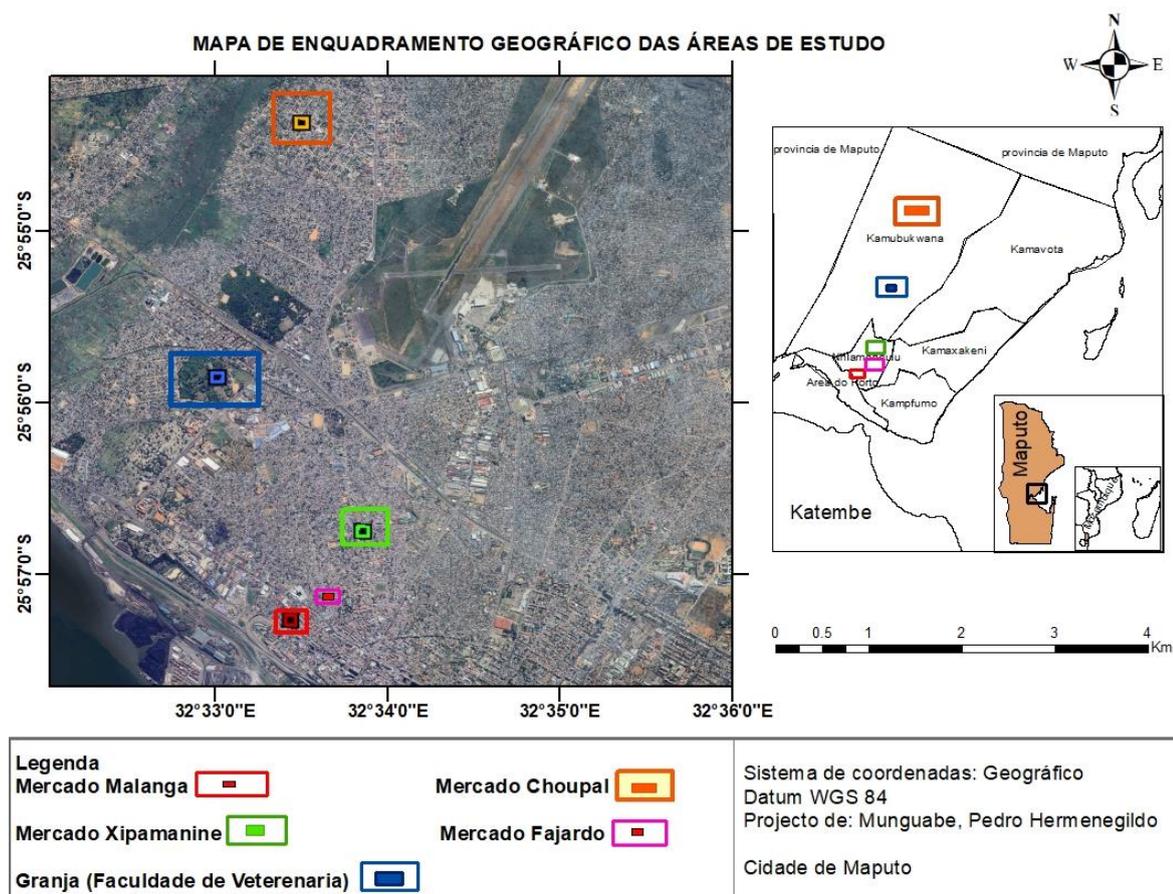


Figura I: Localização geográfica dos pontos de colheita das amostras

Os Mercados Municipais do Fajardo, Malanga e Xipamanine nos Distritos Municipal KaMpfumu Nihamankulu respectivamente, tal como ilustra a figura I. São alguns dos maiores pontos de comercialização de ovos a nível da cidade de Maputo, os mesmos são comercializados a grosso para os revendedores e a retalhos para os consumidores. Alguns dos vendedores entrevistados no âmbito da presente pesquisa alegaram vender em média (240 a 300) dúzia por dia. Os mercados dispõem de uma área de recepção, onde é feita a descarga dos ovos em camionetas vindo da República Sul - africana.

As análises de detenção de resíduos de substâncias antimicrobianas nos ovos foram feitas no Laboratório de Higiene e Tecnologia de Alimentos (LHTA), localizado na Faculdade de Veterinária da Universidade Eduardo Mondlane, na Avenida de Moçambique, Km 1.5, Bairro Luís Cabral, cidade de Maputo.

4.2. Amostragem e colheita de amostras

Para a realização desta pesquisa as amostras foram colhidas nos mercados Municipais do Fajardo no distrito municipal KaMpfumo, Malanga e Xipamanine distrito municipal Nihamankulu e directamente de alguns produtores localizados no distrito municipal KaMubukwana. Os mesmos foram seleccionados por amostragem não probabilística (por conveniência), tendo em conta que estes mercados dispõem de maior fluxo de comercialização de ovos. Os produtores foram seleccionados com base ao número de ovos por eles produzidos cerca de (100 a 300) ovos equivalente a um intervalo de (8 a 25) dúzias por dia.

A colheita de amostras foi feita durante um período de 15 dias, durante o mês de julho de 2023. Um total de 50 amostras foram adquiridas nos diferentes pontos de amostragem (mercados municipais do Fajardo, Malanga, Xipamanine, no produtor independente 1 e no produtor independente 2). Usando um formato de amostragem aleatória simples, cada amostra foi constituída por dois ovos (amostras agregativas). Nos mercados as amostras foram adquiridas da seguinte forma: Colhia – se uma amostra em um ponto comercial e negligenciava-se os próximos dois pontos comerciais, fazendo a colheita no próximo ponto. Nos produtores, retirava-se uma amostra em cada cartão de ovos (30 ovos). Para cada ponto de amostragem, em média 10 amostras foram colhidas e acondicionadas em um plástico estéril. Imediatamente à colheita, as amostras foram codificadas, com indicação do ponto e data da colheita. Estas foram colocadas em uma caixa de papel e foram transportadas ao laboratório, onde foram armazenadas em uma geleira a uma temperatura de conservação (10 a 15 °C) até o dia das análises (24h depois da colheita das amostras).

4.3. Procedimentos laboratoriais

A pesquisa dos resíduos de substâncias antimicrobianas em ovos de consumo comercializados na cidade de Maputo foi feita pelo método de inibição microbiológica (difusão em agar), aplicando a técnica de quatro placas da União Europeia (EU4pt) com algumas modificações tais como:

- Não foi usado o antibiótico suplementar (*trimethoprim*) nas placas contendo o meio pH 7.2;
- A suspensão bacteriana, com uma concentração de células foi estimada em 4/5 colónias isoladas;
- A temperatura de incubação foi de 30°C durante 18 a 24h para todas placas, tanto as

placas contendo os microrganismos *B. subtilis* assim com as placas com *M. luteus*.

