

AFLATOXINAS, OCRATOXINA A E ZEARALENONA: SEGURANÇA E QUALIDADE EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

FERNANDO GALDINO RICCI¹
CINTHIA PERES CAMILO²
LARYSSA FREITAS RIBEIRO³

RESUMO

As micotoxinas são metabólitos secundários de diversas espécies de fungos filamentosos contaminantes de produtos de origem vegetal e animal. Produtos agrícolas servem de base para alimentação de animais de produção e em alguns casos podem estar contaminados com aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona. Uma vez contaminados, os animais e seus produtos (músculo, leite e ovo) constituem-se como um reservatório de micotoxinas e podem infectar os humanos. Em relação à carne, os fungos podem crescer diretamente no produto durante o processamento, quando não observadas as condições de boas práticas de fabricação adequadas. No Brasil, existem regulamentos específicos para limites máximos toleráveis para produtos agrícolas, mas pouco é direcionado aos produtos de origem animal. Este trabalho é uma revisão de literatura em relação às aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona, suas regulamentações no Brasil, e como a gestão de qualidade é importante para diminuir esse risco. Além disso, discutimos a implantação de um sistema APPCC, pois micotoxinas constituem-se de risco químico para o consumo e seus níveis devem ser diminuídos à níveis tolerados.

Palavras-chave: fungo; APPCC, segurança alimentar.

ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites of several species of filamentous fungi that contaminate plant and animal products. Agricultural products serve as a basis for feeding production animals and in some cases may be contaminated with aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone. Once contaminated, animals and their products (muscle, milk and egg) constitute a reservoir of mycotoxins and can intoxicate humans. In relation to meat, fungi can grow directly on the product during processing, when the conditions of adequate good manufacturing practices are not observed. In Brazil, there are specific regulations for maximum tolerable limits for agricultural products, but little is directed to products of animal origin. This work is a literature review regarding aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone, their regulations in Brazil and how quality management is important to reduce this risk. In addition, we discussed the implementation of an HACCP system, as mycotoxins constitute a chemical risk for consumption and their levels must be reduced to tolerated levels.

Keywords: fungi; HACCP; food safety.

-
1. Pós-graduando do Curso de Pós-Graduação em Gestão da Qualidade e Segurança de Alimentos (Ifope Educacional), graduado em Medicina Veterinária (UEL) e mestre em Microbiologia (UEL) (fernandogricci@hotmail.com)
 2. Coorientadora, graduada e pós-graduada em Medicina Veterinária (UEL) e mestre em Clínicas Veterinárias (UEL) (cynthiaperes@hotmail.com)
 3. Professora orientadora, graduada em Medicina Veterinária, mestre e doutora em Medicina Veterinária (Universidade Estadual Paulista - UNESP/Jaboticabal-SP). Professora de Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério - UNIFUCAMP/Monte Carmelo-MG) (laryssaribeiro84@gmail.com)

INTRODUÇÃO

As micotoxinas são um tema de relevância para a segurança alimentar, pois contaminam cerca de 25% de produtos agrícolas alimentícios no mundo (FAO, 2004). E, quando há ocorrência de safras com alta contaminação, precisam ser destruídas ou desviadas para uso em valor inferior, ocasionando em perdas econômicas (DUARTE; LINO; PENA, 2010). Os animais são intoxicados ao ingerirem estes produtos agrícolas, resultando em prejuízos em índices zootécnicos, aumento de mortalidade nos plantéis e contaminação de seus subprodutos (HAQUE *et al.*, 2020).

Atualmente, importantes micotoxinas são aflatoxinas (AFs), ocratoxina A (OTA) e zearalenona (ZEA), pois são responsáveis por produzir danos à saúde animal e humana. Leite (e também seus derivados), carne (fresca e fermentada) e ovos foram identificados como produtos susceptíveis à contaminação por AFs, OTA e ZEA (IQBAL *et al.*, 2014, LINDAHL; KAGERA; GRACE, 2018). Embora o consumo de alimentos contaminados seja importante para a presença de micotoxinas em produtos cárneos, fungos produtores podem contaminá-los diretamente (ASEFA *et al.*, 2011). É importante salientar que o consumo de micotoxinas primeiramente pelos animais pode se constituir de um “filtro” para os humanos, pela metabolização em seu organismo, mas não evitando a presença de metabólitos tóxicos na carne ou leite (BAILLY; GUERRE, 2009).

