

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE
Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal



Dissertação

**DIAGNÓSTICO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS COMO *CARRY-OVER* E
CONTAMINANTES EM LINHAS DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES PARA AVES E SUÍNOS**

André Barbosa da Silva

Araquari, 2018

André Barbosa da Silva

**DIAGNÓSTICO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS COMO *CARRY-OVER* E
CONTAMINANTES EM LINHAS DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES PARA AVES E SUÍNOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

Orientador: Ivan Bianchi

Coorientadores: Heitor Daguer, Jalusa Deon Kich e Marcos Back

Araquari, 2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

SS586d Silva, Andre Barbosa da
d Diagnóstico de medicamentos veterinários como
carry-over e contaminantes em linhas de produção de
rações para aves e suínos / Andre Barbosa da Silva;
orientador Ivan Bianchi; coorientadora Jalusa Deon
Kich; coorientador Heitor Daguer; coorientador
Marcos Back. -- Araquari, 2018.
53 f.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Araquari, Mestrado Profissional
em Educação Profissional e Tecnológica, Araquari,
2018.

1. Saúde única. 2. Promotores de crescimento. 3.
Contaminação cruzada. 4. Segurança dos alimentos. 5.
Rações medicadas. I. Bianchi, Ivan, II. Kich, Jalusa
Deon. III. Daguer, Heitor. IV. Back, Marcos. V.
Instituto Federal Catarinense. Mestrado
Profissional em Educação Profissional e Tecnológica.
VI. Título.

André Barbosa da Silva

Diagnóstico de medicamentos veterinários como *carry-over* e contaminantes em linhas de produção de rações para aves e suínos

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação Produção e Sanidade Animal, Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 10/05/2018

Banca examinadora:

Prof. Dr. Ivan Bianchi (Orientador)

Doutor em Biotecnologia Agrícola pela Universidade Federal de Pelotas

Dr. Heitor Daguer

Doutor em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr^a. Jalusa Deon Kich

Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

À minha esposa, Claudia Roberta, pelo companheirismo e amizade.

Aos meus filhos por compreenderem minha ausência.

Aos meus pais pela construção dos meus alicerces.

Agradecimentos

À Kalinka Francoise da Silva, Maurício Riffel, Odair Pavan, Roberta Sampaio, Edson Balbinot, Fabiane Pires, Juliano Zerbinatti, Tatiane Alvieiro, Suanny Francieli Ribeiro, Mariza Raaber, Cláudio Spagnollo, Thiago Theodoro Rodio, Evandro José Pandolfo, Patrícia Ferrari, Liliane Rudnik, Sindia Dall'acqua, Amarildo Moacir Fiorentin, Katia Joana Torteli, Daniel Mathias Simon, Tatiane Solivo, André Luiz Pagliarini, Jonas Rafael Arnemann Wagner, Marcos Antonio Schutz de Moura, Sílvio Orlei Viebrantz, Andressa Pohlmann, Emanuela Valer, Ronivan Ebelhart, Glaucio C. Surdi, Vanderlei Bison, André Calderam, Valmor Rodguero, Maria Stefania Dias, Juliano André Roman, Alexandre Miguel de Souza, Josmar Olver, Neventon Santi Vieira, Heverton Michael Biazzi, Mônica S. Pelizzari, Yuso Henrique Tutida, Daniela Bampi, Carla Mário de Souza, Flávia Biondi, Lucas Novello, Leomar Raimundo Zanon, Anderson Antunes da Silva, Juliana de Camargo Zimmermann, Maristela Farinella, Marcelo Tadeu Thomaz de Moraes, Simaqueila Alves dos Santos, Fábio Grigolo, Fábio Bevilaqua, Ana Elisa Maccarini, Marcos Antonio Vezaro, Alcione Cella, Marcelo Scussel, Ricardo Andolfato, Giovanni Nery, Arielson da Luz de Lima e Talma Lucia Giuliatti, que gentilmente forneceram as amostras que compuseram o presente estudo.

Aos dirigentes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em especial nos nomes dos senhores Renato Gerszevski, Fernando Luiz Freiburger, Janaína Gonçalves Garçone, Luis Eduardo Pacifici Rangel e Eumar Roberto Novacki, que viram a importância deste trabalho para a agropecuária e permitiram que eu realizasse este mestrado concomitantemente com meu trabalho.

Aos colegas Diomar José de Matos, Erion Dias Ribeiro, Maria Juseli Gonçalves Ribeiro e Silvia Camargos Quintela Mendes que me acompanharam durante as fiscalizações e colheitas de amostras. Aos colegas André Luiz Machado Cardoso e Marcelo Sêmola pela ajuda com a conclusão do trabalho.

Ao Heitor Daguer, Luciano Molognoni e Leandro Antunes de Sá Ploêncio que disponibilizaram o seu tempo e o laboratório para a realização das análises.

À Maila Palmeira e a Vanessa Peripolli que contribuíram para as pesquisas, revisão e formatação desta dissertação.

Ao meu tio, Marcos Back, pelo apoio incondicional na realização das análises estatísticas e à minha mãe, Mônica Back pela dedicação com que fez a tradução.

Em especial ao meu orientador, Ivan Bianchi, pela dedicação e paciência com que me guiou durante esta jornada.

Num tempo de engano universal, dizer a verdade é um ato revolucionário.

(George Orwell)

Resumo

da SILVA, André Barbosa. **Diagnóstico de medicamentos veterinários como *carry-over* e contaminantes em linhas de produção de rações para aves e suínos**. 2018. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2018.

Objetivando o aumento da produtividade o atual modelo de produção de suínos e aves tem se valido do aumento da lotação animal e diminuição do intervalo de vazio sanitário entre os lotes. Esse cenário aumenta a pressão de infecção e o risco de doenças nos animais. Para combater esse problema tem-se feito uso rotineiro de medicamentos veterinários, aumentando a possibilidade da ocorrência de resíduos nos produtos de origem animal e a resistência aos antimicrobianos. O objetivo deste trabalho foi diagnosticar o *carry-over* e os contaminantes de medicamentos veterinários incluídos nas linhas de produção de rações de aves e suínos. Foram colhidas amostras em 25 linhas de produção de 21 estabelecimentos autorizados a produzirem rações medicadas. Foram coletadas amostras de rações medicadas e rações fabricadas imediatamente na sequência para análise quantitativa simultânea de 62 princípios ativos. As amostras foram coletadas no último ponto compartilhado das linhas de produção. Para análise utilizou-se cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, empregando-se metodologia analítica desenvolvida e validada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nas rações medicadas, 80,4% apresentaram concentração dos princípios ativos divergentes das dosagens prescritas. Em 70% das rações havia heterogeneidade na mistura dos princípios ativos. Nas rações subsequentes, o *carry-over* foi superior a 1% da dose encontrada em 63% dos casos, com decaimento da concentração do princípio ativo entre as cinco amostras coletadas ($P < 0,05$). Das 25 linhas analisadas, apenas uma não apresentou contaminação com outros princípios ativos. Não foram encontradas correlações entre as propriedades nutricionais das rações e o *carry-over*. O presente estudo demonstrou que o atual modelo de produção permite a ocorrência de resíduos em rações em dosagens capazes de contaminar os produtos de origem animal e selecionar bactérias resistentes aos antimicrobianos.

Palavras-chave: Saúde única; Promotores de crescimento; Segurança dos alimentos, Contaminação cruzada; Rações medicadas.

Abstract

da SILVA, André Barbosa. **Diagnosis of Veterinary drugs as carry-over and contaminants in production lines of poultry and swine feed.** 2018. 51p. Thesis (Masters Degree in Science) – Graduate Program on Animal Production and Health; Research, Graduate Studies and Innovation Department, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2018.

In order to increase productivity, the current model of pigs and poultry production has increased stocking density and reduced downtime between lots. This scenario raises infection pressure and disease risk in animals. To avoid this problem, routine use of drugs has been made, intensifying the possibility of residues in animal products and antimicrobial resistance. The aim of this study was to measure carry-over and contaminants of veterinary drugs included in the production lines of poultry and swine feed. Samples were taken from 25 production lines of 21 plants licensed to manufacture medicated feed. Sample collection of medicated feed was performed and, immediately after, samples of the first manufactured feed were collected for simultaneous quantitative analysis of 62 active ingredients. The samples were collected at the end of the production lines. For analysis, liquid chromatography coupled to mass spectrometry was employed, using analytical methodology developed and validated by Brazilian Department of Agriculture, Livestock and Food Supply (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)). In the medicated feed, 80.4% had a concentration of active ingredients different from the prescribed doses. In 70% of the feeds there was heterogeneity in the mixture of active ingredients. In subsequent feeds, carry-over was greater than 1% of the dose in 63% of the cases, with a decrease of the concentration of the active ingredient among the five collected samples ($P < 0.05$). Of the 25 analyzed lines, only one showed no contamination with other active ingredients. No correlations were found between the nutritional composition of the feed and carry-over. The present study demonstrated that the current production model allows the occurrence of residues in feed in doses that can contaminate animal products and can select antimicrobial resistant bacteria.

Key-words: Cross contamination; Food safety; Growth promoters; Medicated feed; One Health.

Lista de Figuras

Figura 1	<i>Carry-over</i> , expresso em percentagem média da dose encontrada, para amostras de rações animais fabricadas logo após uma ração com medicamento, coletadas em intervalos regulares no carregamento (n=25 diferentes linhas de produção de ração).	37
Figura 2	Número de princípios ativos encontrados como contaminantes em linha de produção de ração para animais.	37
Figura 3	Número de rações contaminadas por princípio ativo em amostras rações para animais coletadas em vinte e cinco linhas de produção.	38
Figura 4	Sala de estocagem de medicamentos de empresa autorizada a fabricar produtos para alimentação animal com medicamentos de uso veterinário.	41
Figura 5	Sala de estocagem de medicamentos de empresa autorizada a fabricar produtos para alimentação animal com medicamentos de uso veterinário.	42

Lista de Tabelas

Tabela 1	Amostras com concentração de princípio ativo de medicamento veterinário na composição das rações animais divergente da dosagem prescrita.	30
Tabela 2	Dose dos princípios ativos em rações animais medicadas em relação à dose prescrita.	31
Tabela 3	Homogeneidade da concentração ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) de medicamentos em linhas de produção de rações para animais em amostras coletadas em intervalos regulares no carregamento.	32
Tabela 4	<i>Carry-over</i> do princípio ativo em linhas de ração animal não medicada subsequente a produção da ração medicada ($\mu\text{g.kg}^{-1}$).	33
Tabela 5	Concentração do <i>carry-over</i> de medicamentos ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) em diferentes linhas de ração animal e para amostras coletadas em intervalos regulares no carregamento.	35
Tabela 6	Concentração de princípios ativos como contaminantes nas linhas de produção.	39