4.3.1. Preparação das amostras

No momento das análises, em um ambiente estéril a superfície dos ovos a serem testados, foi limpa com o auxílio do algodão embebido em álcool 70%, uma pinça estéril foi usada para perfurar o ovo na ponta do modo a criar uma pequena abertura. A clara (C) foi então drenada cuidadosamente pela abertura em uma placa de vidro esterilizado, e a gema (G) depositada numa outra placa, depois fez-se a mistura da gema e da clara a fim de ter amostras do ovo inteiro (OI).

4.3.2. Preparação dos meios de Cultura

Conforme as recomendações dos fabricantes de cada meio de cultura, foram preparados os meios de cultura *Nutrient agar*, *Tryptical Soy Broth (TSB)*, Ágar teste pH 6,0 (Himedia), Ágar teste pH 7,2 (Himedia) e o Ágar teste pH 8,0 (Himedia). A preparação consistiu basicamente na dissolução em água destilada (reconstituição) dos meios liofilizados seguido da esterilização em autoclave, a uma temperatura de 121°C durante 15 minutos (Conda; Himedia).

Para os meios *Nutrient agar*, agar de testagem (Himedia) pH 6,0, pH 7,2 e pH 8,0, depois de arrefecidos ($45 \pm 5^\circ\text{C}$) foram assepticamente distribuídos em placas de Petri estéreis, no interior da cabine de segurança de fluxo laminar.

4.3.3. Reactivação das bactérias

1. Para a reactivação das bactérias (*Micrococcus luteus* e *Bacillus subtilis*), usou-se as placas já contendo o meio de cultura *Nutrient agar* totalmente solidificado. De seguida colocou-se os microtubos com suspensões bacterianas ultracongeladas a temperatura ambiente até completar a fusão, então foram identificadas as placas de *Nutrient agar* e assepticamente inoculadas as culturas suspensas por estriamento de modo a obter colónias isoladas, por fim as placas foram inoculadas a 37 °C, durante 24 horas.

4.3.4. Preparação de suspensões bacterianas

Em dois tubos de ensaio contendo o meio de cultura TSB, foi retirado separadamente, 4/5 colónias isoladas e frescas (24 horas) de cada bactéria (*Micrococcus lateus* e *Bacillus subtilis*), para cada tubo e homogeneizou-se em vortex, obtendo a suspensão com uma concentração de células em torno de 5×10^4 UFC/ml (correspondendo a escala MacFarland de 5 unidades), pronta para ser imediatamente usada nas análises.

4.3.5. Inoculação

Para o processo de inoculação (sementeira), foram identificadas devidamente as placas (código da amostra, bactéria-teste, pH do meio e data da análise). Em seguida, na base da placa, foi traçada a divisão em 4 quadrantes, sendo o primeiro quadrante para clara (C), segundo quadrante para a gema (G), o terceiro quadrante para o ovo inteiro (OI) e o quarto para o disco controle. Usando uma zaragatoa (*swab*), foi inoculado a cultura bacteriana correspondente em cada placa. Depois, com ajuda da ponta de uma pipeta (tip) estéril foram perfurados pequenos poços cilíndricos (cerca de 8mm de diâmetro) no meio de cultura, dos três primeiros quadrantes.

As amostras foram submetidas a quatro condições, a primeira condição contém o meio de cultura pH 6, que melhor detecta resíduos de antimicrobianos do grupo dos Beta lactâmicos, segunda condição com o meio pH7,2 que melhor detecta o grupo das Sulfonamidas, o terceira condição com meio pH 8 contendo os microrganismo *B. subtilis* que melhor detecta resíduos antimicrobiano do grupo dos Aminoglicosídeos, e o meio pH 8 contendo microrganismos *M. luteus* que melhor detecta resíduos de antimicrobianos do grupo dos Macrolídeos.

De seguida, de forma separada depositou-se então nos poços cerca de 100 – 200 µL de fluido de clara, gema, e da junção da clara e da gema do ovo para cada poço. Depois colocou-se sobre o meio de cultura o disco do antibiótico padrão (controle) positivo, nos respectivos quadrantes de cada placa. E por fim fechou-se devidamente as placas cultivadas e foram levadas para a estufa, assentadas pela base (não invertidas), a temperatura de 30 °C durante 18 - 24 horas.

4.3.6. Leitura e interpretação dos resultados

Após pelo menos 18 horas e no máximo 24h de tempo de incubação, procedeu-se com a leitura dos resultados. Usando uma régua milimétrica, mediu-se o diâmetro da zona de inibição do crescimento microbiano a volta da amostra. Um resultado positivo foi indicado por uma orla (halo) de inibição do crescimento microbiano em torno da porção com o fluido do ovo, da respectiva amostra em uma ou mais placas de teste com medições acima de 2 mm de diâmetro dos halos (Heitzman, 1994). Um resultado negativo foi indicado pela ausência de inibição do crescimento ao redor da porção contendo o fluido do ovo. O teste nas quatro placas foi repetido nos casos em que o resultado foi inconclusivo.

4.3.7. Análise estatística

A análise dos dados foi feita com base no programa Microsoft Office Excel (versão 2019), onde foi feita uma análise quantitativa dos mesmos que incluiu o cálculo das médias, desvios-padrão e frequências relativas simples das medições dos halos.

5. RESULTADOS

Foi possível detectar a presença de potenciais resíduos de substâncias antimicrobianas nos ovos comercializados e produzidos na cidade de Maputo. Os dados da tabela IV, representam a ocorrência de resíduos de substâncias antimicrobianas em amostras de ovos analisadas. Os dados de ocorrência são apresentados como proporção percentual (%) de amostras positivas (n) em função do número total das amostras analisadas (N) em cada ponto de proveniência das mesmas.

As amostras das claras e dos ovos inteiros revelaram-se positivas na totalidade (100%), não tendo-se observado mesmo cenário com a frequência de ocorrência nas gemas (76%).

Tabela IV. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos nos ovos produzidos e comercializados na cidade de Maputo

Proveniência	Frequência de amostras positivas: n/N (%)		
	Clara	Gema	Ovo inteiro
Mercado Malanga (N=10)	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)
Mercado Fajardo (N=10)	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)
Mercado Xipamanine (N=10)	10/10 (100)	3/10 (30)	10/10 (100)
Produtor Local 1 (N=10)	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)
Produtor Local 2 (N=10)	10/10 (100)	5/10 (50)	10/10 (100)
Total (N=50)	50/50 (100%)	38/50 (76%)	50/50 (100%)

As tabelas **V**, **VI** e **VII**, abaixo ilustram as Comparação dos halos de inibição nas amostras da clara, gema e do ovo inteiro de diferentes proveniências (media, desvio padrão e o total de amostras positivas por cada condição de testagem).