Tendo consciência dessa complexidade, em relação à regulamentação, até 2003, cerca de 100 países tinham estabelecidos níveis máximos tolerados em produtos agrícolas destinados ao consumo animal e humano (FAO, 2004). E, poucos países no mundo limitam os níveis de micotoxinas em carne e leite e, aqueles que o fazem, normalmente estabelecem apenas para aflatoxinas e ocratoxina A, por possuírem maior toxicidade (BAILLY; GUERRE, 2009). O Brasil, assim como a União Europeia e Estados Unidos, não possui regulamento propondo limites máximos tolerados em produtos cárneos, havendo risco para consumo de resíduos e metabólitos, em alguns casos tóxicos.

Neste trabalho foi elaborada uma revisão de literatura com foco nas AFs, OTA e ZEA, apresentando a regulamentação para limites máximos tolerados no Brasil para produtos animais não cárneos e os fatores de riscos para contaminação. E também se mostrou a implantação de sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para garantir inocuidade de alimentos susceptíveis à contaminação. São envolvidas as boas práticas de produção agrícola, transporte e armazenamento de alimentos destinados ao consumo humano e animal, e análise laboratorial em estabelecimentos industriais.

AFLATOXINAS

Aflatoxinas (AFs) são produzidas por espécies de *Aspergillus*, notadamente *A. flavus* e *A. parasiticus*, mas também por *A. nomiae*, *A. pseudotamarii*, *A. bombycis*, *A. toxicarius*, *A. parvisclerotigenus*, *A. minisclerotigenes*, *A. arachidicola*, *A. pseudonomius* e *A. pseudocaelatus* (VARGA; FRISVAD; SAMSON, 2011). As principais moléculas desse grupo são AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂, sendo AFM₁ e AFM₂ metabólitos de AFB₁ e AFB₂, respectivamente (ISMAIL *et al.*, 2018). Enquanto AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ são responsáveis pela contaminação de produtos agrícolas: milho, amendoim, noz, caroço de algodão e frutas secas, AFM₁ e AFM₂ contaminam leite e urina de animais (COTTY; JAIME-GARCIA, 2007).

Para os animais, são hepatotóxicas, nefrotóxicas, imunossupressoras, carcinogênicas e mutagênicas, e reduzem a produção (leite, ovo e carne). Ademais, apresentam elevada toxicidade, pois induzem ao óbito após exposição aguda severa (ISMAIL *et al.*, 2018). Em produtos cárneos, AFB₁ foi identificada em amostras de produtos processados, (mortadela e linguiça suína), pois esses produtos são produzidos com fígado (órgão-alvo de AFs),

constituindo de maior risco de intoxicação humana em relação ao consumo de carne fresca (PLEADIN *et al.* 2015). Em relação ao leite, AFM₁ foi identificada em amostras de leite de vaca fervido, cru, pasteurizado e UHT (LINDAHL; KAGERA; GRACE, 2018), sendo, portanto, um risco à saúde pública em potencial.

OCRATOXINA A

A ocratoxina A (OTA) é o principal representante no grupo de ocratoxinas devido sua elevada toxicidade, sendo produzida por diversas espécies de *Penicillium* e *Aspergillus*, principalmente por *P. nordicum*, *P. verrucosum*, *A. ochraceus*, *A. niger* var. *niger* e *A. carbonarius*, os principais produtores (LARSEN; SVENDSEN; SMEDSGAARD, 2001, KHATOON; ABIDIN, 2018). A OTA pode contaminar milho, trigo, soja, sorgo, aveia, amendoim, noz, café, frutas secas, uva e subprodutos animais como leite, queijo, ovo e produtos cárneos (DUARTE; LINO; PENA, 2010, MALIR *et al.*, 2016).

Em animais, possui efeitos imunotóxicos, genotóxicos, hepatotóxicos, nefrotóxicos, mutagênicos e possivelmente é carcinogênica (MALIR *et al.*, 2016). Além disso, pode causar diminuição de ganho de peso, postura de ovos e aumento de mortalidade nos plantéis (STOEV *et al.*, 2010). Amostras positivas para OTA foram detectadas em carne de frango de corte e galinha de postura e em ovos provenientes de granjas e galinhas domésticas (IQBAL *et al.*, 2014). A OTA também foi detectada como contaminante de leite de vaca, principalmente leite cru a granel, o qual não sofre processamento antes de ser consumido (BOUDRA *et al.*, 2007). Vale ressaltar que a OTA causa nefropatia endêmica dos Balcãs, uma doença renal associada a tumores em humanos, sendo, importante em saúde pública (STOEV *et al.*, 2010).