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABA	Abamectina	MBN	Mebendazol
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal	MONE	Monensina
AMP	Amprólio	MOX	Moxidectina
AMX	Amoxicilina	NALID	Ácido nalidíxico
CAP	Cloranfenicol	NARA	Narasina
CBX	Carbadox	NOR	Norfloxacino
CIPRO	Ciprofloxacino	NTF	Nitrofurantoína
CLOP	Clopidol	OTC	Oxitetraciclina
CTC	Clortetraciclina	OXO	Ácido oxolínico
DANO	Danofloxacino	RAC	Ractopamina
DCQ	Decoquinato	RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed
DIIV	Diaveridina	ROBE	Robendina
DICLA	Diclazuril	SALB	Salbutamol
DIFLO	Difloxacino	SALI	Salinomicina
DNC	Nicarbazina	SARA	Sarafloxacino
DOR	Doramectina	SCP	Sulfacloropiridazina
DOXI	Doxiciclina	SDMX	Sulfadimethoxina
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control	SDX	Sulfadoxina
EFSA	European Food Safety Authority	SDZ	Sulfadiazina
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária	SFX	Sulfidoxazol
ENRO	Enrofloxacino	SMA	Sulfametoxazol
EPR	Eprinomectina	SMR	Sulfamerazina
ERT	Eritromicina	SMZ	Sulfametazina

ETB	Etopabato	SND	Senduramicina
FBN	Febendazol	SQX	Sulfaquinoxalina
FDA	Food and Drug Administration	STZ	Sulfatiazol
FF	Florfenicol	TAP	Tianfenicol
FLU	Flumequina	TC	Tetraciclina
FRD	Furaltadona	TIA	Tiamulina
FRZ	Furazolidone	TIL	Tilosina
IVR	Ivermectina	TLM	Tilmicosina
LASA	Lasalocida	TMP	Trimetropim
LNC	Lincomicina	TOL	Toltrazuril
MADU	Mduramicina	WHO	World Health Organization
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento		

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE.....	16
2	2 OBJETIVOS	21
	2.1 Geral.....	21
	2.2 Específicos.....	21
3	DIAGNÓSTICO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS COMO <i>CARRY-OVER</i> E CONTAMINANTES EM LINHAS DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES PARA AVES E SUÍNOS.....	22
	3.1 Introdução.....	23
	3.2 Material e Métodos	24
	3.2.1 Colheita das amostras.....	24
	3.2.2 Análise laboratorial.....	25
	3.2.3 Análises estatísticas	27
	3.3 Resultados.....	27
	3.3.1 Dosagem dos medicamentos nas rações.....	27
	3.3.2 Homogeneidade dos medicamentos nas rações.....	28
	3.3.3 <i>Carry-over</i>	28
	3.3.4 Princípios ativos como contaminantes.....	29
	3.3.5 Correlações entre <i>carry-over</i> e composição nutricional	29
	3.4 Discussão.....	42
	3.5 Conclusão	46
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
5	REFERÊNCIAS	48

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

O aumento na competitividade do agronegócio decorrente da globalização levou à necessidade de crescimento da produtividade na cadeia de proteínas animais, conseqüentemente ocorreu aumento na lotação e diminuição nos períodos de vazio sanitário entre os lotes. Com isso, inevitavelmente ocorreu um aumento na ocorrência de doenças ocasionadas pelo aumento da pressão de infecção nas instalações. Para manter a saúde dos animais e manter ou aumentar a produtividade, o atual modelo brasileiro de produção agropecuária faz uso rotineiro de medicamentos, em especial antimicrobianos e antiparasitários.

Segundo SPINOSA et al. (2014), o uso de antimicrobianos pode ser dividido em terapêutico, quando a administração se dá exclusivamente em animais doentes; metafilático, quando se medica todo o rebanho quando detectada doença em alguns animais; profilático, onde administram-se antimicrobianos no rebanho sadio para prevenir possíveis infecções; e através de aditivos melhoradores de desempenho, que são substâncias antimicrobianas em subdosagem objetivando o controle da microbiota e com isso a melhoria do desempenho zootécnico.

Em escala mundial são utilizadas 27.000 toneladas de antimicrobianos em saúde animal (MENDES et al., 2013) e estima-se que até 2030 o uso será ainda maior, chegando a 106.000 toneladas (BOECKEL et al., 2015).

O uso rotineiro de antimicrobianos na produção animal promove a aceleração do processo de seleção natural de bactérias resistentes, tornando-se crescente ameaça para a saúde, tanto para animais como para humanos (PERSOONS et al., 2010). A resistência ocorre quando a bactéria adquire genes que propiciam inativação enzimática, alteração do alvo celular ou a redução do nível intracelular dos antimicrobianos (SPINOSA et al., 2014).

A aquisição ou transferência de resistência pode ocorrer por mutação do DNA ou, mais frequentemente, por aquisição de material genético. Esta aquisição pode ocorrer através de quatro mecanismos: i) transformação, genes de resistência livres no ambiente e captados pelas bactérias; ii) transdução, transferência de genes de resistência através de vírus; iii) conjugação, quando há a formação de ponte citoplasmática e transferência de

plasmídeos entre duas bactérias; iv) transposons, sequências curtas de DNA que podem ser transferidas entre plasmídeos, entre plasmídeos e cromossomos bacterianos e vice-versa (ANTONIO et al., 2009; SPINOSA et al., 2014).

Os genes responsáveis pela resistência contidos em plasmídeos, normalmente codificam enzimas que inativam os antibióticos ou reduzem a permeabilidade das bactérias. Por outro lado, a resistência conferida por mutações cromossômicas envolve a modificação da bactéria alvo (BAPTISTA, 2013).

Os plasmídios R, de resistência aos antibióticos, transmitem os fatores necessários à resistência e podem passar de uma bactéria a outra. Quando dois ou mais plasmídeos R estão presentes em uma bactéria, ambos podem trocar genes, permitindo resistência a diversos antibióticos.

GIBBONS et al. (2016), testaram 12 antimicrobianos em colônias de *Escherichia coli* isoladas das fezes de suínos em diversas fases de produção. Os princípios ativos que apresentaram maior resistência foram: tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim, estreptomicina e ampicilina. Mais de 38,0% dos isolados demonstraram resistência a mais de um fármaco, enquanto que 23,6% dos isolados foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados.

As chamadas bactérias comensais, como a *Escherichia coli*, podem transferir genes de resistência para outras bactérias encontradas em produtos de origem animal, inclusive para as bactérias existentes no trato gastrointestinal dos seres humanos (DAESELEIRE et al., 2016). Situações como essa, reforçam o alerta para a saúde pública sobre a importância da resistência bacteriana aos antimicrobianos, mesmo para as bactérias consideradas não patogênicas. Em 2107 o European Food Safety Authority (EFSA) e o European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) compilando dados de diversos países da União Europeia, encontraram *Salmonelas* resistentes a sulfonamidas, tetraciclina e ampicilinas em amostras coletadas em humanos acometidos por salmonelose. Estes dados apontam um aumento de 10% na ocorrência de *Salmonella* Typhimurium multirresistentes a diversos antimicrobianos entre os anos de 2014 e 2015.

Muitos dos medicamentos utilizados para animais são também rotineiramente utilizados para humanos, como por exemplo, amoxicilina, ciprofloxacina, norfloxacina, clortetraciclina, bacitracina, sendo que alguns deles são classificados como sendo muito importantes para saúde humana (WHO, 2016). Portanto, a resistência aos antimicrobianos

pode causar grande prejuízo à saúde pública por falhas nos tratamentos e aumento da mortalidade (BURROW & KÄSBOHRER, 2016).

Outro fator importante a ser considerado é a correta homogeneização dos medicamentos nas rações para que todos os animais do rebanho recebam a mesma dose dos princípios ativos. Doses superior ao previsto nos estudos que subsidiaram a concessão do registro do produto farmacêutico podem acarretar em contaminação dos produtos de origem animal. Por outro lado, dosagens baixas podem ser insuficientes para manutenção da saúde dos animais nos tratamentos profiláticos ou para sua cura nos tratamentos terapêuticos, podendo ainda também serem promotores de resistência aos antimicrobianos.

Diante deste cenário, o uso racional de antimicrobianos deve ser considerado na produção de proteína animal, sendo o manejo dos animais de fundamental importância para minimizar o risco de ocorrência de resistência bacteriana.

DUNLOP et al. (1998) e VARGA et al. (2009) constataram que o uso de antimicrobianos através da alimentação animal proporciona maior incidência de bactérias resistentes aos princípios ativos utilizados, quando comparado aos tratamentos via parenteral. No entanto, os produtores optam por incluir o medicamento via ração em decorrência da facilidade de administração ao rebanho, evitando-se também a necessidade de manejar animais para administrações individuais (BORGES, 2010).

Normalmente, as rações medicadas são fabricadas nas mesmas linhas de produtos não medicados. Com isso é inevitável que após a fabricação de rações medicadas, traços do princípio ativo do medicamento sejam encontrados nas rações subsequentes (STOLKER et al., 2013). Essa transferência não intencional do princípio ativo existente em um lote para o próximo é chamada de *carry-over* (BORRÀS et al., 2011).

Mesmo cientes de que o *carry-over* é inevitável, tanto a União Europeia como o governo dos Estados Unidos entendem ser necessária a realização de estudos de análise de risco para determinar o limite máximo de *carry-over* permitido para cada princípio ativo (EUROPEAN COMMISSION, 2014; FDA, 2015).

No Brasil, visando garantir a proteção da saúde humana e animal, do meio ambiente e dos interesses dos consumidores, o governo federal publicou a Instrução Normativa (IN) 65/2006. Nela são previstas as regras para se fabricar produtos para alimentação animal com medicamentos veterinários (MAPA, 2006). Para que uma fábrica de rações seja autorizada a fabricar produtos medicados, há a necessidade de apresentação de estudo de

validação de limpeza de linha ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no qual a empresa deve analisar a concentração de medicamentos em uma ração medicada e na ração feita imediatamente na sequência. Deve ficar assegurado um residual (*carry-over*) nas rações subsequentes à medicada, de no máximo 1% da dose do princípio ativo utilizado (MAPA, 2016).

Além do risco de promoção da resistência aos antimicrobianos, o uso inadequado de produtos de uso veterinário pode causar problema para a saúde dos animais, acúmulo em seus tecidos e, conseqüentemente, ocorrência de resíduos nos produtos de origem animal destinados à alimentação humana. Resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal podem causar alergias e outras doenças (LYNAS et al., 1998)

Frente à visão holística de saúde única, onde há uma grande conectividade entre a saúde dos animais, a saúde da população e o meio ambiente e considerando que o uso incorreto de medicamentos de uso veterinário pode trazer conseqüências desastrosas para a saúde da população, o controle do uso de medicamentos de uso veterinário torna-se ainda mais importante (PONTE, 2017).

Atendendo ao plano de ação global sobre resistência aos antimicrobianos (WHO, 2015), fruto da aliança entre Organização Mundial de Saúde, a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura e a Organização Mundial de Saúde Animal, o MAPA desenvolveu o plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da agropecuária (MAPA, 2018), no qual estão previstos objetivos como promover o uso racional de antimicrobianos e promover o gerenciamento adequado de resíduos de antimicrobianos de uso veterinário, demonstrando a preocupação do governo brasileiro com o tema.

As questões comerciais também são importantes para economia nacional. Em 2016, o Brasil produziu 12,9 milhões de toneladas de carne de frango, das quais 4,3 milhões de toneladas foram exportadas, alçando o país como maior exportador de carne de frango no mundo. Na suinocultura nosso país figura como quarto maior produtor e exportador de carne, com uma produção de 3,7 milhões de toneladas e exportação de 732 mil toneladas (ABPA, 2017; EMBRAPA, 2017).

Diante deste protagonismo mundial, o Brasil recebe com frequência missões estrangeiras objetivando avaliar a capacidade das indústrias e governo de fornecerem garantias sanitárias para os produtos cárneos exportados. Entre os focos destas missões,

rotineiramente está a questão de resíduos de medicamentos. Alguns blocos internacionais apresentam exigências adicionais, como a União Aduaneira e União Europeia que proíbem o uso de ractopamina na alimentação dos suínos.