Comparando as médias e desvio padrão dos halos de inibição nas amostras de claras, nota-se que o Mercado municipal do Xipamanine apresentou maiores e menores médias de halos de inibição (21.1 ± 0.5) e (13 ± 1.9) respectivamente.

Tabela V. Comparação das médias e desvio padrão dos halos de inibição nas amostras da clara dos ovos

Proveniência	Componente	Condições de testagem (meio de cultura)			
		Ph6	Ph7	Ph8bs	Ph8ml
Mercado Malanga	Clara	17.8 ± 2.5	18.2 ± 3.0	20.6 ± 3.5	16.8 ± 2.0
Mercado Fajardo	Clara	17.6 ± 2.0	13.6 ± 2.4	18.7 ± 1.8	17.1 ± 3.5
Mercado Xipamanine	Clara	16.2 ± 1.6	16 ± 4.0	21.1 ± 0.5	13 ± 1.9
Produtor Local 1	Clara	14 ± 1.7	16.9 ± 1.8	16.4 ± 2.5	13.6 ± 2.4
Produtor Local 2	Clara	15.4 ± 1.1	15.7 ± 1.9	18.1 ± 2.2	13.1 ± 1.5
Total n(%)		50(100)	50(100)	50(100)	50(100)

Números de amostras positivas (n), percentagem (%).

Quanto as medias dos halos de inibição nas amostras referente as gemas, notou-se que as médias dos halos de inibição nas amostras das gemas proveniente do Mercado municipal da Malanga e Xipamanine apresentaram maiores e menores médias de halos de inibição e (13.6 ± 1.6) e (2.3 ± 4.6) respectivamente, **(Tabela VI)**.

Tabela VI. Comparação das médias e desvio padrão dos halos de inibição nas amostras da gema dos ovos

Proveniência	Componente	Condições de testagem (meio de cultura)			
		Ph6	Ph7	Ph8bs	Ph8ml
Mercado Malanga	Gema	13.6 ± 1.6	13.2 ± 5.6	12.9 ± 2.2	9.9 ± 3.6
Mercado Fajardo	Gema	12.9 ± 2.8	10.3 ± 4.7	11.6 ± 1.0	6.6 ± 7.2
Mercado Xipamanine	Gema	3.4 ± 5.2	2.4 ± 4.8	2.3 ± 4.6	10.5 ± 0.5
Produtor Local 1	Gema	10.1 ± 3.7	11 ± 4.1	10.5 ± 4.4	9.6 ± 3.3
Produtor Local 2	Gema	4.5 ± 5.5	5.4 ± 5.4	6.7 ± 5.5	10.5 ± 0.5
Total n(%)		36(72)	34(68)	35(70)	27(54)

Comparativamente as médias e desvio padrão dos halos de inibição nas amostras do ovo inteiro, nota-se que o Mercado municipal da Malanga apresentou maiores médias de halos de inibição (14.3 ± 1.7) relativamente ao mercado municipal do Xipamanine que apresentou menor valores da média (3.3 ± 5.0), (**Tabela VII**).

Tabela VII. Comparação das médias e desvio padrão dos halos de inibição nas amostras do ovo inteiro

Proveniência	Componente	Condições de testagem (meio de cultura)			
		Ph6	Ph7	Ph8bs	Ph8ml
Mercado Malanga	Ovo inteiro	14.1 ± 2.5	13.4 ± 5.0	14.3 ± 1.7	12.3 ± 1.4
Mercado Fajardo	Ovo inteiro	11.9 ± 1.8	6.5 ± 1.8	11.6 ± 1.6	9.1 ± 4.6
Mercado Xipamanine	Ovo inteiro	11.5 ± 3.9	12.2 ± 4.6	13.3 ± 4.6	3.3 ± 5.0
Produtor Local 1	Ovo inteiro	12.7 ± 1.3	12.8 ± 1.5	14.2 ± 3.0	11.1 ± 1.0
Produtor Local 2	Ovo inteiro	12.6 ± 1.3	12.2 ± 0.9	13.4 ± 2.4	8.6 ± 4.5
Total n (%)		50 (100)	44 (88)	50 (100)	39 (78)

Do total os ovos provenientes dos produtores apresentam menor percentagem de resíduos antimicrobianos (20.47%), quando comparado aos ovos provenientes dos mercados municipais (22.47%).

Tabela VIII. Avaliação global da presença de resíduos de antimicrobianos potencialmente pertencentes aos diferentes grupos farmacológicos

Pela avaliação global da presença de resíduos de antimicrobianos potencialmente pertencentes aos diferentes grupos farmacológicos a que o teste é mais sensível, nas diferentes condições, é possível verificar, na Tabela VIII, maior positividade para os grupos de sulfonamidas e macrolídeos e menor positividade para de beta-lactâmicos e aminoglicosídeos, **Tabela VIII**.

Componentes	N° Amostras	Amostras positivas			
		Ph 6 Beta-lactâmicos	Ph 7,2 Aminoglicosídeos	Ph 8 Bs Sulfonamidas	Ph 8 MI Macrolídeos
Clara	50	50	50	50	50
Gema	50	36	35	34	27
Ovo inteiro	50	50	50	44	39

6. DISCUSSÃO

Os resultados ora apresentados indicam a presença de actividade antimicrobiana em ovos produzidos e comercializados na cidade de Maputo. Com base nos resultados, acredita-se que os produtores possam estar usando agentes antimicrobianos de forma inapropriada, sendo que os mesmos administram os fármacos sem nenhuma prescrição veterinária. Isto constitui risco para a saúde do consumidor desses ovos, tendo já sido demonstrado que a presença de resíduos de antimicrobianos nos alimentos pode levar a seleção de cepas de bactérias resistentes e resistência cruzada com outras bactérias (Organização Mundial de Saúde, 2014).

Factores propiciantes da circulação de ovos de consumo com resíduos de antimicrobianos já foram reportadas em outros contextos. No trabalho feito em Amsterdão Holanda, por Beovic (2006) sobre o uso de antimicrobianos na produção avícola, verificou que os produtores usam os antimicrobianos em quantidades acima dos recomendados sendo um produto indispensáveis na manutenção da saúde animal, principalmente em animais de produção como por exemplo as galinhas produtoras de ovos em grande escala.

