



FACULDADE DE VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA DE ALIMENTOS

ESTUDO DO USO DE ANTIMICROBIANOS NA AVICULTURA DE CORTE EM MAPUTO  
E ADAPTAÇÃO DA TÉCNICA DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO DE 4  
PLACAS PARA DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NA CARNE

CANDIDATO:

Agnaldo Joaquim Manhiça

ORIENTADOR:

Prof. Doutor Cristiano João Macuamule

CO-ORIENTADORA:

MSc. Charmila Idrisse Mussagy Sineque

*Maputo, Março de de 2025*



UNIVERSIDADE  
EDUARDO  
MONDLANE

FACULDADE DE VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA DE ALIMENTOS

ESTUDO DO USO DE ANTIMICROBIANOS NA AVICULTURA DE CORTE EM MAPUTO  
E ADAPTAÇÃO DA TÉCNICA DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO DE 4  
PLACAS PARA DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS

CANDIDATO

Agnaldo Joaquim Manhiça

ORIENTADOR:

Prof. Doutor Cristiano João Macuamule

CO-ORIENTADORA:

Mestre Charmila Idrisse Mussagy Sineque

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

**Presidente:** [Doutora Niura Madalena Bila]

**Arguente:** [Prof. Doutora Dácia Coreia]

*Maputo, Março de 2025*

## DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE

Eu, **Agnaldo Joaquim Manhiça**, declaro que esta Dissertação nunca foi apresentada para a obtenção de qualquer grau acadêmico ou em qualquer outro âmbito e que constitui o resultado do meu trabalho de pesquisa. Esta dissertação é submetida em cumprimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (Segurança de Alimentos) na Faculdade de Veterinária da Universidade Eduardo Mondlane.

---

## AGRADECIMENTOS

Em primeira linha agradeço à Deus, Onnipotente, Omnisciente e Onnipresente, pelo dom da vida e por guiar-me, sempre, e em todos os sentidos.

Aos meus pais, Joaquim Manhiça e Florentina Chiziane (em memória a ambos), por me terem trazido a este mundo, dando-me oportunidade de experimentar valores fundamentais desta vida.

Às minhas tias, Belarmina Chiziane e Hironcina Chiziane, pelo suporte moral e material, desde o princípio desta jornada académica. Minhas heroínas, sou eternamente grato, por tudo.

Aos meus orientadores, Prof. Doutor Cristiano Macuamule e Mestre Charmila Mussagy Sineque, pela sábia orientação e mentoria, tendo permitido a minha integração no projecto de pesquisa ROADMAP (*Rethinking Of Antimicrobial Decision-Systems in the Manangement of Animal Production*), sem o qual esta dissertação não teria sido possível. Com a sua determinação e paciência aprendi o real significado de “resiliência” e desistir deixou de ser uma opção quando tudo parecia impossível.

Aos meus Professores e colegas da Secção de HTA, especialmente a Prof.<sup>a</sup> Doutora Custódia Macuamule e o Prof. Doutor Belisário, por inspirar-me a trilhar esta jornada de forma proveitosa.

Ao Instituto de Bolsas de Estudo (IBE) pela concessão da bolsa parcial para o pagamento das propinas da componente curricular do Mestrado.

À minha pequena família: querida Rô, minha eterna companheira e cúmplice, e nossos lindos filhos, Alvin e Kayin. Vocês são a minha verdadeira motivação.

Ao meu amigo de longa data, Rachid Maholele, e sua esposa Clélia Celestina. A vossa amizade e suporte têm sido fundamentais.

Aos meus colegas da turma da quarta edição do Mestrado em Segurança de Alimentos pela FAVET - UEM, pelos importantes momentos partilhados.

À todos que directa ou indirectamente contribuíram para esta realização...

Muito obrigado!