De acordo com a Relação Anual de Informações Sociais, do Ministério do Trabalho e Emprego, no ano de 2016 a parcela da cadeia produtiva de aves e suínos que compreende a criação, abate e fabricação de rações apresentou um total de 447.178 empregos formais no Brasil, representando 0,97% do total de empregos formais do país no mesmo ano (BRASIL, 2018). Caso fosse considerada toda a cadeia produtiva do setor de produção de aves e suínos e os empregos informais e indiretos, este número representaria percentual ainda maior na geração de empregos.

Considerando a importância da agropecuária para economia nacional, a imposição de barreiras comerciais em decorrência da detecção de problemas no controle do uso de medicamentos de uso veterinário pode trazer péssimas consequências as cadeias produtivas de proteína animal, bem como impactar o produto interno bruto.

Diante deste intrincado contexto, o presente estudo objetiva verificar a situação atual do uso de medicamentos de uso veterinário via alimentação animal e analisando a necessidade de aprimoramento dos sistemas de controle, focados em salvaguardar a saúde da população e dos animais.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Diagnosticar o *carry-over* e os contaminantes de medicamentos veterinários incluídos nas rações medicadas de linhas de produção de rações para aves e suínos.

2.2 Específicos

- Avaliar se as atuais exigências legais para autorização de fabricação de produtos para alimentação animal com medicamentos veterinários são suficientes para garantir níveis aceitáveis de medicamentos em produtos não medicados;
- Comparar a concentração de princípio ativo prescrita pelo médico veterinário com a dosagem encontrada em análise laboratorial;
- Verificar a homogeneidade dos medicamentos veterinários nas rações;
- Correlacionar a formulação da ração com o nível de contaminação residual em rações não medicadas;
- Verificar se há diferenças entre a contaminação residual dentro do mesmo lote de ração não medicada.

3 DIAGNÓSTICO DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS COMO CARRY-OVER E CONTAMINANTES EM LINHAS DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES PARA AVES E SUÍNOS

Artigo a ser submetido para:

Animal Feed Science and Technology (Fator de Impacto 1.755; Qualis CAPES Medicina Veterinária: B1)

<https://www.journals.elsevier.com/animal-feed-science-and-technology>

Autores

André Barbosa da Silva^a, Marcos Back^b, Heitor Daguer^a, Maila Palmeira^c, Leandro Antunes de Sá Ploêncio^a, Luciano Molognoni^a, Vanessa Peripolli^c, Ivan Bianchi^c

^a Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; ^b Engenheiro Agrônomo; ^c Instituto Federal Catarinense, *Campus Araquari*

3.1 Introdução

O aumento da competitividade do setor agropecuário em decorrência da globalização levou à necessidade de aumento da produtividade nos sistemas de produção. Para tanto, a taxa de lotação nas unidades de produção de aves e suínos foi incrementada, ocasionando maior frequência de ocorrência de doenças devido ao aumento da pressão de infecção. Para mitigar este problema, o uso intensivo de medicamentos veterinários, seja de forma preventiva ou terapêutica, tem sido praticado. Diante desta realidade, uma forma frequente de fornecer os medicamentos é através da inclusão nas rações, em decorrência da facilidade de uso massivo aos rebanhos (BORGES, 2010), evitando-se também a necessidade de manejar os animais para administrações individuais.

Normalmente, as rações medicadas são fabricadas nas mesmas linhas de produtos não medicados, sendo inevitável que, após a fabricação de rações medicadas, traços do princípio ativo do medicamento sejam encontrados nas rações subsequentes (STOLKER et al., 2013). Essa transferência não intencional do princípio ativo existente em um lote para a próximo é chamada de *carry-over* (BORRÀS et al., 2011).

Considerando que é praticamente impossível eliminar o *carry-over*, os países têm adotado o princípio “tão baixo quanto razoavelmente possível”. No entanto, a ocorrência de 86 notificações de resíduos de medicamentos veterinários em produtos de origem animal exportados pelo Brasil nos últimos dez anos, através do Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) da União Europeia comprova a importância do monitoramento desta contaminação para saúde humana (EUROPEAN COMMISSION, 2018).

Outra preocupação está no desenvolvimento de resistência antimicrobiana, pois há indícios de que o uso de antimicrobianos em subdosagens via alimentação animal, seja como promotores de crescimento ou como consequência do *carry-over*, selecionaram microrganismos resistentes aos antimicrobianos (WEGENER et al., 1999; LOVE et al., 2011; BREWER et al., 2013; HOLMAN & CHÉNIER, 2013; GULLBERG et al., 2014; HOLMAN & CHÉNIER, 2015).

O *carry-over* é influenciado por diversos fatores, destacando-se a propriedade eletrostática, tamanho das partículas, higroscopia dos medicamentos, infraestrutura e desenho dos equipamentos e a metodologia de limpeza da linha de produção de rações (MCEVOY, 2002; BORRÀS et al., 2011).

Basicamente, as empresas têm optado por utilizar linhas de produção autolimpantes ou a limpeza através de *flush*, ou seja, através da passagem de algum material, geralmente milho moído, pela linha de produção de maneira a fazer o arraste da sobra de medicamento existente e/ou a realização de limpeza manual dos equipamentos.

O objetivo deste trabalho foi diagnosticar o *carry-over* e os contaminantes de medicamentos veterinários incluídos nas rações produzidas em linhas de produção de fábricas de rações para aves e suínos auditadas pelo MAPA.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Colheita das amostras

As amostras para o estudo foram colhidas em 2017, nos estabelecimentos autorizados a fabricar produtos para alimentação animal com medicamentos de uso veterinário no estado de Santa Catarina. Do total de 26 estabelecimentos autorizados, foram colhidas amostras em 25 linhas de produção de 21 estabelecimentos. Três estabelecimentos não estavam fabricando rações medicadas no momento da colheita e outros dois fabricavam apenas premixes medicados. Cada uma das empresas foi identificada com uma letra e cada linha com um número, objetivando manter a confidencialidade das informações.

Estas empresas fabricaram no ano de 2017, 4,7 milhões de toneladas de ração para aves e suínos. Em 2016, foram produzidas em todo o território nacional 54,13 milhões de toneladas de rações para aves e suínos (SINDIRAÇÕES, 2017).

Primeiramente foram coletadas amostras de rações que continham medicamento de uso veterinário, em dosagem prescrita por médicos veterinários, utilizadas para o tratamento clínico dos animais, as quais foram denominadas de rações “medicadas”. Em seguida foi realizada a limpeza da linha de produção, com ou sem a passagem de *flush*, e então coletadas amostras das rações fabricadas na sequência, denominadas de rações “subsequentes”, desde que não tivesse o mesmo princípio ativo da ração anterior, podendo, no entanto, conter outro princípio ativo. Tanto as rações medicadas como as subsequentes podiam conter princípios ativos utilizados como aditivos promotores de crescimento ou anticoccidianos.

As amostras foram coletadas no último ponto compartilhado das linhas de produção, ou seja, no carregamento do caminhão, nas rações comercializadas a granel, ou no momento do ensaque.

Para a amostragem dos produtos a granel, o tempo de carregamento foi dividido em cinco intervalos e nas rações ensacadas, o número total de sacos foi dividido por cinco. Em cada um destes intervalos foram coletadas 500 gramas do produto. As frações de rações medicadas foram homogeneizadas e compuseram uma única amostra. Para as rações subsequentes cada uma das cinco frações compôs uma amostra.

Durante as colheitas foram comparadas as informações contidas na rotulagem com a prescrição veterinária para verificar a correta inclusão dos medicamentos.

As amostras foram mantidas em temperatura ambiente em embalagens plásticas protegidas da luz e da umidade até a realização das análises laboratoriais.

3.2.2 Análise laboratorial

As amostras foram analisadas em duplicata na Seção Laboratorial Avançada em São José, do Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) do MAPA, para quantificação de medicamentos veterinários, respeitando o prazo de validade apresentado na rotulagem das rações.

Para análise utilizou-se o método desenvolvido por VALESE et al. (2017), sensível para quantificar 62 princípios ativos de forma simultânea, a saber: abamectina (ABA), amprolio (AMP), amoxicilina (AMX), carbadox (CBX), ciprofloxacino (CIPRO), clortetraciclina (CTC), danofloxacino (DANO), diaveridina (DIAV), difloxacino (DIFLO), doramectina (DOR), eprinomectina (EPR), erythromycin (ERT), fenbendazol (FBN), florfenicol (FF), ivermectina (IVR), mebendazol (MBN), moxidectina (MOX), nitrofurantoína (NTF), nitrofurazona (NTZ), norfloxacino (NOR), salbutamol (SALB), salinomicina (SALI), sarafloxacino (SARA), senduramicina (SND), sulfacloropiridazina (SCP), sulfadiazina (SDZ), sulfadimethoxina (SDMX), sulfadoxina (SDX), sulfamerazina (SMR), sulfametazina (SMZ), sulfametoxazol (SMA), sulfatiazol (STZ), sulfidoxazol (SFX), tetraciclina (TC), tianfenicol (TAP), Clopidol (CLOP), cloranfenicol (CAP), decoquinato (DCQ), diclazuril (DICLA), doxiciclina (DOXI), enrofloxacino (ENRO), etopabato (ETB), flumequina (FLU), furaltadona (FRD), furazolidone (FRZ), lasalocida (LASA), lincomicina (LNC), maduramicina (MADU), monensina (MONE), nicarbazina (DNC), ácido oxolínico (OXO), oxitetraciclina (OTC), robenidina (ROBE), sulfaquinoxalina (SQX), tilmicosina (TLM), tilosina (TIL), toltrazuril (TOL), trimetropim (TMP), ractopamina (RAC), tiamulina (TIA), narasina (NARA), ácido nalidíxico (NALID).

A instrumentação consistiu do espectrômetro de massas QTrap®5500 (Framingham, EUA) acoplado ao cromatógrafo líquido LC Agilent 1290 (Waldbronn, Alemanha) com bomba binária, degaseificador, amostrador automático e aquecedor de coluna. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna C18Venusil XBP (50 × 2,1 mm; diâmetro de partícula 3,0 µm e 100 Å de tamanho de poro) da Agela Technologies (Wilmington, DE, EUA), com uma coluna de guarda C18 (4,0 mm x 3,0 mm) da Phenomenex (Torrance, CA, EUA). A coluna foi mantida a 30° C. A taxa de fluxo foi de 0,3 mL.min⁻¹ e volume de injeção foi de 5µL para todos os padrões e amostras. A fase móvel foi composta pelo solvente A (água com 0,5 mmol.L⁻¹ de acetato de amônio e 0,05% de ácido acético) e solvente B (metanol com 0,5 mmol.L⁻¹ de acetato de amônio e 0,05% de ácido acético). O gradiente de eluição foi realizado da seguinte forma: 95% A (0–4 min) para equilibrar a coluna, 10% A (4–12 min) e 95% A (12–13 min).