A presença de resíduos antimicrobianos na clara dos ovos encontrada no presente estudo é de 100%, o mesmo resultado foi relatado em estudos conduzidos por Mubito *et al.* (2014), em ovos de consumo comercializados em Dar-es-Salaam na Tanzânia, os autores obtiveram 100% de positividade para resíduos de antimicrobianos na clara do ovo. As gemas dos ovos do presente estudo por sua vez, apresentaram resultados significativos (54-72%), face a presença de resíduos de antimicrobianos. O oposto foi relatado nos estudos conduzidos sobre monitoramento de resíduos de antibióticos em ovos de consumo comercializados na cidade de Tabriz no Irã por Idowu *et al.* (2010) e Hakimzadegan *et al.* (2014). Apesar da semelhança da metodologia usada para a pesquisa de resíduos antimicrobianos, os autores descreveram a presença de apenas 30% de amostras positivas por contaminação antimicrobiano referente a componente da gema, em estudos experimentais.

O ovo no geral é um alimento rico em proteínas e algumas das quais como o caso da avidina, conferem-no uma defesa natural (Barão *et al.*, 2016). Acredita-se que o facto dos componentes das claras conterem proteínas que actuam como antimicrobianos naturais pode causar resultados falso-positivos. Sabe-se que as lisozimas são encontradas em grandes quantidades nas claras em relação as gemas dos ovos, a presença das lisozimas podem ter influenciado na positividade de resíduos antimicrobianos encontrados nas claras dos ovos (Cháfer-Pericás *et al.* 2010; Idowu *et al.*, 2010 e Hakimzadegan *et al.*, 2014).

Por outro lado, o facto dos componentes das claras dos ovos terem apresentado positividade em todas amostras, pode estar ligado com o simples facto dos ovos terem sido testados poucos dias antes da última dosagem do antimicrobiano, uma vez que a maioria dos componentes das claras

são formados 24h antes da postura dos ovos. E o tempo de formação da gema é de aproximadamente 6-8 dias, enquanto a maioria dos componentes da clara do ovo, particularmente o albúmen, são formados e incorporados dentro de 24 horas (Giorgi, 2000; Kan, 2003).

Os autores Kan e Petz, (2000), em estudos feitos sobre resíduos de medicamentos veterinários em ovos de consumo e a sua distribuição entre gema e clara, os autores acreditam que a triagem de resíduos de medicamentos na gema do ovo por métodos microbiológicos é mais apropriada do que na clara do ovo, devido ao seu menor teor de lisozimas e maior persistência de medicamentos.

A presente pesquisa constatou que os beta-lactâmicos e os aminoglicosídeos podem ser os grupos dos antimicrobianos mais utilizados na produção de ovos comercializados na cidade de Maputo. Os mesmos tem uma longa história em todo o mundo para aplicação em aves, tanto para terapia, profilaxia ou às vezes, para promoção do crescimento. Spinosa (2011), afirma que o grupo dos Beta-lactâmicos é um dos mais comuns e de fácil aplicação, podendo ser largamente utilizados no tratamento de infecções respiratórias, e artrites ou como aditivo alimentar. Por outro lado, O grupo dos aminoglicosídeos é utilizado em aves para tratar infecções entéricas e é administrado na ração ou na água (Smith *et al.*, 2007). A popularidade dos beta-lactâmicos e das sulfonamidas decorre da sua disponibilidade a preços acessíveis em diferentes proporções como antimicrobianos monoparental ou em combinações com outros diferentes agentes antimicrobianos. A popularidade dos beta-lactâmicos e dos aminoglicosídeos na indústria de produção de ovos também foi relatada em estudos realizados no município de Morogoro Tanzânia, sobre Avaliação de antimicrobiano e resíduos antimicrobianos em aves de corte e produtoras de ovos (Nonga *et al.*, 2009).

As sulfonamidas e os macrolídeos, embora aparentemente com menor positividade, também fazem parte dos grupos de antimicrobianos residuais detectados nos ovos comercializados na cidade de Maputo. As sulfonamidas são utilizadas em poedeiras para o tratamento e prevenção da coccidiose, que é a doença mais importante que afecta a indústria de produção de ovos em todo o mundo (Donoghue, 2003, Sirdar *et al.*, 2012). Os macrolídeos, são mais frequentemente usado em aves para tratar a artrite por *Staphylococcus aureus*. São consideradas altamente eficazes no tratamento da infecção por *Mycoplasma* em aves produtoras de ovos para restaurar a produção dos ovos (Smith *et al.*, 2007).

Acredita-se que todos os produtores de ovos em grande escala tem conhecimento do período de carência dos antimicrobianos, mas os mesmos não tem observado por receio de perdas de capital. A não adesão aos períodos de abstinência de antimicrobiano é a principal causa de resíduos antimicrobianos em ovos. O mesmo foi relatado pelos autores Nonga *et al.* (2010), que relataram que cerca de 80% dos produtores de ovos tinham conhecimento sobre o período de

abstinência dos antimicrobianos, mas vendiam ovos dentro dos períodos de suspensão após administrar antibióticos.

Uma possível razão para o não cumprimento do intervalo de segurança por parte dos produtores de aves é a falta de conhecimento sobre as implicações para a saúde pública dos resíduos de medicamentos nos ovos. Além disso, alguns produtores consideram que a adesão ao período de segurança é uma questão voluntária e não regulamentar. É portanto, importante que as autoridades reguladoras deixem claro aos produtores que a observação dos períodos de abstinência dos alimentos não deve ser deixada como uma questão voluntária, mas sim, uma questão obrigatória. As mesmas observações foram tidas por Annan-Prah *et al.* (2012), em uma pesquisa sobre o uso de antimicrobianos, abuso e suas implicações para a saúde pública. Os autores afirmaram que os produtores encaram o período de carência como sendo uma questão de escolha.

O uso de antimicrobianos em quantidades acima do recomendado em aves produtoras de ovos é de grande preocupação na segurança alimentar. Com base nos resultados da presente pesquisa, acredita-se que os antimicrobianos utilizados pelos produtores dos ovos não são utilizados conforme a prescrição veterinária ou por pessoal qualificado. Considerando a baixa cobertura dos serviços de assistência veterinária (Mader, 2020). É bem provável que os produtores dos ovos confiem nas prescrições dos vendedores de medicamentos, muitos dos quais não estão necessariamente qualificados para o fazer (Annan-Prah *et al.*, 2012). Outros produtores dependiam da sua própria experiência para a administração de antimicrobianos, embora as formulações de medicamentos disponíveis mudassem de tempos, em tempos. As mesmas observações foram tidas por Nonga *et al.* (2009), que relataram que cerca de 90% dos criadores de aves recebem aconselhamento de vendedores de medicamentos não credenciado para prescrição das respectivas dosagens.