## ÍNDICE

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
LISTA DE ABREVIATURAS .....	iii
LISTA DE TABELAS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Problema e justificativa .....	2
2 OBJECTIVOS.....	4
2.1 Objectivo geral .....	4
2.2 Objectivos específicos.....	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Panorama da produção e consumo da carne de frango a nível global .....	5
3.2 Organização da avicultura de corte em Moçambique .....	6
3.3 Antimicrobianos e seu uso na produção animal .....	7
3.3.1 Antibióticos .....	8
3.3.2 Uso de antibióticos na produção avícola.....	9
3.3.3 Indicadores quantitativos do uso de antibióticos .....	10
3.3.4 Padrão de uso de antibióticos na avicultura em alguns países da África Austral .....	11
3.3.5 Uso imprudente de antibióticos na produção animal e seus impactos na saúde pública. ....	12
3.3.6 Estratégias para minimizar o uso de antibióticos na produção de frangos .....	13
3.3.7 Monitoria de resíduos de antibióticos em produtos de origem animal .....	15
3.3.8 Métodos e técnicas de análise de resíduos de antimicrobianos.....	16
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	19
4.1 Tipo, período e variáveis do estudo.....	19
4.2 Área de estudo.....	19
4.3 Desenho do estudo .....	20
5 RESULTADOS .....	25
5.1 Práticas do uso de antimicrobianos na avicultura de corte em Maputo.....	25
5.1.1 Perfil sócio-demográfico dos avicultores.....	25

5.1.2	Conhecimentos e atitudes sobre manejo sanitário de frangos de corte .....	25
5.1.3	Principais antimicrobianos usados na produção de frangos.....	26
5.1.4	Quantidade de antimicrobianos consumidos na produção de frangos em Maputo.....	29
5.2	Ensaio da detecção de resíduos de antibióticos pelo teste de inibição do crescimento microbiano de 4 placas adaptado .....	30
5.2.1	Validação do teste e controlo de qualidade.....	30
5.2.2	Detecção de resíduos de antibióticos pelo teste de inibição do crescimento microbiano em 4 placas	31
5.2.3	Análise semi-quantitativa dos dados do ensaio .....	34
6	DISCUSSÃO.....	36
6.1	Conhecimentos, atitudes e práticas dos avicultores sobre o uso de antimicrobianos na produção de frangos e seu impacto na saúde pública e segurança de alimentos.....	36
6.2	Principais antimicrobianos usados na produção de carne de frango .....	37
6.3	Quantidade de antimicrobianos usados para a produção da carne de frango .....	38
6.4	Ensaio da detecção de resíduos de antibióticos pelo teste de inibição do crescimento microbiano de 4 placas .....	39
7	CONCLUSÕES.....	42
8	LIMITAÇÕES DO ESTUDO E RECOMENDAÇÕES.....	43
8.1	Limitações do estudo .....	43
8.2	Recomendações .....	43
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
10	ANEXOS.....	51