Para a extração, as amostras foram pesadas (2,0 ± 0,1 g) em tubos de polipropileno. Foram adicionados EDTA 150 mmol L⁻¹ (1 mL) e solução de fortificação de padrão interno (60 µL) em cada tubo. Os tubos foram vigorosamente agitados, e posteriormente adicionados 10 mL da solução de extração de acetonitrila: água (90:10, v/v) acidificada com 0,1 % de ácido acético em cada tubo contendo a amostra. Os tubos foram agitados durante 20 minutos a 190 rotações por minuto (rpm) num agitador (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, MA, EUA). Na sequência as amostras foram centrifugadas a 4°C e 4000 rpm por 10 minutos. A fase aquosa foi transferida para outro tubo e mantida a -20°C por uma hora e novamente centrifugada a 4°C e 4000 rpm por 10 minutos. O volume sobrenadante foi transferido para outro tubo de polipropilento de 50 mL e em seguida, todo o solvente foi evaporado até que a secagem da amostra fosse alcançada a 50°C por meio de um fluxo de nitrogênio em um dispositivo concentrador de amostras (Tecnal Equipamentospara Laboratório Ltda., Piracicaba, Brasil). A amostra seca foi ressuspensa em acetonitrila: água 70:30 (0,8 mL) e hexano (0,8 mL) e centrifugado novamente a 4°C por 10 minutos. Finalmente, pipetaram-se 0,6 mL da fase aquosa para frascos e injetaram-se no sistema LC-MS.

Este método está em uso no LANAGRO e foi validado conforme Decisão 657/2002 da Comunidade Europeia (EUROPEAN COMMISSION, 2002), e possui os limites de detecção e quantificação estimados para cada analito.

3.2.3 Análises estatísticas

Foi realizada estatística descritiva e distribuição de frequência dos resultados. A dosagem dos medicamentos prescritos e analisados foi expressa em $\mu\text{g.kg}^{-1}$. As linhas de produção de rações das empresas foram consideradas como unidade isolada, pois não houve necessidade de demais testes de inferência estatística. Cada um dos cinco pontos de coleta das rações subsequentes foi analisado individualmente quanto às concentrações dos princípios ativos. Os resultados para cada linha de produção representam a média da concentração de cada analito em cada um dos cinco pontos de coleta. Para a análise de homogeneidade das amostras medicadas, bem como para análise de *carry-over*, cada um dos cinco pontos de coleta das amostras foi considerado de forma isolada para análise de variância (ANOVA) e posterior comparação de médias pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Para comparações entre dosagem prescrita e dosagem média encontrada, utilizou-se teste T de Gosset (PAGANO & GAUVREAU, 2004). Regressões e correlações foram determinadas pelo método dos mínimos quadrados (SPIEGEL & STEPHENS, 2009).

Todas as análises foram feitas utilizando-se o programa Statistix 10.

3.3 Resultados

3.3.1 Dosagem dos medicamentos nas rações

Nas 25 rações medicadas analisadas foram incluídos intencionalmente (prescritos) 36 medicamentos veterinários. Nas rações subsequentes apenas dez possuíam algum princípio ativo incluído.

Observou-se que em 80,4% dos casos ($P < 0,05$) a dose de medicamento encontrada foi diferente daquela prescrita (Tabela 1). Apenas uma ração apresentou ciprofloxacino em sua composição e os valores encontrados na análise estavam de acordo com a dose prescrita. Na sequência, lincomicina, ivermectina, nicarbazina e amoxicilina foram os princípios ativos que apresentaram maior índice de conformidade, mesmo assim, apenas cerca de metade das rações continham a dose prescrita.

Das 37 amostras com teor de princípio ativo diferente do receitado pelo médico veterinário, somente as duas rações que continham salinomicina em sua composição apresentaram resultados superiores ao recomendado, com concentrações próximas ao dobro, as demais rações apresentaram resultados inferiores ao recomendado (Tabela 2). Nas

linhas C1 e P1, apesar de haver prescrição, não houve a detecção de narasina e ivermectina, respectivamente.

Mesmo considerando que alguns medicamentos tiveram uma representatividade muito baixa como a clortetraciclina (n=1), eles seguiram o indicativo de possuírem dosagem abaixo do prescrito, como os princípios ativos com número maior de amostras, como a amoxicilina e a tiamulina (n=7) (Tabela 2).

3.3.2 Homogeneidade dos medicamentos nas rações

Em oito linhas de fabricação de ração houve a inclusão de dez princípios ativos nas rações subsequentes, permitindo que fosse possível verificar a homogeneidade da mistura dos mesmos (Tabela 3).

Na linha C1 houve a inclusão de nicarbazina e narasina. Enquanto a primeira teve homogeneidade na distribuição, a segunda sequer foi encontrada nos pontos coletados.

Na linha K1, tanto ivermectina como tilmicosina apresentaram diferenças entre as amostras, chegando a aproximadamente $1.000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ e $5.300 \mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivamente. As linhas D1, J1, P1 e U1 apresentaram diferenças entre as amostras coletadas enquanto as linhas E1 e S1 apresentaram homogeneidade. Portanto, dos dez princípios ativos, apenas três foram homogêneos nas cinco amostras coletadas.

Nas amostras heterogêneas não foi possível verificar um padrão, ou seja, as amostras com maiores e menores concentrações dos princípios ativos variavam durante toda a carga, podendo estar em qualquer dos cinco pontos coletados.

As diferenças encontradas entre as amostras com maior e menor inclusão dos princípios ativos nas linhas refletiram em altos coeficientes de variação. No caso da tilosina incluída na linha D1, todas as amostras continham concentrações diferentes, com um coeficiente de variação de 153%.

3.3.3 Carry-over

O *carry-over* médio de seis princípios ativos superaram o limite máximo permitido pela legislação brasileira de 1% da dose recomendada. No entanto, como houve grande diferença entre as doses de medicamentos prescritas pelos médicos veterinários e a dosagem encontrada nas análises laboratorial realizada nas rações medicadas, ao comparar este *carry-over* com as dosagens realmente encontradas destes princípios ativos, verifica-se

que o número de princípios ativos que violaram a norma sobe para 21, ou seja, 63% das rações estariam descumprindo a norma (Tabela 4).

A distribuição dos princípios ativos na ração subsequente foi homogênea em toda a carga em 12 rações, já em 21 rações o *carry-over* foi heterogêneo. Comparando as concentrações máxima e mínima dentro da mesma carga, verificou-se que as maiores diferenças foram nos teores de amoxicilina nas linhas B2 e D1 e de tiamulina, também na linha D1 (Tabela 5).

Ao analisar a percentagem média em relação à dose prescrita, constatou-se que houve decaimento dos princípios ativos entre o início e o final da carga (Figura 1).

3.3.4 Princípios ativos como contaminantes

As análises das amostras, tanto das rações medicadas como das subsequentes, demonstraram a existência de diversos contaminantes. Ou seja, princípios ativos que não tinham sido intencionalmente incluídos, mas que estavam presentes nas rações (Figura 2).

Apenas na empresa F não foi encontrado nenhum contaminante, nem na ração medicada tampouco na subsequente. A ração medicada da linha C2 e as rações subsequentes das linhas A e Z não apresentaram contaminantes. As demais rações apresentaram contaminação com pelo menos um princípio ativo, com a variação de nenhum a quatro contaminantes (Figura 2).

Os princípios ativos que foram encontrados com maior frequência nas rações foram tilosina (n=17), tiamulina (n=14), lasalocida(n=8), florfenicol (n=7), ciprofloxacino (n=6), narasina (n=6) e ractopamina (n=6) (Figura 3).

As maiores contaminações foram encontradas nas linhas Q2, C1 e J, onde foram encontrados 93,2 mg.kg⁻¹ de ciprofloxacino, 19,6 mg.kg⁻¹ de monensina e 19,6 mg.kg⁻¹ de tilmicosina, respectivamente (Tabela 6).

Durante as colheitas foi possível verificar que as empresas utilizam uma vasta gama de medicamentos, com diversos princípios ativos, para a fabricação de produtos para alimentação animal (Figuras 4 e 5).

3.3.5 Correlações entre *carry-over* e composição nutricional

Comparando-se a percentagem média do *carry-over* em relação as dosagens de medicamento encontradas nas análises laboratoriais, com a composição nutricional

informada na rotulagem das rações foram encontradas correlações baixas com proteína bruta (14%), extrato etéreo (6%), matéria mineral (43%), umidade (10%), fibra bruta (40%), cálcio mínimo (13%), cálcio máximo (7%), fósforo (25%), metionina (5%) e lisina (6%).

Tabela 1: Amostras com concentração de princípio ativo de medicamento veterinário na composição das rações animais divergente da dosagem prescrita.

Princípio ativo	Amostras (n)	Concentração de princípio ativo diferente do prescrito	
		Amostras (n)	(%)
Amoxicilina	7	4	57,1
Ciprofloxacino	1	0	0,0
Clortetraciclina	1	1	100,0
Doxiciclina	3	3	100,0
Florfenicol	4	4	100,0
Ivermectina	4	2	50,0
Lincomicina	2	1	50,0
Narasina	2	2	100,0
Nicarbazina	2	1	50,0
Norfloxacino	1	1	100,0
Ractopamina	1	1	100,0
Salinomicina	2	2	100,0
Tiamulina	7	6	85,7
Tilmicosina	5	5	100,0
Tilosina	4	4	100,0
TOTAL	46	37	80,4

Tabela 2: Dose dos princípios ativos em rações animais medicadas em relação à dose prescrita.

Princípio Ativo	Linha	Ração	Dose prescrita ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Dose encontrada ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Diferença (%)
Amoxicilina	B2	Medicada	350.000	263.829	75,4
	F1	Medicada	400.000	56.113	14,0
	K2	Medicada	466.500	304.556	65,3
	O2	Medicada	300.000	38.439	12,8
Clortetraciclina	C1	Medicada	750.000	240.198	32,0
Doxiciclina	U1	Medicada	250.000	4.287	1,7
	V1	Medicada	250.000	117.993	47,2
	Y1	Medicada	270.000	13.732	5,1
Florfenicol	E1	Medicada	60.000	15.276	25,5
	R1	Medicada	120.000	11.765	9,8
	W1	Medicada	60.000	17.019	28,4
	Z1	Medicada	180.000	12.121	6,7
Ivermectina	K1	Subsequente	1.998	607	30,4
	P1	Medicada	1.500	-	0,0
Lincomicina	K1	Medicada	50.160	3.498	7,0
Narasina	C1	Medicada	50.000	-	0,0
	C1	Subsequente	50.000	-	0,0
Nicarbazina	C1	Subsequente	50.000	35.818	71,6
Norfloxacino	I1	Medicada	180.000	13.098	7,3
Ractopamina	E1	Subsequente	15.000	4.170	27,8
Salinomicina	J1	Medicada	66.000	119.755	181,4
	J1	Subsequente	66.000	134.742	204,2
Tiamulina	A1	Medicada	220.000	1.749	0,8
	C2	Medicada	122.000	10.784	8,8
	E1	Medicada	180.000	2.070	1,2
	V1	Medicada	180.000	489	0,3
	X2	Medicada	160.000	10.489	6,6
	Z1	Medicada	180.000	2.035	1,1
Tilmicosina	K1	Subsequente	300.000	4.261	1,4
	O2	Medicada	200.000	18.273	9,1
	P1	Medicada	300.000	120.186	40,1
	Q2	Medicada	300.000	71.080	23,7
	S1	Medicada	80.000	46.092	57,6
Tilosina	D1	Subsequente	44.000	20.191	45,9
	G1	Medicada	100.000	4.825	4,8
	P1	Subsequente	22.000	4.503	20,5
	S1	Subsequente	60.000	1.057	1,8

Tabela 3: Homogeneidade da concentração ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) de medicamentos em linhas de produção de rações para animais em amostras coletadas em intervalos regulares no carregamento.