Acredita-se que as rações destinadas as aves para a alimentação animal possam conter pequenas substâncias de antimicrobianos, e assim as aves estão sujeitas a constantes dosagens de medicações enquanto se alimentam. De acordo com Schwarz, *et al.* (2001) e Guardabassi, *et al.* (2010), as aves, assim como os peixes e os suínos recebem a medicação na ração, com o objetivo de reduzir o número de animais doentes ou mortos.

Por outro lado, o uso inapropriado de antimicrobianos em animais em muitos países da África também é um problema de difícil controlo, pois é possível a compra destes medicamentos em farmácias veterinárias sem a prescrição médica. Assim, estima-se que de 40 a 80% do uso de antimicrobianos em animais seja desnecessário ou altamente questionável (Beovic, 2006). Assim como o uso abusivo de antimicrobianos em seres humanos gera resistência nestes indivíduos, abuso em animais gera a resistência nas bactérias dos próprios animais (Singer *et al.*, 2003).

Apesar das características positivas que permitem a utilização da metodologia do EU4pt, para estudar a presença de resíduos de antimicrobiano em matrizes alimentares, particularmente em matrizes de ovos, os métodos microbiológicos não permitem identificar o resíduo de antimicrobiano presente na amostra, identificando a presença de uma família de antimicrobiano. Estudos conduzidos pelos autores Cháfer-Pericás *et al.* (2010) e Gaudin *et al.* (2017) sobre metodologia para triagem de resíduos de antimicrobianos em ovos, confirmaram que os métodos microbiológicos são métodos qualitativos que dão uma resposta negativa, positiva ou duvidosa. Portanto, sua aplicabilidade depende do estudo e do seu objetivo final. Para esta primeira avaliação de resíduos de antimicrobianos em ovos comercializados na cidade de Maputo, o método selecionado é adequado tendo fornecido informações valiosas sobre a presença ou ausência de antimicrobianos em ovos.

7. CONCLUSÃO

Os ovos comercializados na cidade de Maputo, apresentam presença de potenciais resíduos antimicrobianos, podendo ser considerados como um dos alimentos que constituem fonte de perigos químicos, prejudiciais à saúde do consumidor. Relativamente aos níveis dos resíduos detectados, foi possível verificar que a clara apresenta maiores níveis de resíduos de substâncias antimicrobianas comparado a gema de ovo. Os principais grupos de resíduos de antimicrobianos detectados nos ovos foram os Beta-lactâmicos, Sulfonamidas, Aminoglicósidos e Macrolídeos.

8. RECOMENDAÇÕES

Com base nas conclusões da presente pesquisa, recomenda-se:

À comunidade científica

- A quantificação de resíduos usando métodos conclusivos para verificar se estes estão dentro dos limites máximos estabelecidos ou não.

Aos produtores

- Que sejam observadas as Boas práticas Veterinárias durante a administração dos fármacos;
- Que seja rigorosamente observado o período de suspensão dos fármacos nas galinhas destinadas a produção de ovos.

Às entidades fiscalizadoras

- Que sejam feitas análises rotineiras de pesquisas de resíduos em ovos, de modo a assegurar que estas sejam seguras, aptas para o comércio e consumo.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acaroz U, Ince S, Arslan-Acaroz D, Kucukkurt I, Eryavuz A (2020). Determinação do resíduo de canamicina no leite de búfala da Anatólia por LC-MS/MS. *Kafkas University Veteriner Fakultesi Dergisi*:26 (1): p. 97-102.
2. Almeida, R.T; Palermo-Neto, J. (2005). Uso de Antimicrobianos em Avicultura e o Desenvolvimento de Resistência Bacteriana. In: Palermo-Neto; Spinosa; Górnaiak. *Farmacologia Aplicada à Avicultura: Boas Práticas no Manejo de Medicamentos*. 1ª ed. São Paulo. ROCA. p. 161-173.
3. Annan-Prah, A.; Agbemafle, E.; Asare, P. e Akorli, S. (2012). Uso de antibióticos, abuso e seus Implicações para a saúde pública: O papel contributivo das falhas de gestão na indústria avícola em duas zonas agroecológicas no Gana. *Jornal do avanço veterinário*,2 p.199-208.
4. Aquino, D.R. (2016). Embalagem e tempo de armazenamento sobre a qualidade de ovos vermelhos mantidos em refrigerador.
5. Bacanlı M.,Başaran N (2019). Importância dos resíduos de antibióticos em animais comida. *Food and ChemToxi* 125: 462-466.
6. Barão, F. Nau, F. GuéRin-Dubiard, C. Bonnassie, S. Gautier, M.; Andrews, SC; Jan, S. (2016). Clara de ovo contra Salmonella Enteritidis! Um meio áspero encontra um patógeno resiliente. *Microbiol Alimentar.*,53, 82-93.
7. Benites, C. I.; Furtado, P. B. S.; Seibel, N. F. (2005). Características e aspectos nutricionais do ovo. In: Souza-Soares, L. A.; Siewerdt, F. *Aves e ovos*. Pelotas: UFPEL, p. 57-64.
8. Ben-Mahdi M, Ouslimani S (2009). Mise en evidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois. *EJ Sci Res* 36 (3): 357-362.
9. Beovic, B. (2006). The issue of antimicrobial resistance in human medicine. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 112, n. 3, p. 280-287.
10. Bogaerts, R.; Wolf, F. (1980). A standardized method for the detection of residues of antibacterial substances in fresh meat. *Fleischwirtschaft*. 60: p. 672-673.
11. Braykov, NP; Eisenberg, JN; Grossman, M.; Zhang, L.; Vasco, K.; Cevallos, W.; Muñoz, D.; Acevedo, A.; Moser, KA; Marrs, CF (2016). Resistência a antibióticos em amostras animais e ambientais associadas à avicultura de pequena escala no noroeste do Equador. *Mesfera* 1, p. 21-15.