## RESUMO

O uso de antimicrobianos na avicultura representa um factor de risco tanto para a presença de resíduos na carne quanto para o desenvolvimento de resistência antimicrobiana (RAM). Este estudo objectivou analisar o padrão de utilização de antimicrobianos na produção de frangos em Maputo, entre Dezembro de 2021 e Setembro de 2022, e testar adaptações da técnica de inibição microbiana em quatro placas (EU4pt) para a detecção de resíduos dos antibióticos mais frequentemente utilizados, no período de Maio a Julho de 2023. Aplicou-se um questionário semi-estruturado para avaliar conhecimentos, atitudes e práticas dos avicultores quanto ao uso de antimicrobianos. Num ensaio com delineamento inteiramente casualizado, 27 frangos seleccionados de um lote previamente monitorado, foram experimentalmente tratados, a partir do 21º dia do ciclo de criação, com os antibióticos mais frequentemente referidos pelos avicultores. Amostras de carne e miudezas desses frangos foram analisadas usando a técnica EU4pt, adaptada às condições laboratoriais locais. Verificou-se uso frequente de antimicrobianos e sem prescrição veterinária, bem como desconhecimento sobre a presença de resíduos e seus riscos à saúde pública. Foram identificados 13 antibióticos em uso, pertencentes a 10 classes distintas, com destaque para enrofloxacina (quinolona) e oxitetraciclina (tetraciclina). A quantidade utilizada por quilograma de carne produzida variou de 7,25 a 40,32 mg, valor inferior à média global (45,4 mg/kg). Detectou-se resíduos em todos os tecidos analisados, com maior frequência nas miudezas. A presença de resíduos nas amostras experimentais diminuiu ao longo do período de suspensão, passando de 63% no 2º dia, para 18,5% no 7º dia, o que confirma a importância do cumprimento rigoroso do período de suspensão. O estudo revelou o uso frequente e inadequado de antimicrobianos na produção de frangos em Maputo. As adaptações da técnica EU4pt mostraram-se promissoras, devendo ser aprimoradas para melhor desempenho analítico. Estes achados reforçam a necessidade de capacitação dos avicultores, fortalecimento da fiscalização e implementação de sistemas acessíveis de monitoramento de resíduos, contribuindo para a mitigação da RAM no contexto de saúde global.

**Palavras-chave:** Avicultura, Resíduos de antibióticos, Indicadores de Uso, RAM, Técnica EU4pt, Moçambique.

## ABSTRACT

The use of antimicrobials in poultry farming represents a risk factor for both the presence of residues in meat and the development of antimicrobial resistance (AMR). This study aimed to analyze the pattern of antimicrobial use in broiler chicken production in Maputo between December 2021 and September 2022 and to test adaptations of the four-plate microbial inhibition technique (EU4pt) for detecting residues of the most frequently used antibiotics from May to July 2023. A semi-structured questionnaire was administered to assess poultry farmers' knowledge, attitudes, and practices regarding antimicrobial use. In a completely randomized trial, 27 chickens selected from a previously monitored flock were experimentally treated, starting on day 21 of the rearing cycle, with the antibiotics most frequently reported by the farmers. Meat and offal samples from these chickens were analyzed using the EU4pt technique, adapted to local laboratory conditions. Frequent use of antimicrobials without veterinary prescription was observed, as well as a lack of awareness about the presence of residues and their risks to public health. Thirteen antibiotics were identified in use, belonging to 10 distinct classes, with emphasis on enrofloxacin (quinolone) and oxytetracycline (tetracycline). The amount used per kilogram of meat produced ranged from 7.25 to 40.32 mg, lower than the global average (45.4 mg/kg). Residues were detected in all tissues analyzed, most frequently in offal. The presence of residues in the experimental samples decreased throughout the suspension period, dropping from 63% on day 2 to 18.5% on day 7, confirming the importance of strict adherence to the suspension period. The study revealed the frequent and inappropriate use of antimicrobials in chicken production in Maputo. Adaptations of the EU4pt technique proved promising and should be improved for better analytical performance. These findings reinforce the need for training poultry farmers, strengthening inspections, and implementing accessible residue monitoring systems, contributing to the mitigation of AMR in the context of global health.