Linha	Medicamento	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	CV (%)
C1	Nicarbazina	33.499,12	36.818,81	39.932,63	36.481,88	32.356,42	8,34
C1	Narasina	-	-	-	-	-	-
D1	Tilosina	75.518,68 ^a	9.784,78 ^b	8.086,30 ^c	4.867,70 ^d	2.699,73 ^d	153,78
E1	Ractopamina	4.134,23	4.450,31	4.071,77	4.333,21	3.861,43	5,51
J1	Salinomicina	205.751,03 ^a	102.150,83 ^c	141.216,90 ^b	134.799,38 ^b	89.790,72 ^c	33,53
K1	Ivermectina	204,23 ^b	478,61 ^b	686,34 ^{ab}	1.200,55 ^a	463,16 ^b	61,57
K1	Tilmicosina	4.421,38 ^b	3.354,36 ^{bc}	3.847,79 ^{bc}	2.186,31 ^c	7.496,97 ^a	46,63
P1	Tilosina	4.431,63 ^b	3.942,66 ^{bc}	4.211,01 ^c	4.940,95 ^a	4.987,74 ^a	10,12
S1	Tilosina	1.090,46	954,02	1.087,56	1.095,07	1.058,01	5,62
U1	Amoxicilina	214.995,92 ^d	288.521,74 ^b	344.833,55 ^a	268.075,13 ^{bc}	250.713,11 ^c	17,62

^{a, b} Letras diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

CV: Coeficiente de Variação.

Tabela 4: *Carry-over* do princípio ativo em linhas de ração animal não medicada subsequente a produção da ração medicada ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Princípio ativo	Linha	Dose prescrita ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Dose encontrada ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	<i>Carry-over</i> médio ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) *	Percentagem da dose prescrita	Percentagem da dose encontrada
Amoxicilina	B2	350.000	263.828,53	6.208,72	1,77	2,35
	C2	350.000	294.738,74	928,13	0,27	0,31
	D1	350.000	282.623,76	6.777,89	1,94	2,40
	K2	466.500	304.556,29	1.269,03	0,27	0,42
	F1	400.000	56.112,77	2.029,95	0,51	3,62
	O2	300.000	38.438,55	1.384,53	0,46	3,60
Lincomisina	K1	50.160	3.497,91	69,96	0,14	2,00
	J	22.000	19.547,14	363,23	1,65	1,86
Florfenicol	W1	60.000	17.019,14	301,61	0,50	1,77
	R1	120.000	11.765,39	3.997,45	3,33	33,98
	Z1	180.000	12.121,39	269,36	0,15	2,22
	E1	60.000	15.276,09	110,40	0,18	0,72
Tilosina	G1	100.000	4.824,68	115,69	0,12	2,40
Tiamulina	C2	122.000	10.783,85	295,21	0,24	2,74
	D1	152.000	101.191,99	4.192,25	2,76	4,14
	V1	180.000	489,23	108,68	0,06	22,21
	X2	160.000	10.489,48	1.029,23	0,64	9,81

Continua...

...Continuação.

	Z1	180.000	2.035,44	840,12	0,47	41,27
	A1	220.000	1.748,60	477,28	0,22	27,29
	E1	180.000	2.070,21	340,36	0,19	16,44
Ciprofloxacino	Q1	200.000	186.082,70	310,78	0,16	0,17
	S1	80.000	46.091,82	157,72	0,20	0,34
Tilmicosina	P1	300.000	120.186,35	146,54	0,05	0,12
	Q2	300.000	71.080,06	41,50	0,01	0,06
	O2	200.000	18.273,05	1.757,68	0,88	9,62
	P1	1.500	-	-	0,00	0,00
Ivermectina	Q2	2.000	1.245,40	-	0,00	0,00
	I1	2.400	2.637,28	-	0,00	0,00
	V1	250.000	117.992,50	-	0,00	0,00
Doxiciclina	U	250.000	4.286,56	127,33	0,05	2,97
	Y1	270.000	13.731,68	187,19	0,07	1,36
Clortetraciclina	C1	750.000	240.198,17	1.020,38	0,14	0,42
Norfloxacino	I1	180.000	13.097,71	2.655,20	1,48	20,27

* Carry-over médio ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$): Média dos cinco pontos de coleta.

Tabela 5: Concentração do *carry-over* de medicamentos ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) em diferentes linhas de ração animal e para amostras coletadas em intervalos regulares no carregamento.

Princípio ativo	Linha	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
Amoxicilina	B2	12.932,50 ^a	9.607,17 ^b	4.032,90 ^c	2.427,05 ^c	2.043,98 ^c
	C2	1.084,74 ^a	1.096,17 ^a	1.046,18 ^a	1.047,43 ^a	366,11 ^b
	D1	19.478,04 ^a	5.415,65 ^b	2.894,78 ^{BC}	1.871,13 ^c	4.229,86 ^{bc}
	K2	2.802,30 ^a	987,95 ^b	917,54 ^b	598,10 ^b	1.039,27 ^b
	F1	4.968,81 ^a	3.053,76 ^b	1.340,10 ^{BC}	453,01 ^c	334,10 ^c
	O2	2.114,39 ^a	2.179,30 ^a	2.100,50 ^a	300,08 ^b	228,40 ^b
Lincomisina	K1	64,38 ^b	64,24 ^b	64,37 ^b	92,18 ^a	64,61 ^b
	J	1.816,17	-	-	-	-
Florfenicol	W1	839,31 ^a	270,04 ^b	143,13 ^{BC}	197,70 ^{bc}	57,87 ^c
	R1	8.170,98 ^a	4.875,93 ^{ab}	2.590,43 ^b	2.342,63 ^b	2.007,28 ^b
	Z1	411,34 ^a	261,95 ^{ab}	237,33 ^b	220,54 ^b	215,63 ^b
	E1	112,31	111,36	105,49	105,19	117,66
Tilosina	G1	116,11	117,48	114,23	103,04	127,61
Tiamulina	C2	325,99	198,52	485,28	295,70	170,57
	D1	14.754,03	1.628,21	1.783,82	1.131,49	1.663,70
	V1	160,03	118,59	104,76	83,99	76,02

Continua...

...Continuação.

	X2	1.183,24 ^{ab}	1.352,82 ^a	1.231,71 ^{ab}	1.129,13 ^{ab}	249,27 ^b
	Z1	1.116,20 ^a	1.107,96 ^a	783,61 ^b	613,16 ^{bc}	579,70 ^c
	A1	506,14 ^{ab}	288,16 ^{ab}	442,80 ^{ab}	674,61 ^a	474,68 ^{ab}
	E1	538,33	273,28	372,05	254,77	263,39
Ciprofloxacino	Q1	893,04 ^a	530,92 ^b	82,47 ^c	36,03 ^c	11,44 ^c
	S1	164,93	154,22	175,77	167,99	125,68
Tilmicosina	P1	195,72 ^a	195,28 ^a	112,09 ^b	169,21 ^a	60,38 ^b
	Q2	207,51 ^a	- ^b	- ^b	- ^b	- ^b
	O2	2.707,19 ^a	1.814,69 ^b	1.744,56 ^b	1.649,24 ^b	872,72 ^c
	V1	-	-	-	-	-
Doxiciclina	U1	434,12 ^a	132,91 ^b	69,64 ^b	- ^b	- ^b
	Y1	459,33 ^a	124,89 ^b	152,49 ^b	112,68 ^b	86,55 ^b
Clortetraciclina	C1	1.131,49	1.075,46	1.172,21	933,82	788,93
Norfloxacino	I1	4.161,05 ^a	4.317,03 ^a	2.053,96 ^b	1.592,66 ^b	1.151,33 ^b

^{a, b} Letras diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey (P<0,05).

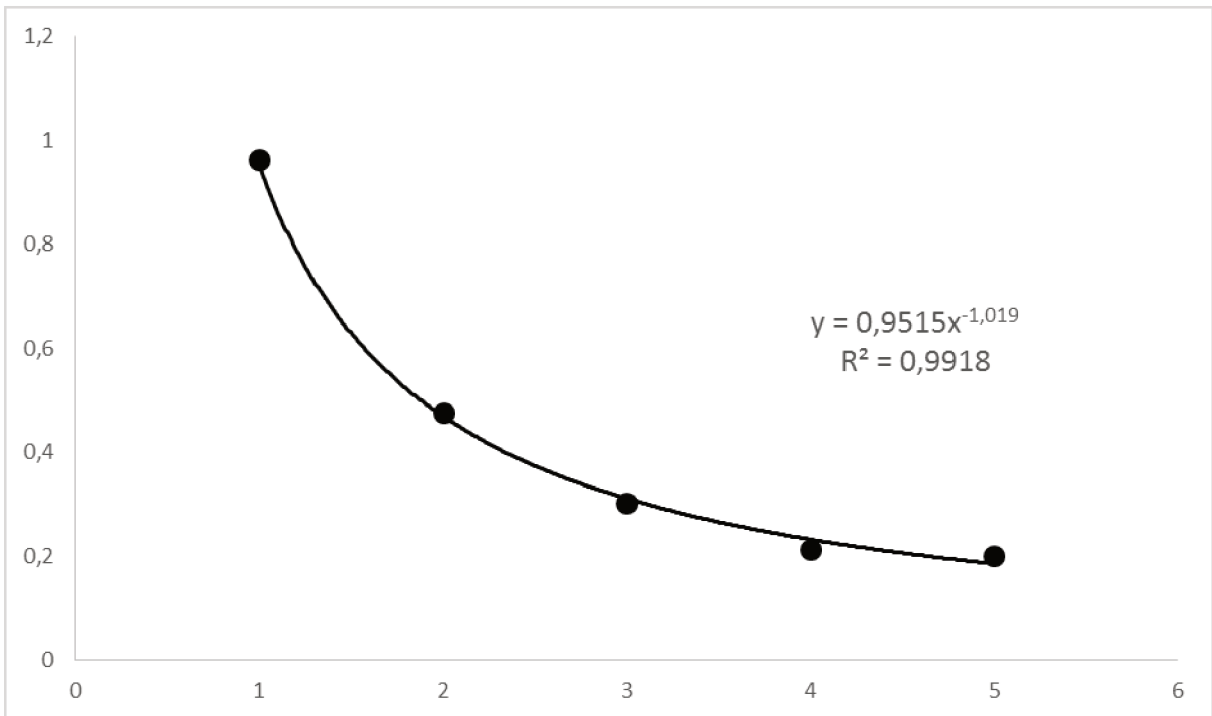


Figura 1: *Carry-over*, expresso em percentagem média da dose encontrada, para amostras de rações animais fabricadas logo após uma ração com medicamento, coletadas em intervalos regulares no carregamento (n=25 diferentes linhas de produção de ração).