12. BRINKMANN, S. (2014). Leite e modernidade: ideologia e política de alimentação na era vargas. *Historia, ciências, saúde –Manguinhos*, v.21,1, jan. p. 262-280.
13. Cháfer-Pericás, C., Maquieira, A. e Puchades, R. (2010). Métodos de triagem rápidos para detectar resíduos de antibióticos em amostras de alimentos. *Tendências em Química Analítica*, 29 (9), p.1038-1049.
14. Chen J, Ying GG, Deng WJ (2019). Resíduos de antibióticos em alimentos: extração, análise e preocupações com a saúde humana. *J Agric Food Chem* 67: p. 7569-7586.
15. Conda, Columbia Agar Base European Pharmacopoeia, USP ISO-10272; Laboratórios Conda SA; Madrid.
16. De Zutter, Koenen Dierick K, Van Hoof J (1985) Detecção de antimicrobianos resíduos biológicos em animais abatidos, II. Sensibilidade de alguns métodos de detecção a diferentes antibióticos. *Vlaams Diergeneesk Tijdschr* 54: 445-454.
17. Donoghue, DJ (2003).Resíduos de antibióticos em tecidos e ovos de aves: preocupações para a saúde humana? *Ciência avícola*. p. 618-621.
18. El-Kholy, AM, Saadia, H., EL-Shinawy, SH, Seliem, H. e Zeinoh, MMA (2020). Risco potencial de alguns patógenos em ovos de mesa.*Jornal de Pesquisa Médica Veterinária*, 27(1), 52-65. [https:// doi.org/10.21608/jvmr.2020.69694](https://doi.org/10.21608/jvmr.2020.69694)
19. FAO (2019). Produção de ovos por país da africa disponível em: <https://www.pinterest.pt/pin/797981627729442793>. Access 7 Nov. 2023.
20. Faostat. (2011). Corporate Statistical: <<http://faostat.fao.org>> Access: 10 Set. 2013.
21. FERNANDES, F. C. B. et al. (2015). Screening and determination of sulphanamide residues in bovine milk samples using a flow injection system. *Food Chemistry*, v. 166, jan. p. 309-315.
22. Fiorentino, G.; Brossi, L.; Amelong, I.; Campanatti, C. (2012). *As Oito Grandes Tendências de Crescimento Até 2020*, [S.l]: Equipe Editorial Global p. 01-54.
23. Garcês, A. e Martins, I. (2006). *Textos de apoio de avicultura e cunicultura*. UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE. Moçambique.
24. Gaudin, V.; Rault, A.; Hedou, C.; Soumet, C.; Verdon, E. (2017). Estratégias para triagem de resíduos de antibióticos em ovos: Comparação da validação do método microbiológico clássico com um método imunobiossensor.*Adição Alimentar*. *Contam.*34, p.1510 – 1527.
25. Gessulli, O. P. (1999). *Avicultura alternativa: sistema ecologicamente correto que busca o bem*

estar animal e a qualidade do produto. Porto Feliz: OPG Ed., 218p.

26. Giorgi (2000). Determinação de resíduos de tianfenicol em albumina e gema de ovo de galinha. *Jornal de Farmacologia Veterinária e Terapêutica*, 23, 397 - 399.
27. Hakimzadegan, M., Khosroshahi, MK e Nasab, SH (2014). Monitorização de resíduos de antibióticos em ovos de galinha na cidade de Tabriz pela FPT. *Jornal Internacional de Pesquisa Biológica e Biomédica Avançada*, 2, 132-140.
28. Heitzman, RJ (1994). *Veterinary Drug Residues - Residues in food producing animals and their products: Reference Materials and Methods*. 2nd Edition. Blackwell Scientific Publications, Osney Mead, Oxford OX2 OEL.
29. Himidia; Antimicrobial Susceptibility Teste Discs; HiMedia Laboratories, Pvt, Ltd Mumbai India.
30. Huopalahti, R. et al., (2007). *Bioactive Egg Compounds*. Editora Springer, p. 298.
31. Idowu, F., Junaid, K., Paul, A., Gabriel, O., Paul, A., Sati, N., Maryam, M. e Jarlath, U. (2010). Triagem antimicrobiana de ovos comerciais e determinação de resíduo de tetraciclina utilizando dois métodos microbiológicos. *Jornal Internacional de Ciência avícola*, 9, 959-962.
32. ISLAM, A. et al. (2016). Antimicrobial residues in tissues and eggs of laying hens at Chittagong, Bangladesh. *International Journal of One Health*, Wankaner, v. 2, p. 75-80, Dec. DOI: 10.14202/IJOH.2016.75-80.
33. Kan, CA (2003). *Resíduos de medicamentos veterinários em ovos e possíveis explicações para sua distribuição entre clara e gema*. Alemanha: Bergischen University, Tese de Doutorado.
34. Kant, Petz M. (2000). Resíduos de medicamentos veterinários em ovos e sua distribuição entre gema e clara. *Revista de Química Agrícola e Alimentar*. 48: p. 6397-6403.
35. Layada, S., Benouareth DE, Coucke W., Andjelkovic M (2016). Avaliação de resíduos de antibióticos em leite comercial e agrícola recolhido na região de Guelma (Argélia). *Int J Food. Cont.* 3: 19.
36. Mann, K. (2007). The Chicken Egg White Proteome. *Proteômica*, 7, 3558 – 3568.
37. Mann, K. Mann, M. (2011). Análise detalhada do proteoma de clara de ovo de galinha usando um LTQ Orbitrap Velos. *Proteome Sci.*, 9, p. 7.
38. MARTINS, M. T. et al. (2014). A simple, fast and cheap non-SPE Screening method for antibacterial residue analyses in milk and lives using liquid chromatography-tandem mass

spectrometry. *Talanta*, v. 129, nov. p. 374-383.