ZEARALENONA

Zearalenona (ZEN) é uma micotoxina estrogênica não esteroide produzida por espécies de *Fusarium*, *F. graminearum* e *F. culmorum*. Seu efeito estrogênico ocorre em animais sensíveis, principalmente bovinos, ovinos, suínos e frangos, causando desenvolvimento precoce de mama, alargamento de útero e mama, inchaço de vulva e infertilidade, mas sem mortalidade (RASHEDI *et al.*, 2011). Pode contaminar milho, sorgo, trigo, cevada, centeio e aveia e, assim como AFs e OTA, foi detectada em músculo de frangos de corte e galinhas poedeiras, bem como em ovo de galinhas de granja e domésticas (IQBAL *et al.*, 2014). Além disso, ZEN foi detectada em amostras de urina e carne suína em concentrações significativas (PLEADIN *et al.*, 2015) e, embora ZEN e seus metabólitos possam ser encontrados no leite de algumas espécies, não parece ser uma importante fonte de intoxicação pelos baixos níveis de transmissão pelos animais (PRELUSKY *et al.*, 1990).

REGULAMENTAÇÃO DE MICOTOXINAS NO BRASIL

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe sobre limites máximos tolerados para as micotoxinas pela Resolução da Direção Colegiada (RDC) Nº 7. Esse regulamento se aplica para alimentos de consumo humano e animal, produtos de origem vegetal e animal (leite fluído, leite em pó e queijo), havendo limites para as principais micotoxinas, mas para produtos de origem animal se verifica limites apenas para AFM₁. Esta norma envolve várias etapas: importadores, produtores, distribuidores e comercializadores de bebidas, alimentos e matérias primas (BRASIL, 2011). Na tabela 1, verifica-se limites apenas para AFM₁, ou seja, não há limites máximos tolerados para as outras micotoxinas como AFB₁, AFB₂, AFM₂, OTA e seus metabólitos e ZEA e seus metabólitos em produtos de origem animal.

Tabela 1. Limites máximos tolerados para micotoxinas em produtos de origem animal no Brasil.

Micotoxina	Alimento	LMT (ug/kg)
AFM ₁	Leite fluído	0,5
	Leite em pó	5
	Queijo	2,5

Fonte: BRASIL (2011).

Por outro lado, o Brasil possui o programa de controle de resíduos e contaminantes de carne e leite do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), o qual define limites de referência para ZEN em fígado (bovino, equino, suíno e ave) e AFM₁ em leite (BRASIL, 2010). Porém, também não possui limites de referência para outras micotoxinas relevantes e seus metabólitos tóxicos, como as ocratoxinas A, B e C, tornando susceptíveis em quem consome esses alimentos, a intoxicação (Tabela 2).

Tabela 2. Limites de referência do PNCRC.

Micotoxina	Alimento	Limite de referência (ug/kg)
ZEA	Carne bovina, equina, suína e ave	2
AFM ₁	Leite fluído	0,5

Fonte: BRASIL (2010).

Assim, inexistem no Brasil, bem como nos Estados Unidos e União Europeia, um regulamento específico para produtos cárneos, ocorrendo apenas em países específicos, como Itália, Ucrânia e Sérvia. Nos países sem regulamentação, normalmente são propostos limites de ingestão diária para cada micotoxina, algumas são carcinogênicas, e, portanto, devem ser ingeridas em níveis mais baixos quanto possíveis (BAILLY; GUERRE, 2009).

PREVENÇÃO DE CONTAMINAÇÃO

Para a legislação, no Brasil, devem ser aplicadas as melhores práticas e tecnologias na produção, manipulação, armazenamento, processamento e embalagem, para se evitar a comercialização ou consumo de alimentos contaminados (BRASIL, 2011). Em produtos de origem vegetal, as ferramentas para a prevenção de contaminação fúngica são bem estabelecidas para cada micotoxina específica. Riscos são divididos em pré-colheita, com início de contaminação fúngica e subsequente produção; colheita e pós-colheita, com aumento de produção; e no processamento e alimentação animal, com transferência aos produtos e subprodutos (PARK; NJAPAU; BOUTRIF, 1999).

Em produtos de origem animal, entretanto, os alimentos podem ser contaminados via transmissão pelo animal ou de forma direta pelo crescimento de fungos produtores. A transmissão pelo animal pode ocorrer principalmente em leite cru e ovo, sendo necessário, posteriormente, um processamento para inativação de micotoxinas. Em produtos cárneos fermentados pode ocorrer contaminação fúngica durante os processos de maturação, defumação, secagem, salga ou salmora, e então devem ser verificados temperatura, atividade de água e se há ocorrência de fungos produtores no ambiente e produtos (ASEFA *et al.*, 2011).