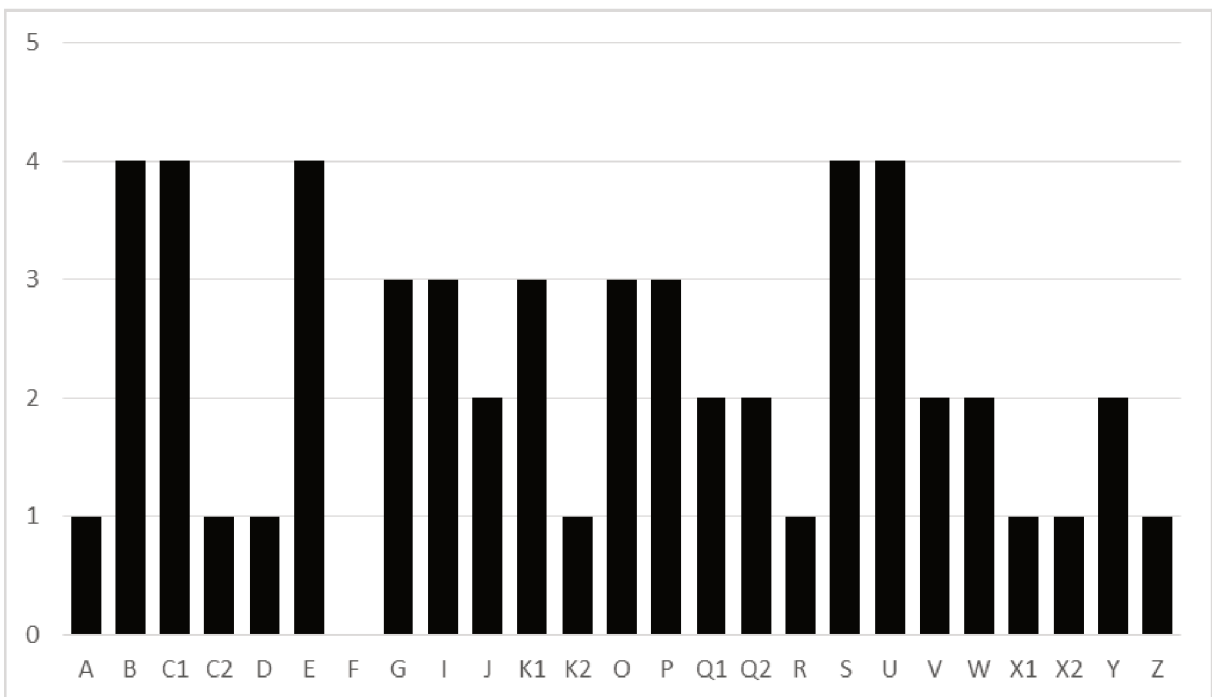


Figura 2: Número de princípios ativos encontrados como contaminantes em linha de produção de ração para animais.

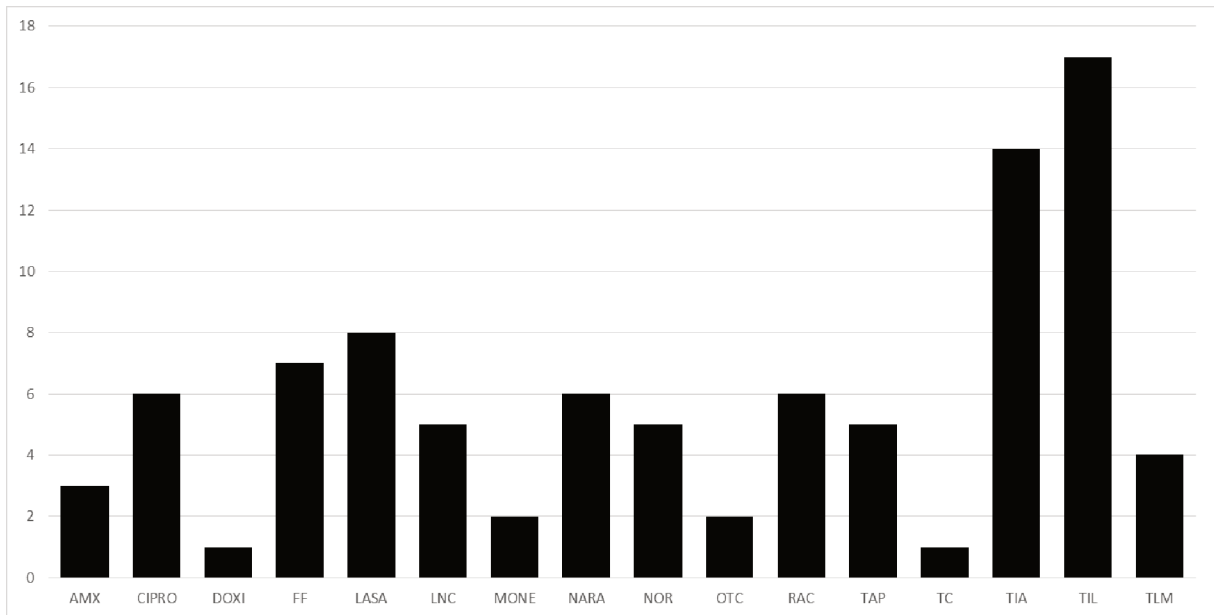


Figura 3: Número de rações contaminadas por princípio ativo em amostras rações para animais coletadas em vinte e cinco linhas de produção.

Amoxicilina (AMX), Ciprofloxacino (CIPRO), Doxiciclina (DOXI), Florfenicol (FF), Lasalocida (LASA), Lincomicina (LNC), Monensina (MONE), Narasina (NARA), Norfloxacino (NOR), Oxitetraciclina (OTC), Ractopamina (RAC), Tianfenicol (TAP), Tetraciclina (TC), Tiamulina (TIA), Tilosina (TIL), Tilmicosina (TLM).

Tabela 6: Concentração de princípios ativos como contaminantes nas linhas de produção.

Linha	Ração	Princípio ativo	Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)*
A	Medicada	Florfenicol	1.432,18
		Florfenicol	3.659,66
B	Medicada	Lincomicina	636,92
		Tiamulina	138,49
	Subsequente	Florfenicol	326,71
		Lincomicina	262,90
		Ractopamina	49,41
		Tiamulina	84,48
C1	Medicada	Doxiciclina	1.500,27
		Monensina	19.552,01
		Tetraciclina	1.836,03
		Tilosina	935,59
	Subsequente	Monensina	9.359,54
		Tilosina	1.915,89
C2	Subsequente	Tilosina	7.734,44
D	Medicada	Norfloxacino	878,37
	Subsequente	Norfloxacino	1.017,48
E	Medicada	Ciprofloxacino	435,40
		Ractopamina	57,12
		Tianfenicol	264,90
		Tilosina	318,43
	Subsequente	Ciprofloxacino	204,16
		Tilosina	157,18
G	Medicada	Lasalocida	77,85
		Narasina	293,38
		Tiamulina	191,44
	Subsequente	Lasalocida	163,62
		Narasina	4.216,98
		Tiamulina	107,54
I	Medicada	Amoxicilina	2.919,19
		Tiamulina	1.113,39
		Tilmicosina	2.425,56
	Subsequente	Amoxicilina	119,93
		Tiamulina	209,05
		Tilmicosina	191,87
J	Medicada	Narasina	8.394,44
		Tilmicosina	19.547,14
	Subsequente	Narasina	6.823,02
		Tilmicosina	499,23
K1	Medicada	Lasalocida	367,31
		Tilosina	342,93

Continua...

			...Continuação.
	Subsequente	Lasalocida	88,39
		Narasina	101,56
		Tilosina	167,99
K2	Medicada	Tilosina	269,43
	Subsequente	Tilosina	83,12
O		Norfloxacino	2.359,79
	Medicada	Tiamulina	678,52
		Tilosina	442,61
	Subsequente	Norfloxacino	425,14
		Tiamulina	13,32
P		Tilosina	121,91
	Medicada	Florfenicol	420,92
		Tiamulina	636,13
		Tilosina	286,02
	Subsequente	Florfenicol	373,20
Q1		Tiamulina	345,21
	Medicada	Lincomicina	1.739,95
		Ractopamina	30,23
Q2	Subsequente	Ractopamina	227,49
	Medicada	Ciprofloxacino	93.186,36
		Ractopamina	235,96
R	Subsequente	Ciprofloxacino	341,41
	Medicada	Tianfenicol	265,00
	Subsequente	Tianfenicol	29,60
S		Lasalocida	140,31
	Medicada	Tiamulina	2.614,73
		Tilosina	124,30
	Subsequente	Lasalocida	100,45
		Narasina	2.629,03
U		Tiamulina	454,26
	Medicada	Amoxicilina	84,92
		Lincomicina	112,83
		Oxitetraciclina	1.875,16
	Subsequente	Lincomicina	125,15
V		Norfloxacino	2.425,73
	Medicada	Oxitetraciclina	115,62
	Subsequente	Ciprofloxacino	686,19
W		Ractopamina	10,24
	Subsequente	Ciprofloxacino	58,47
W	Medicada	Tianfenicol	153,05
W	Medicada	Tilosina	122,58
	Subsequente	Tilosina	95,96

Continua...

...Continuação.

X1	Medicada	Florfenicol	55,41
	Subsequente	Florfenicol	209,71
X2	Medicada	Lasalocida	161,29
	Subsequente	Lasalocida	90,96
Y	Medicada	Tiamulina	771,14
		Tilosina	120,96
	Subsequente	Tiamulina	229,65
		Tilosina	162,44
Z	Medicada	Tianfenicol	234,47

* Nas rações subsequentes a concentração refere-se a média das cinco amostras.



Figura 4: Sala de estocagem de medicamentos de empresa autorizada a fabricar produtos para alimentação animal com medicamentos de uso veterinário.



Figura 5: Sala de estocagem de medicamentos de empresa autorizada a fabricar produtos para alimentação animal com medicamentos de uso veterinário.

3.4 Discussão

Para registro de um medicamento veterinário que será administrado via ração, há obrigatoriedade de apresentação de um estudo que contemple a estabilidade, a compatibilidade e o tempo de permanência eficaz na mistura (MAPA, 1996).

Rotineiramente as empresas fabricantes de rações com medicamentos realizam a fabricação de um premix medicado para facilitar a incorporação e mistura do medicamento na ração. Considerando que os medicamentos possuem um período de estabilidade, o tempo decorrido entre a fabricação dos premixes medicados e seu uso para fabricação da ração pode influenciar na quantidade de princípio ativo.

Durante as colheitas nas fábricas não houve o acompanhamento da pesagem dos medicamentos tampouco da sua inclusão nos misturadores. Portanto, erros nas dosagens dos medicamentos podem ter influenciado nos resultados encontrados, tanto nos casos com resultados abaixo do prescrito como nas rações que apresentaram superdosagem.

Outro fator que pode ter influenciado na baixa concentração de princípios ativos no presente estudo é o processamento térmico realizado para peletização das rações. Das rações analisadas, quatorze eram peletizadas.

A legislação brasileira prevê a obrigatoriedade dos fabricantes e importadores disporem de um sistema de garantia da qualidade dos medicamentos de uso veterinário, conforme disposto no parágrafo 1º, do Artigo 24, do Decreto 5053 (BRASIL, 2004). No entanto, com a inexistência de programas oficiais de monitoramento através de análises laboratoriais da qualidade dos medicamentos comercializados no Brasil, o disposto no Artigo 49, do Decreto 5053, de 22 de abril de 2004 (BRASIL, 2004) pode estar sendo negligenciado. Dessa forma, não se pode descartar a possibilidade de existir super ou subdosagem dos princípios ativos dentro dos medicamentos, explicando a grande variação encontrada. No presente estudo, os casos de subdosagem foram os mais frequentes.