39. Menin, A.; Reck, C.; Souza, D. D.; Klein, C.; Vaz, E. (2008). Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp, *Ciência Rural*, v.38, n.6, p.687-693.
40. Ministério de Agricultura e Desenvolvimento Rural [MADER]. (2020). Estatística de produção: Evolução de produção de ovos de consumo (2013-2022). (D. e. <https://www.agricultura.gov.mz/pecuaria/producao-animal>, Compilador) Maputo, Moçambique. Obtido em 21 de Junho de 2022.
41. Moga, A. et al., (2020). Poly (ethylene glycol) diacrylate-based solid-phase extraction for determination of sulfonamides in meat samples. *Microchem. J.*, v. 157, n. April, p.104931, set.
42. Mubito, EP, Francis, S., Martin, EK e Joram, JB (2014). Resíduos de sulfonamida em ovos de galinha poedeira comercial em Dar-es-Salaam, Tanzânia. *Jornal Americano de Comunicação de Pesquisa*, 124-132.
43. Nau, F.; GuéRin-Dubiard, C.; Barão, F.; Thapon, J. (2010). *L.Science et Technologie de L'oeuf*, Volume 2: De L'oeuf aux Ovoproduits; Ciências e Técnicas Agroalimentares; Tec&Doc.; Lavoisier: Paris, França.
44. Nolan, M., Dooley, M., Nugent, A., & O'Keeffe, M. (2000). Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos (pp 781–785). *Anais da conferência Euroresidue IV*, Veldhoven.
45. Nonga, H.; Mariki, M.; Karimuribo, E. e Mdegela, R. (2009). Avaliação de antimicrobiano uso e resíduos antimicrobianos em frangos de corte no município de Morogoro, Tanzânia. *Jornal de Nutrição do Paquistão*,8: 203-207.
46. Nonga, H.; Simão, C.; Karimuribo, E.; Mdegela, R (2010). Avaliação do uso e resíduos de antimicrobianos em ovos de galinha comerciais de pequenos criadores de aves no município de Morogoro, Tanzânia. *Zoonoses Saúde Pública*57, p. 339–344.
47. Nonga, H.; Simon, C.; Karimuribo, E. e Mdegela, R. (2010). Avaliação de Antimicrobiano Uso e resíduos em ovos de galinha comerciais de pequenos criadores de aves no município de Morogoro, Tanzânia. *Zoonoses e Saúde Pública*,57: 339-344.
48. Okorie-Kanu, OJE, Ezenduka, V., Okorie-Kanu, CO, Ugwu, LC e Nnamani, UJ (2016). Ocorrência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* patogênica e *Salmonella* spp. no varejo de ovos crus de mesa vendidos para consumo humano no estado de Enugu, na Nigéria. *Mundo Veterinário*, 9(11), 1312-1319. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1312-29>

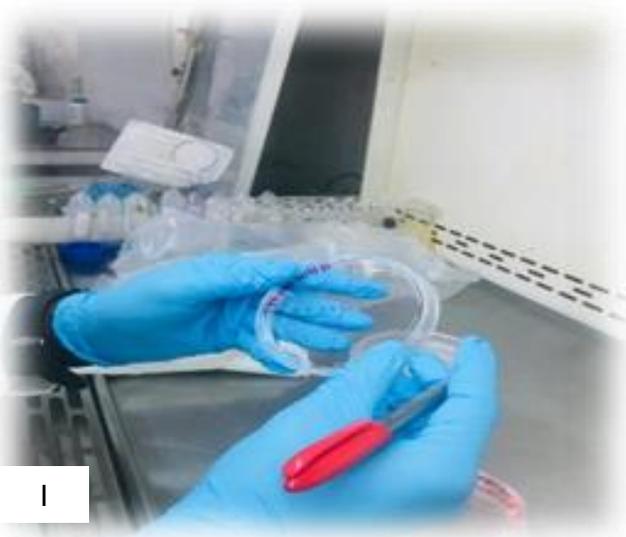
49. Ornellas, L. H. (2001). Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos. 7. Ed., São Paulo: Editora Metha. P. 330.
50. Pikkemaat M.G (2009). Métodos de triagem microbiana para detecção de anResíduos de tibióticos em animais de abate. Anal Bioanal Chem 395: p. 893-905.
51. Pikkemaat M.G, Rapallini MLBA, Zuidema T, Elferink JWA, Oos-tra-Van Dijk S., Driessen-Van Lankveld WDM (2011). Métodos de triagem para a detecção de resíduos de antibióticos em animais de abate: comparação do Teste de Quatro Placas da União Européia, o Teste de Antibióticos Nouws e o Teste Premir (aplicado ao músculo e rim). Food Addit Cont28 (1):26-34.
52. PORTAL DO AVISITE. Maiores produtores mundiais de ovos, Brasil galga uma posição nas projeções para 2031. Campinas: Avisite, ago. 2022. Disponível em: <https://www.avisite.com.br/7o-maior-produtor-mundial-de-ovos-brasil-galga-uma-posicao-nas-projecoes-para-2031/>. Acesso em: 20 dez. 2023.
53. POULTRY TRENDS. The statistical reference for poultry executives. Egg Production. World egg production at nearly 72 million metric tons in 2016. Disponível em: <http://www.poultrytrends.com/201711/index.php#/32> Acesso em novembro de 2023.
54. RANG, H. P. (2016). Farmacologia. 8. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier.
55. Reig M, Toldrà F (2008). Resíduos de medicamentos veterinários na carne: preocupações e métodos rápidos de detecção. Carne Sci78: 60-67.
56. Rocha, T. M. (2010). Fatores de virulência de Escherichia coli patogênica para aves. Tese - Universidade Federal de Goiás, Goiânia. Disponível em. Acesso em: 22 novembro. 2023.
57. ROSA, C. S. (2016). Estimção do período de carência de medicamento veterinário em produtos comestíveis (tecidos) de origem animal por modelos de regressão. 288 p. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
58. Sarcinelli, M. F.; Venturini, K. S.; Silva, L. C. (2007). Característica do Ovo. Boletim Técnico - Universidade Federal do Espírito Santo – ES. 7p.
59. Singer, R. S.; Finch, R.; Wegener, H. C.; Bywater, R.; Walters, J.; Lipsitich, M. (2003). Antibiotic resistance – the interplay between antibiotic use in animals and human beings. Lancet Infectious Diseases, New York, v. 3, n. 1, p. 47-51.

60. Sirdar, MM; Picard, J.; Bisschop, S.; Jambalang, AR e Gummow, B. (2012). Uma pesquisa de resíduos antimicrobianos em ovos de mesa no estado de Cartum, Sudão, 2007 – 2008. *Revista Onderstepoort de Pesquisa Veterinária*,79: 01-09.
61. Smith, JL, Drum, DJV, DAI, Y., Kim, JM, Sanchez, S., Maurer, JJ, Hofacre, CL e Lee, MD (2007). Impacto do uso de antimicrobianos na resistência antimicrobiana em cepas comensais de *Escherichia Coli* colonizando frangos de corte. *Microbiologia Aplicada e Ambiental*, 73: 1404-1414.
62. Souza, A. D.; Souza, A. D.; Astolfi Filho, S.; Belém Pinheiro, M. L.; Sarquis, M. I. D. M.; Pereira, J. O. (2004). Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. *Acta amazônica*, v. 34, n. 2, p. 185- 195.
63. Spinosa HS & Tárraga KM. (2014). Considerações Gerais sobre os Antimicrobianos. In: Spinosa HS et al. *Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. P.409-417.
64. Spinosa, H. S. (2011). Antibióticos que interferem na síntese da parede celular: *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*, 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, P. 442-449.
65. Spinosa, H.S. et al. Antimicrobianos: Considerações gerais. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, S. H.; GÓRNIK, S. L. (2005). *Farmacologia Aplicada à Avicultura*. p. 87- 104, São Paulo.
66. Teuber, M. (2001). Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, New York, v. 4, n. 5, p. 493-499.
67. TitoucheY, Hakem A, Houali K, Yabrir B, Malki O, Chergui A, Chenouf N, Yahiaoui S, Labiad M, Ghenim H, Kechih-Bounar S, Chirilă F, Nadăș G, FișNI (2013). Detecção de resíduos de antibióticos em leite cru produzido na área de Freha (TiziOuzou), Argélia. *Boletim UASVM, Medicina Veterinária*, 70.
68. Ungemach, F. R.; Müller-bahrdt, D.; Abraham. G. (2006). Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine *International Journal of Medical Microbiology*, Stuttgart, v. 296, p. 33-38.
69. Van den bogaard, A. E.; Stobberingh, E. E. (2000). Epidemiology of resistance to antibiotics. Link between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Amsterdam, v. 14, n. 4, p. 327- 335.
70. Van TTH, Yidana Z, Smooker PM, Coloe PJ (2020). Uso de antibióticos em alimentos animais