**Keywords:** Poultry, Antibiotic residues, Usage indicators, AMR, EU4pt Technique, Mozambique.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ADAM – Associação de Avicultores de Maputo
- AFNOR - Agência Francesa de Normalização
- ALEA – *Animal Level of Exposure to Antimicrobials* (Nível de Exposição dos Animais aos Antimicrobianos)
- AMA – Associação Moçambicana de Avicultura
- AMR (RAM) – *Antimicrobial Resistance* (Resistência Antimicrobiana)
- AMU – *Antimicrobial Use* (Uso de Antimicrobianos)
- ASEAN – *Association of the Southeast Asian Nations* (Associação das Nações do Sudoeste Asiático)
- C – Carne (músculo), amostra de...
- CV – Coeficiente de Variação
- DINAV – Direcção Nacional de Veterinária
- DNDP – Direcção Nacional de Desenvolvimento Pecuário
- DP – Desvio Padrão
- EU4pt – *European Union Four Plates Technique* (Técnica de Quatro Placas da União Europeia)
- F – Fígado, amostra de...
- FAO – *Food and Agriculture Organization of de United Nations* (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)
- FAVET – Faculdade de Veterinária
- FPT – *Four Plates Technique* (Técnica de Quatro Placas)
- HPLC – *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
- HTA – Higiene e Tecnologia de Alimentos
- IZ – Inhibition Zone (Halo de inibição)
- kg – kilograma
- LC-MS – *Liquid Chromatography tandem Mass Spectrophotometry* (Cromatografia Líquida acoplada a Espectrofotometria de Massa)
- LMR / MRL – Limite Máximo de Resíduos / *Maximum Residues Limit*
- M – Moela, amostra de...
- MADER – Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural
- MASA – Ministério da Agricultura e Segurança Alimentar
- MISAU – Ministério da Saúde
- ml – mililitro
- NAT- *Nouws Antibiotic Test*
- NB – *Nutrient Broth* (Agar Nutritivo)

- PCU – *Population Corection Unit* (Unidade de Correção Populacional)
- ROADMAP - *Rethinking of Antimicrobial Decision-Systems in the Manangement of Animal Production* (Repassando os Sistemas de Decisão sobre Antimicrobianos na Gestão da Produção Animal)
- SADC – *Southern Africa Development Community* (Comunidade do Desenvolvimento da África Austral)
- STAR - *Screening Test for Antibiotic Residues* (Teste de Triagem para Resíduos de Antibióticos)
- T1 – Tratamento 1
- T2 – Tratamento 2
- T3 – Tratamento 3
- TLC – *Thin Layer Chromatography* (Cromatografia em Camada Delgada)
- UEM – Universidade Eduardo Mondlane
- UFC – Unidades Formadoras de Colónias

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Classes farmacológicas dos principais antibióticos usados na Medicina Veterinária .	9
<b>Tabela 2:</b>	Critérios de controlo de qualidade e validação analítica to teste .....	24
<b>Tabela 3:</b>	Atitudes e conhecimentos dos avicultores sobre o manejo sanitário de frangos .....	26
<b>Tabela 4:</b>	Principais antimicrobianos usados pelos avicultores em função da escala de produção e da estação do ano .....	27
<b>Tabela 5:</b>	Indicadores de controlo de qualidade e validação do teste .....	31
<b>Tabela 6:</b>	Detecção de resíduos antibióticos em amostras de diferentes tecidos comestíveis de frango em função do tempo de suspensão da administração dos medicamentos.....	33
<b>Tabela 7:</b>	Frequência de amostras positivas em função do tecido.....	33
<b>Tabela 8:</b>	Frequência de amostras positivas sem discriminação dos tecidos de cada frango.	34
<b>Tabela 9:</b>	Halos de Inibição das amostras positivas, em milímetros (média $\pm$ desvio padrão) .	34

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Mapa da cidade e província de Maputo, ilustrando a distribuição dos locais de amostragem. 20
- Figura 2:** Compartimentação / disposição dos tratamentos (esquerda) e pacotes ilustrando os nomes comerciais dos medicamentos usados no ensaio..... 22
- Figura 3:** Porções de amostras laboratoriais de cada um dos tecidos (esquerda) e posterior pré-tratamento por exposição em radiação ultravioleta, na cabine de biossegurança (direita). ..... 23
- Figura 4:** Características socio-demográficas dos criadores abrangidos pelo estudo ..... 25
- Figura 5:** Princípios antibioticos usados pelos avicultores das 3 categorias durante periodo total de seguimento ..... 28
- Figura 6:** Princípios antibióticos usados pelos avicultores de escala média em cada estação sazonal 28
- Figura 7:** Indicadores quantitativos do consumo de antibioticos nas explorações avícolas em estudo 29
- Figura 8:** Quantidade total consumida de cada principio activo em miligramas (mg) e percentagem correspondente. .... 30
- Figura 9:** Proporção da quantidade total de antibióticos consumidos no verão e inverno ..... 30
- Figura 10:** Placas seleccionadas ilustrando diferentes situações de amostras positivas:..... 32