Apesar do método analítico ser direcionado a detecção de resíduos de medicamentos veterinários, a existência de grande número de amostras com teores de princípio ativo divergentes do prescrito pelo médico veterinário demonstra que se tratam de diversos fatores atuando isolados ou cumulativamente, podendo impactar tanto na expectativa de resultados com base na medicação utilizada, bem como na segurança alimentar.

A detecção de grandes diferenças entre as dosagens de princípios ativos prescritos pelos médicos veterinários e os valores realmente encontrados nas amostras de rações medicadas, pode causar grande prejuízo para a saúde dos animais além de propiciar a resistência aos antimicrobianos, especialmente quando em subdosagem (LYNAS et al., 1998). Além do risco relacionado a resistência aos antimicrobianos, há ainda a probabilidade de ocorrência de contaminação dos produtos de origem animal com resíduos destes princípios ativos.

Nenhuma das linhas analisadas apresentou coeficiente de variação da homogeneidade da mistura dentro do estipulado pela legislação. As linhas E1 e S1 apresentaram coeficientes de variação muito próximos dos 5%. Das dez linhas analisadas, sete apresentaram coeficiente de variação acima de 10%, chegando a 153% na linha D1. A legislação brasileira prevê que as empresas, para serem autorizadas a fabricar produtos para alimentação animal utilizando medicamentos de uso veterinário, devem possuir um procedimento de avaliação da eficiência da homogeneidade da mistura, cujo coeficiente de variação não deve ultrapassar 5% (MAPA, 2016).

No presente estudo, houve uma grande variação na taxa de inclusão dos medicamentos, e mesmo os medicamentos com alta inclusão como amoxicilina, narasina e salinomicina apresentaram altos coeficientes de variação. ROCHA et al. (2015) utilizando diversos indicadores para mensuração da qualidade das misturas concluíram que quanto mais baixa a inclusão destes indicadores maiores foram os coeficientes de variação. EISENBERG (2004), afirmou que a inclusão de um indicador na concentração de 100 mg.kg^{-1} seria o ideal para validar a qualidade das misturas.

Com base nos resultados encontrados pode-se sugerir revisão da atual legislação, implementando maior rigor na apresentação dos estudos de qualidade da mistura para concessão das autorizações para uso de medicamentos na fabricação de rações para alimentação animal. Isso proporcionará maior garantia da concentração dos medicamentos utilizados para saúde dos animais, minimizando a possibilidade de ocorrência de contaminação dos produtos de origem animal consumidos pela população, além de mitigar o risco de desenvolvimento de resistência antimicrobiana.

Considerando que as concentrações dos princípios ativos estavam abaixo das prescritas, o *carry-over* calculado levando em consideração a dosagem realmente incluída nas rações, observou-se que 90% das rações apresentaram resíduos de medicamentos, com valor máximo de 41%. Em estudo semelhante STOLKER et al. (2013) analisaram 140 amostras de rações subsequentes encontrando resíduos de antimicrobianos em 87% dos casos, em uma concentração máxima de 154 mg.kg^{-1} . KENEDDY et al. (1998) analisando o *carry-over* de monensina em rações para frangos encontraram resíduos acima de 10% da dose recomendada em rações subsequentes às medicadas.

O *carry-over* encontrado em seis linhas de produção atingiram níveis superiores a 1% da dose recomenda pelo médico veterinário, atingindo o máximo de 3,3%.

Estes resultados demonstram que metodologia de limpeza das linhas de produção de ração não estão sendo eficientes, pois, se a concentração do medicamento existente nas rações atendesse ao prescrito pelos médicos veterinários, a concentração dos princípios ativos nas rações subsequentes tenderia a ser muito superior.

A eliminação completa do *carry-over* é um objetivo difícil de atingir, principalmente em escala comercial, onde a parada de uma fábrica de rações para realização de limpeza dos equipamentos acarreta em grandes transtornos na logística de uma cadeia produtiva extremamente complexa. Contudo, alguns fatores podem influenciar no grau de ocorrência,

como o cuidado na aferição da balança de pesagem, *layout* dos equipamentos, energia estática, formulação das rações, composição química dos medicamentos e o tamanho das partículas (VANDENBERGE et al., fev. 2012; STOLKER et al., 2013; FILIPPITZI et al., 2016).

Verificou-se ainda que o resíduo de medicamentos como *carry-over* apresentou heterogeneidade entre os pontos coletados em 60% das rações, com isso, amostras de ração continham concentração de princípios ativos superiores à outras. STOLKER et al. (2013), em estudo sobre o decaimento do *carry-over* de oxitetraciclina em quatro fábricas de ração, também constataram maior concentração do princípio ativo no início da produção.

Além das moléculas intencionalmente inseridas nas rações, destacou-se o alto índice de contaminação das rações com outros princípios ativos. Das 25 linhas de produção estudadas, apenas uma não apresentou contaminação. LYNAS et al. (1998), encontraram contaminação em 24,8% dos produtos para alimentação animal estudados, sendo mais frequentemente encontrado clortetraciclina, sulfonamida, penicilinas e coccidiostáticos.

Outro fator é que as empresas autorizadas a fabricar produtos para alimentação animal com medicamentos, geralmente possuem programas sanitários que preveem o uso rotineiro de medicamentos de forma profilática para todo o rebanho. As empresas possuem salas de pesagem e estoque onde são armazenadas grandes quantidades de medicamentos com diversos princípios ativos (Figuras 4 e 5). Dessa forma, o uso das moléculas durante longo período, aumenta a probabilidade de ocorrência de contaminação cruzada.

Rações contaminadas com baixas dosagens de princípios ativos podem causar a contaminação dos produtos de origem animal, como fígado, músculo e ovos (ROKKA et al, 2005; DORNE et al., 2013; VANDENBERGE et al., fev. 2012a; VANDENBERGE et al., dez. 2012).

O uso de antimicrobianos em subdosagens via alimentação animal, seja como promotores de crescimento, como contaminantes ou como consequência do *carry-over*, criaram fontes de microrganismos resistentes aos antimicrobianos (WEGENER et al., 1999; LOVE et al., 2011; HOLMAN & CHÉNIER, 2013; HOLMAN & CHÉNIER, 2015).

Dosagens de antimicrobianos abaixo da concentração mínima inibitória, ou seja, em concentrações baixas, podem promover a resistência microbiana de forma mais estável que a resistência microbiana causada por doses mais elevadas (GULLBERG et al., 2011; GULLBERG et al., 2014; BREWER et al., 2013; SANDEGREN, 2014; LIU et al., 2011).

Diante dos resultados encontrados, a atual determinação da legislação brasileira de permitir uma contaminação de no máximo 1% da dose do princípio ativo utilizado, necessita ser revista, através de uma análise de risco por princípio ativo, salvaguardando a saúde pública e a segurança alimentar.

3.5 Conclusão

As rações medicadas analisadas apresentaram heterogeneidade na mistura dos medicamentos veterinários e concentrações de princípios ativos divergentes do receitado pelos médicos veterinários. Verificou-se que as limpezas de linha são insuficientes para garantir *carry-over* inferior a 1% da dose recomendada e que há decaimento da concentração do princípio ativo entre o início e o final da produção. Constatou-se ainda a contaminação com diversos princípios ativos tanto nas rações medicadas como nas subsequente e que não foram encontradas correlações entre os níveis nutricionais apresentados nas rotulagens das rações medicadas e o *carry-over*.

O atual modelo de produção de aves e suínos no Brasil, com uso massivo de medicamentos de uso veterinário via nutrição animal, possibilita a ocorrência de rações com contaminação cruzada com diversos princípios ativos.

Portanto, os atuais controles existentes mostraram-se ineficientes para impedir a contaminação dos produtos de origem animal, tampouco para mitigar a seleção de bactérias resistentes.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se a realização de novos estudos para verificação da qualidade dos medicamentos de uso veterinário comercializados no Brasil, objetivando-se a verificação dos motivos das divergências encontradas.

Ainda que a legislação brasileira remeta a responsabilidade pelo controle da qualidade dos produtos aos fabricantes (BRASIL, 2004; BRASIL, 2007; BRASIL, 1990), cabe à fiscalização coibir que estes problemas ocorram. Portanto, é necessário o fortalecimento da estrutura de fiscalização para que a saúde dos animais e da população sejam salvaguardados.

Os controles sobre o uso de medicamentos via alimentação animal devem ser aprimorados com base em análises de risco enfocadas na saúde única, ou seja, não só na segurança alimentar, mas também visando a sustentabilidade e a segurança dos alimentos.

5 REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual 2017**. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em: 08 abr. 2018.

ANTONIO, N.S.; OLIVEIRA, A.C.; CANESINI, R.; ROCHA, J.R. Mecanismos de resistência bacteriana. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. 12, 1679-7353, 2009.

BAPTISTA, M.G.F.M. Mecanismos de resistência aos antibióticos. **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia**. Lisboa, 2013.

BOECKEL, T.P.V.; BROWERB, C.; GILBERTC, M.; GRENFELLA, B.T.; LEVINA, S. A.; ROBINSON, T.P.; TEILLANTA, A.; LAXMINARAYAN, R. Global trends in antimicrobial use in food animals. **PNAS**. 112, 18, 5649-5654, 2015. DOI: 10.1073/pnas.1503141112

BORGES, P.A.R.S. *Métodos de descontaminação de produtos veterinários utilizados na produção de alimentos para animais*. 2010. 165 f. (Mestrado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2010.

BORRÀS, S.; COMPANYÓ, R.; GRANADOS, M.; GUITERAS, J.; PÉREZ-VENDRELL, A. M.; BRUFAU, J.; MEDINA, M.; BOSCH, J. Analysis of antimicrobial agents in animal feeds. **Trends in Analytical Chemistry**. 30, 7, 1042-1064, 2011. DOI:10.1016/j.trac.2011.02.012

BRASIL. Lei nº. 8078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8078.htm>. Acesso em: 08 abr. 2018.

BRASIL. Decreto nº. 5053, de 22 de abril de 2004. Aprova o Regulamento de Fiscalização de Produtos de Uso Veterinário e dos Estabelecimentos que os Fabriquem ou Comerciem, e dá outras providências. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/D3298.htm>. Acesso em: 08 abr. 2018.

BRASIL. Decreto nº. 6296, de 11 de dezembro de 2007. Aprova o Regulamento da Lei no 6.198, de 26 de dezembro de 1974, que dispõe sobre a inspeção e a fiscalização obrigatórias dos produtos destinados à alimentação animal, dá nova redação aos arts. 25 e 56 do Anexo ao Decreto no 5.053, de 22 de abril de 2004, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/decreto/d6296.htm>. Acesso em: 08 abr. 2018.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego (MTE). **Programa de Disseminação de Estatísticas do Trabalho (PDET)**: Bases Estatísticas RAIS/CAGED. Brasília, 2016. Disponível em: <<http://bi.mte.gov.br/bgcaged/login.php>>. Acesso em: 19 maio 2018.

BREWER, M.T.; XIONG, N.; ANDERSON, K.L.; CARLSON, S.A. Effects of subtherapeutic concentrations of antimicrobials on gene acquisition events in *Yersinia*, *Proteus*, *Shigella* and

Salmonella recipient organisms in isolated ligated intestinal loops of swine. **America journal of veterinary research**. 74, 8, 1078-1083, 2013.