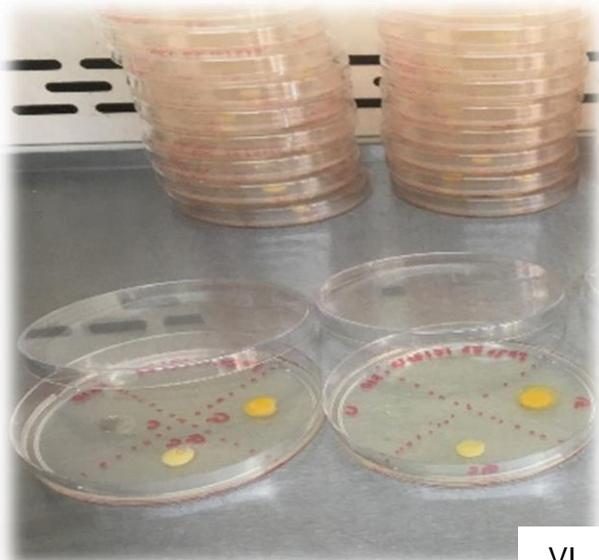
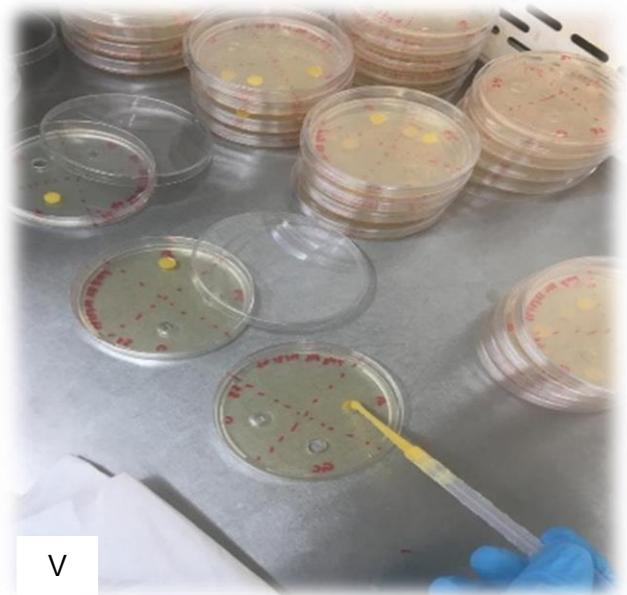
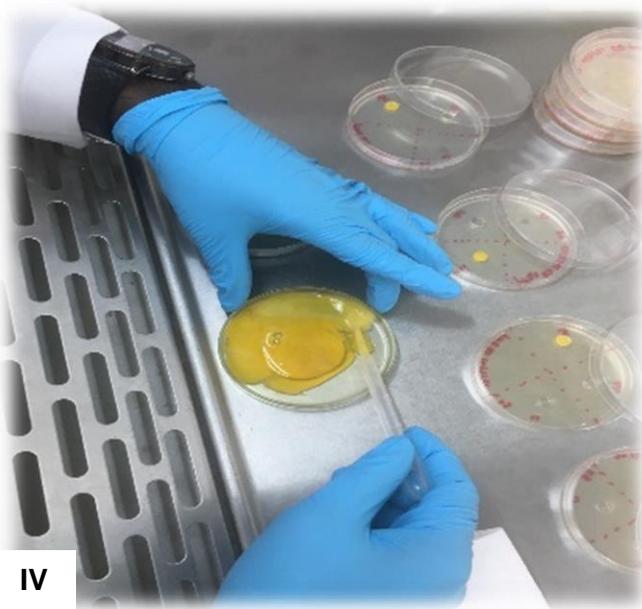
em todo o mundo, com foco na África: prós e contras. *J Glob Antimicrob Resist* 20: 170-177.

71. Vishnuraj MR, Kandeepan G, Rao KH, Chand S, Kumbhar V (2016). O atualidade, riscos à saúde pública e métodos de detecção de resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal: uma revisão de compreensão. *Cogent Food Agri* 2: 1235458.
72. Wang, J.; Wu, J. (2014). Análise Proteômica de Clara de Ovo Fertilizada durante a Incubação Inicial. *EuPA Open Proteomics*, 2, 38-59.
73. Welker C.AD.; Both, JMC, Longaray, S.M. et al. (2010). Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev Bras Bioci.* v. 8, n. 1, p. 44-48.
74. WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: WHO Press; Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642>. Acesso em: 14 jun. 2024.
75. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: WHO Press; 2014. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642>. Acesso em: 25 fev. 2024.
76. Yamada Y, Sasaki J, Matsuzaki T, Shiiki K (1981). Influência do meio e diluentes pH e tempo de difusão em bioensaio de antibiótico». *Tokai J ExpClinMed* 6: 23-33.
77. Zaheer, K. (2015). Uma revisão atualizada sobre ovos de galinha: produção, consumo, aspectos de manejo e benefícios nutricionais para a saúde humana. *Alimentos Nutr. Ciência.* 6, 1208-1220.

10. Anexos



Figuras I, II e III. Respectivamente, ilustram o momento da rotulagem das placas de Petri.



Figuras IV, V e VI ilustram o momento da incorporação das amostras do ovo nas placas de petri contendo os respectivos agar.



VII



VIII



IX

Figuras VII e VIII mostram os halos formados pela inibição do crescimento microbiano em volta dos poços, e a Figura IX ilustra o momento das medições dos halos formados pelas inibições microbianas.