Para isto, a identificação e detecção de micotoxinas também é importante e deve ser realizada por análises laboratoriais, sendo comumente utilizadas a cromatografia em camada delgada

(TLC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia gasosa (CG) ou ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009).

Iqbal *et al.* (2014) utilizaram HPLC para detecção de AFs, OTA e ZEA em carne de frango e ovos, resultando em 35% de amostras positivas para carne e 28% para ovo (AFs), 41% para carne e 35% para ovo (OTA) e 52% para carne e 32% para ovo (ZEA). Em ruminantes, a contaminação apresenta menor relevância, devido a degradação parcial no rúmen, Deventer, Pretorius e Schönfeldt (2021) não detectaram presença de micotoxinas (AFs, DON, OTA e ZEN) em músculos de bovinos através de HPLC, na África do Sul. Essas análises são importantes pela amostragem de vários tipos de produtos, como produtos cárneos suínos, bovinos e de frango, pois são importantes fontes de proteína na alimentação humana em todo o mundo. Visto que as micotoxinas citadas são produzidas em diferentes tipos de climas, por espécies diversas, tem ainda mais importância a quantificação dessas moléculas.

ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE (APPCC)

De acordo com a FAO (2001), APPCC é um sistema que identifica, avalia e controla perigos significativos para a segurança alimentar. Se baseia em sistemas de qualidade estabelecidos, como Boas Práticas de Fabricação (BPFs), e na terminologia de sistemas de APPCC, riscos significam condições ou contaminantes capazes de causar danos ou doenças. A aplicação de sistema APPCC no controle de micotoxinas envolve identificar quais micotoxinas são produzidas em determinado produto, tanto animal quanto vegetal.

Conseqüentemente, é importante determinar os níveis de micotoxinas presentes nos produtos que serão processados, com coleta de amostras representativas e aceitação de lotes com níveis abaixo de limites determinados (FAO, 2001).

Para produtos de origem animal, como a carne, as micotoxinas constituem importante risco químico, sendo esse risco minimizado com apresentação de documentos comprovando boas práticas de criação pois os animais receberiam alimentos seguros para micotoxinas (ASEFA *et al.*, 2011). Alguns processos utilizados na produção de carnes ajudam a evitar a contaminação por fungos produtores, como salga, salmora e defumação, pois diminuem a atividade de água e secam o produto (ASEFA *et al.*, 2011).

Por fim, é necessário estabelecer ações corretivas, em produtos agrícolas na fase pré-colheita uso de variedades de culturas de alta resistência, uso de fungicidas e inseticidas, bom preparo do solo, rotação de culturas e controle de ervas daninhas (STOEV *et al.*, 2003). Na fase de colheita e pós-colheita remoção de todo material estranho, utilizar proteção contra a umidade (preferencialmente <10%) e fazer manutenção do produto em temperaturas baixas, se possível. Devem ser monitorados todos os processos durante o processamento do produto, para garantir alta qualidade, com testagem de ingredientes adicionados no produto, para presença de micotoxinas. E, na alimentação animal devem ser monitorados os níveis de micotoxinas presentes na ração destinadas ao consumo (PARK; NJAPAU; BOUTRIF, 1999).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho apresentou importante micotoxinas causadoras de prejuízos econômicos na produção agropecuária e danos à saúde, AFs, OTA e ZEA. Constatou-se, portanto, uma ausência de regulamentos técnicos específicos para níveis máximos tolerados da maioria das micotoxinas em produtos de origem animal (carne, ovo, leite e seus derivados) no Brasil. O foco atual, em geral, é aplicar limites máximos tolerados de micotoxinas aos produtos de origem vegetal, tanto utilizados na alimentação de animais quanto humana. Apesar de o

organismo de animais constituírem-se de filtro para as micotoxinas, pela sua metabolização no organismo, elas podem estar presentes em carne, leite e ovo na forma residual e serem fontes de intoxicação para os seres humanos. Discutiu-se também o sistema APPCC dentro e critérios importantes evitar a contaminação de produtos de origem animal e vegetal com micotoxinas. Conclui-se ser necessário determinar limites máximos de micotoxinas para a indústria de produtos de origem animal, pela presença de níveis residuais de micotoxinas e seus metabólitos, assim como é feito com produtos agrícolas.