# 1 INTRODUÇÃO

A carne de frango consta entre as principais fontes de proteína animal para a alimentação humana, a nível mundial. De acordo com FAOSTAT (2024a), o consumo global *per capita* da carne de frango aumentou de 14,7 kg/ano em 2013 para cerca de 17,1 kg/ano em 2021. O padrão de consumo do frango ao nível da África Austral tem sido quase o dobro do consumo mundial, tendo aumentado de 33,2 kg/pessoa/ano em 2013 para quase 40 kg/pessoa/ano em 2021 (FAOSTAT, 2024a). Entretanto, em Moçambique, o consumo da carne de frango foi estimado em apenas cerca de 3,4 kg/pessoa/ano, em 2013 (Oppewal *et al.*, 2016), tendo registado um ligeiro aumento para 4,6 kg/capita/ano, em 2022 (MADER-DNDP, 2023).

A carne de frango e o pescado constituem as principais fontes de proteína animal para o consumo humano no país (FAOSTAT, 2024a). Por ser de baixo custo comparativamente a outras carnes, e ser praticamente isento de limitações de natureza religiosa, a demanda da carne de frango é notavelmente crescente em Moçambique, principalmente nas zonas urbanas e peri-urbanas (Bah e Gajigo, 2019). Face à crescente demanda, os avicultores são desafiados a aumentar a produção e, no processo, recorrem ao uso de fármacos ou drogas veterinárias, possivelmente como forma de minimizar perdas e alcançar elevados índices zootécnicos de produtividade (Mund *et al.*, 2017).

Na avicultura de corte, os antibióticos representam o grupo de fármacos mais usados, tanto para fins curativos assim como profiláticos, e nalguns casos, até como promotores de crescimento (Kumar *et al.*, 2019). Entretanto, quando usados de forma indiscriminada e sem respeito aos períodos de suspensão, os antibióticos podem persistir de forma residual nas carcaças de frangos após o abate, representando perigo para saúde dos consumidores (Mund *et al.*, 2017).

O provável uso indiscriminado de antimicrobianos, com ênfase para os antibióticos, em Moçambique, pode constituir risco para a saúde humana e animal. Na saúde humana, por exemplo, foi recentemente reportada, a fraca consciência e falta de conhecimentos sobre a necessidade de uso correcto de antibióticos, na cidade de Maputo (Mate *et al.*, 2019). Em estudos recentes, foi reportada a ocorrência de *Campylobacter spp.* multi-droga resistentes, na cadeia de distribuição de frangos localmente produzidos e processados na Província e Cidade de Maputo (Matsimbe *et al.*, 2021) e a ocorrência de resistência a beta-lactâmicos e flouroquinolonas, de *Enterobacteriaceae* isoladas em frangos importados e localmente produzidos na Cidade de Maputo (Faife *et al.*, 2019).

O Governo de Moçambique, através do Ministério da Saúde (MISAU) e do então Ministério da Agricultura e Segurança Alimentar (MASA), definiu o Plano Nacional de Acção contra a Resistência Antimicrobiana 2019 – 2023. De acordo com este plano, a recolha de dados de base sobre o uso de antimicrobianos, resistência antimicrobiana e ocorrência de resíduos em animais, constitui uma das actividades prioritárias para a vigilância e monitoria. Para as acções viradas à área de produção

animal, dentre os diferentes subsectores pecuários, este plano recomenda a priorização da cadeia de valor avícola (MISAU & MASA, 2019).