BUROW, E.; KÄSBOHRER, A. Risk factors for antimicrobial resistance in *Escherichia coli* in pigs receiving oral antimicrobial treatment: a systematic review. **Microbial drug resistance**. 1-12, 2016. DOI: 10.1089/mdr.2015.0318

DAESELEIRE, E.; GRAEF, E.D.; RASSCHAERT, G.; MULDER, T.D.; MEERSCHÉ, T.V.; COILLIE, E.V.; DEWULF, J.; HEYNDRICKX, M. Antibiotic use and resistance in animals: Belgian initiatives. **Drug testing and analysis**. 8, 549-555, 2016. DOI: 10.1002/dta.2010

DORNE, J.L.C.M; FERNÁNDEZ-CRUZ, M.L; BERELSEN, U; RENSHAW, D.W.; PELTONEN, K.; ANADON, A.; FEIL, A.; SANDERS, P.; WESTER, P.; FINK-GREMMEIS, J. Risk assessment of coccidiostats during feed cross-contamination: Animal and human health aspects. **Toxicology and Applied Pharmacology**. 270, 196-208, 2013. DOI: 10.1016/j.taap.2010.12.014

DUNLOP, R.H.; MCEWEN, S.A.; MEEK, A.H.; CLARKE, R.C.; BLACK, W.D.; FRIENDSHIP, R.M. Associations among antimicrobial drug treatments and antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* of swine on 34 farrow-to-finish farms in Ontario, Canada. **Preventive veterinary medicine**. 34, 283-305, 1998.

EISENBERG, D.A. Mixer performance, cross-contamination testing examined. **Feedstuffs**. 76, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Estatísticas e desempenho de produção, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas>>. Acessado em: 08 abr. 2018.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. **EFSA Journal**. 15(2), 4696, 2017. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4694>>. Acessado em 19 de junho de 2017.

EUROPEAN COMMISSION. **Decisão da Comissão 2002/657/CE, de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados**, 2002. Disponível em: <<https://publications.europa.eu/pt/publication-detail/-/publication/ed928116-a955-4a84-b10a-cf7a82bad858/language-pt>>. Acesso em 27 maio 2018.

EUROPEAN COMMISSION. **Proposal for a regulation of the european parliament and of the council on the manufacture, placing on the market and the use of medicated feed and repealing Council Directive 90/167/EEC**, 2014. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2014/EN/1-2014-556-EN-F1-1.Pdf>>. Acesso em 19 de junho de 2017.

EUROPEAN COMMISSION. RASFF - Rapid Alert System for food and feed. Disponível em: <<https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>>. Acessado em: 08 abr. 2018.

FDA/USA. **Unsafe contamination of animal feed from drug carryover**. 2015. Disponível em: <www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm074699.htm>. Acesso em 19 de junho de 2017.

FILIPPITZI, M.E.; SERRAZIN, S.; IMBERECHTS, H.; SMET, A.; DEWULF, J. The risk of cross-contamination due to the use of antimicrobial medicated feed throughout the trail of feed from the feed mill to the farm. **Food additives & contaminants: Part A**. 33, 644-655, 2016. DOI: 10.1080/19440049.2016.1160442

GIBBONS, J.F.; BOLAND, F.; EGAN, J.; FANNING, S.; MARKEY, B.K.; LEONARD, F.C. Antimicrobial resistance of faecal *Escherichia coli* isolates from pig farms with different durations of In-feed antimicrobial use. **Zoonoses and Public Health**. 63, 241–250, 2016. DOI: 10.1111/zph.12225

GULLBERG, E.; CAO, S.; BERG, O.G.; ILBÄCK, C.; SANDEGREN, L.; HUGHES, D.; ANDERSSON, D.I. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. **Plos Pathogens**. 7, 1-9, 2011. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002158

GULLBERG, E.; ALBRECHT, L.M.; KARLSSON, C.; SANDEGREN, L.; ANDERSON, D.I. Selection of a multidrug resistance plasmid by sublethal levels of antibiotics and heavy metals. **American society for microbiology**. 5, 5, 1-9, 2014. DOI: 10.1128/mBio.01918-14

HOLMAN, D.B.; CHÉNIER, M.R. Impact of subtherapeutic administration of tylosin and chlortetracycline on antimicrobial resistance in farrow-to-finish swine. **FEMS Microbiology Ecology**. 85, 1-13, 2013. DOI: 10.1111/1574-6941.12093

HOLMAN, D.B.; CHÉNIER, M.R. Antimicrobial use in swine production and its effect on the swine gut microbiota and antimicrobial resistance. **Canadian journal of microbiology**. 61, 785-798, 2015. DOI: 10.1139/cjm-2015-0239

KENNEDY, D.G.; SMYTH, W.G.; HEWITT, A.; MCEVOY, D.G. Monensin carry-over into unmedicated broiler feeds. **The analyst**. 123, 2529-2533, 1998.

LIU, A.; FONG, A.; BECKET, E.; YUAN, J.; TAMAE, C.; MEDRANO, L.; MAIZ, M.; WAHBA, C.; LEE, C.; LEE, K.; TRAN, K.P.; YANG, H.; HOFFMAN, R.M.; SALIH, A.; MILLER, J.H. Selective advantage of resistant strains at trace levels of antibiotics: a simple and ultrasensitive color test for detection of antibiotics and genotoxic agents. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. 55, 1204-1210, 2011. DOI: 10.1128/AAC.01182-10

LOVE, D.C.; DAVIS, M.F.; BASSET, A.; GUNTHER, A.; NACHMAN, K.E. Dose imprecision and resistance: free-choice medicated feeds in industrial food animal production in the United States. **Environmental Health Perspectives**. 119, 3, 279-283, 2011.

LYNAS, L.; CURRIE, D.; MCCAUGHEY, W.J.; MCEVOY, J.D.G.; KENNEDY, D.G. Contamination of animal feedingstuffs with undeclared antimicrobial additives. **Food additives and contaminants**. 15, 162-170, 1998.

MCEVOY, J.D.G. Contamination of animal feedstuffs as a cause of residues in food: a review of regulatory aspects, incidence and control. **Analytica Chimica Acta**. 473, 3-26, 2002.

MENDES, F.R.; LEITE, P.R.S.C.; FERREIRA, L.L.; LACERDA, M.J.R.; ANDRADE, M.A. Utilização de antimicrobianos na avicultura. **Revista Eletrônica Nutritime**. 10 (2), 2352-2389, 2013.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Portaria da Secretaria de Defesa Agropecuária Nº 74**. Brasília, 11 de julho de 1996.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa Nº 65**: anexo I: regulamento técnico sobre os procedimentos para a fabricação e o emprego de rações, suplementos, premixes, núcleos ou concentrados com medicamentos para os animais de produção. Brasília, 21 de novembro de 2006.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa Nº 14**: anexo II: critérios para manipulação de medicamento veterinário em fábricas de produtos destinados à alimentação animal. Brasília, 08 de julho de 2016.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da agropecuária**. 2018. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/programas-especiais/resistencia-antimicrobianos/arquivos/copy2_of_publ_panagro_web.pdf>. Acesso em: 27 maio 2018.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de Bioestatística**. Cengage learning, 2004.

PERSOONS, D.; DEWULF, J.; SMET, A.; HERMAN, L.; HEYNDRICKX, M.; MARTEL, A.; CATRY, B.; BUTAYE, P.; HAESBROUCK, F. Prevalence and persistence of antimicrobial resistance in broiler indicator bacteria. **Microbial Drug Resistance**. 16, 2009-2062, 2010.

PONTE, M.H.S.T. **Surveillance of antimicrobial consumption in animals**. 2017. 271f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

ROCHA, A.G.; MONTANHINI, R.N.; DILKIN, P.; TAMIOSSO, C.D.; MALLMANN, C.A. Comparison of different indicators for the evaluation of feed mixing efficiency. **Animal Feed Science and Technology**. 209, 249-256, 2015. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2015.09.005

ROKKA, M.; EEROLA, S.; PERTTILÄ, U.; ROSSOW, L.; VENÄLÄINEN, E.; VALKONEN, E.; VALAJA, J.; PELTONEN, K. The residue levels of narasin in eggs of laying hens fed with unmedicated and medicated feed. **Molecular Nutrition & Food Research**. 49, 38-42, 2005.

SANDEGREN, L. Selection of antibiotic resistance at very low antibiotic concentrations. **Upsala Journal of Medical Sciences.** 119, 103-107, 2014. DOI: 10.3109/03009734.2014.904457

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL - SINDIRAÇÕES. **Compêndio brasileiro de alimentação animal.** São Paulo, 2017.

SPIEGUEL, M.; STEPHENS, L.J. Estatística quarta edição. Porto Alegre: Boockman, 2009.

SPINOSA, H.S; PALERMO-NETO, J.; GÓRNIK, S.L. **Medicamentos em animais de produção.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 70-97, 399-412.

STOLKER, A.A.M.; MANTIA, V.; ZUIDEMAA, T.; EGMONDA, V.H.; DECKERSB, E.R.; HERBESC, R.; HOOGLUGTC, J.; HEUVELC, E.O.; JONGA, J. Carry-over of veterinary drugs from medicated to non-medicated feeds in commercial feed manufacturing plants. **Food Additives & Contaminants: Part A.** 30, 6, 2013. DOI: 10.1080/19440049.2013.794308

VALESE, A.C.; MOLOGNONI, L.; SOUZA, N.C.; PLOÊNCIO, L.A.S.; COSTA, A.C.O.; BARRETO, F.; DAGUER, H. Development, validation and different approaches for the measurement uncertainty of multi-class veterinary drugs residues LC-MS method for feeds. **Journal of Chromatography B.** 1052, 48-59, 2017. DOI: 10.1016/j.jchromb.2017.03.026

VANDENBERGE, V.; DELEZIE, E.; HUYGHEBAERT, G.; DELAHAUT, P.; DAESELEIRE, E.; CROUBELS, S. Residues of sulfadiazine and doxycycline in broiler liver and muscle tissue due to cross-contamination of feed. **Food Additives and Contaminants.** 29, 180-188, fev, 2012. DOI: 10.1080/19440049.2011.631194

VANDENBERGE, V.; DELEZIE, E.; HUYGHEBAERT, G.; DELAHAUT, P.; PERRET, G.; BACKER, P.; CROUBELS, S.; DAESELEIRE, E. Transfer of the coccidiostats monensin and lasalocid from feed at cross-contamination levels to whole egg, egg white and egg yolk. **Food Additives & Contaminants: Part A.** 29, 1881-1892, dez. 2012. DOI: 10.1080/19440049.2012.719641

VARGA, C.; RAJÍC, A.; MCFALL, M.E.; REID-SMITH, R.J.; DECKERT, A.E.; CHECKLEY, S.L.; MCEWEN, S.A. Associations between reported on-farm antimicrobial use practices and observed antimicrobial resistance in generic fecal *Escherichia coli* isolated from Alberta finishing swine farms. **Preventive veterinary medicine.** 88, 185-192, 2009.

WEGENER, H.C.; AARESTRUP, F.M.; JENSEN, L.B.; HAMMERUM, A.M.; BAGGER, F. Use of antimicrobial growth promoters in food animal and *Enterococcus faecium* resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. **Emerging Infectious Diseases.** 5, 3, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global action on antimicrobial resistance,** 2016. Disponível em: <http://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf>. Acesso em: 27 maio 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Critically important antimicrobials for human medicine – 5th rev.**, 2016. Disponível em: <<http://who.int/foodsafety/publications/antimicrobials-fifth/en/>>. Acesso em: 16 jun. 2017.