REFERÊNCIAS

- ASEFA, D. T., KURE, C. F., GJERDE, R. O., *et al.* A HACCP plan for mycotoxigenic hazards associated with dry-cured meat production processes. **Food Control**, v. 22, n. 6, p. 831-837, 2011.
- BAILLY, J; GUERRE, P. Safety of meat and processed meat. In: TOLDRÁ, F. **Safety of meat and processed meat**. Springer, New York, NY, 2009. p. 83-124.
- BOUDRA, H., BARNOUIN, J., DRAGACCI, S. *et al.* Aflatoxin M1 and ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 7, p. 3197-3201, 2007.
- BRASIL. Instrução Normativa Nº 08, de 29 de abril de 2010. Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes (Bovina, Aves, Suína e Equina), Leite, Mel, Ovos e Pescado. **Diário Oficial da União**: 03/05/2010.
- BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada Nº 07, de 18 de fevereiro de 2011. Regulamento Técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União**: 22/02/2011.
- COTTY, P. J.; JAIME-GARCIA, R. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 1-2, p. 109-115, 2007.
- DEVENTER, M. M.; PRETORIUS, B.; SCHÖNFELDT, H. C. A preliminary study on mycotoxin contamination in red meat from registered abattoirs in South Africa. **Mycotoxin Research**, v. 37, n. 1, p. 105-108, 2021.
- DUARTE, S. C.; LINO, C. M.; PENA, A. Mycotoxin food and feed regulation in the specific case of ochratoxin A: a review of the worldwide status. **Food Additives & Contaminants**, v. 27, n. 10, p. 1440-1450, 2010.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Manual on the application of the HACCP system in mycotoxin prevention and control**. Rome: FAO of the United Nations, 2001.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed 2003**. Rome: FAO of the United Nations, 2004.
- HAQUE, M. A.; WANG, Y.; SHEN, Z. *et al.* Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review. **Microbial Pathogenesis**, v. 142, p. 104095.
- IQBAL, S. Z.; NISAR, S.; ASI, M. R. *et al.* Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs. **Food Control**, v. 43, p. 98-103, 2014.
- ISMAIL, A.; GONÇALVES, B. L.; DE NEEFF, D. V. *et al.* Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination. **Food Research International**, v. n. 113, p. 74-85, 2018.
- KHATOON, A., KHAN, M. Z., ABIDIN, Z. U. *et al.* Effects of feeding bentonite clay upon ochratoxin A-induced immunosuppression in broiler chicks. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 35, n. 3, p. 538-545, 2018.

- LARSEN, T. O.; SVENDSEN, A.; SMEDSGAARD, J. Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 8, p. 3630, 2001.
- LINDAHL, J. F.; KAGERA, I. N.; GRACE, D. Aflatoxin M 1 levels in different marketed milk products in Nairobi, Kenya. **Mycotoxin Research**, v. 34, n. 4, p. 289-295, 2018.
- MALIR, F.; OSTRY, V.; PFOHL-LESZKOWICZ *et al.* Ochratoxin A: 50 years of research. **Toxins**, v. 8, n. 7, p. 191, 2016.
- PARK, D. L.; NJAPAU, H.; BOUTRIF, E. Minimizing risks posed by mycotoxins utilizing the HACCP concept. **Food Nutrition and Agriculture**, p. 49-54, 1999.
- PLEADIN, J., STAVAR, M. M., VAHCIC, N., *et al.* Survey of aflatoxin B1 and ochratoxin A occurrence in traditional meat products coming from Croatian households and markets. **Food Control**, v. 52, p. 71-77, 2015.
- PRELUSKY, D. B.; SCOTT, P. M.; TRENHOLM, T. L. *et al.* Minimal transmission of zearalenone to milk of dairy cows. **Journal of Environmental Science & Health Part B**, v. 25, n. 1, p. 87-103, 1990.
- RASHEDI, M.; SOHRABI, H. R.; ASHJAAZADEH, M. A. *et al.* Zearalenone contamination in barley, corn, silage and wheat bran. **Toxicology and Industrial Health**, v. 28, n. 9, p. 779-782, 2011.
- STOEV, S. D.; DUTTON, M. F.; NJOBEH, P. B. *et al.* Mycotoxic nephropathy in Bulgarian pigs and chickens: complex aetiology and similarity to Balkan Endemic Nephropathy. **Food Additives and Contaminants**, v. 27, n. 1, p. 72-88, 2010.
- TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 632, n. 2, p. 168-180, 2009.
- VARGA, J., FRISVAD, J. C., SAMSON, R. A. Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. **Studies in Mycology**, v. 69, p. 57-80, 2011.