Para o estabelecimento de um programa de controlo e monitoria de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal, faz-se necessário primeiro garantir a existência de capacidade laboratorial para verificar a presença destas substâncias. A actual fraca capacidade laboratorial, incluindo falta de pessoal treinado, já foram identificadas entre as principais limitações para a implementação de programas de monitoria de resíduos farmacológicos em alimentos, nos países em desenvolvimento (Cannavan, 2004). Assim, urge direccionar iniciativas de pesquisa viradas para o desenvolvimento de técnicas de análise eficazes e eficientes, adaptadas ao contexto e realidade de países com recursos materiais e financeiros limitados, perspectivando a sua adopção no contexto nacional.

A presente pesquisa, alinhada com a abordagem *One Health* (que reconhece a saúde humana, animal e o meio ambiente como estando interligados), enquadra-se no rol de acções necessárias para a materialização do Plano Nacional de Acção contra a Resistência Antimicrobiana, em Moçambique. Pretendeu-se com este trabalho, estudar as tendências de uso de antimicrobianos na produção de frangos em Maputo, incluindo a descrição dos conhecimentos, atitudes e práticas dos avicultores, e analisar qualitativa e quantitativamente os antimicrobianos mais comumente usados neste ponto do país, bem como verificar a efectividade da técnica de inibição microbiana de quatro placas, adaptada às condições locais, para a análise de resíduos de antimicrobianos na carne de frango.

## **1.1 Problema e justificativa**

A avicultura ocupa uma posição proeminente no sector agrário em Moçambique, sendo considerada uma alternativa viável e atractiva para o empreendedorismo e auto-emprego (Chunga *et al.*, 2023). A maioria dos produtores de frangos em Moçambique é de pequena escala, incluindo iniciantes, com pouco conhecimento sobre manejo geral e principalmente de cuidados sanitários (Nicolau *et al.*, 2011). O número de pequenos avicultores tem visivelmente aumentado, sobretudo quando se aproximam épocas de pico da procura de frangos. Porém, esse crescimento em número de produtores, não é acompanhado pelo aumento da capacidade de cobertura dos serviços de assistência e/ou extensão veterinária. A fraca cobertura dos serviços de assistência veterinária a este grupo já foi várias vezes reportada (Nicolau *et al.*, 2011; DINAV, 2015).

A baixa cobertura dos Serviços Veterinários e a fraca regulação ou legislação veterinária no país, abrem espaço para um provável uso indiscriminado ou irresponsável de antimicrobianos em animais de produção, não só pelos criadores assim como pelos técnicos de assistência veterinária. Além disso, com o fácil acesso a várias drogas veterinárias comercializadas por várias empresas privadas,

qualquer indivíduo pode adquiri-las mesmo sem prescrição médico-veterinária (GARP-Mozambique Working Group, 2015).

Actualmente, não existe no país um quadro legislativo rigoroso que regule o uso de antimicrobianos na produção pecuária, assim como não existe um programa oficial para o controlo e monitoria de resíduos de pesticidas ou drogas veterinárias em produtos de origem animal. Além disso, as tendências de uso de antimicrobianos na avicultura de corte em Moçambique ainda não foram claramente estudadas. Com isso, escasseiam dados que possam servir de base para a potencial análise do risco associado à ocorrência dessas substâncias em produtos de origem animal, suportando o desenvolvimento de estratégias de prevenção e/ou mitigação desses perigos alimentares. Assim, é premente a necessidade de geração de evidências científicas locais para apoiar a regulamentação e monitoria do uso de antimicrobianos na produção animal e em particular no subsector avícola.

## **2 OBJECTIVOS**

### **2.1 Objectivo geral**

- Estudar o padrão de uso de antimicrobianos na avicultura de corte e adaptar a técnica de inibição microbiana de 4 placas às condições laboratoriais locais, para o rastreio de resíduos dos antibióticos mais usados na produção de frangos em Maputo

### **2.2 Objectivos específicos**

- Descrever os conhecimentos, atitudes e práticas dos avicultores sobre o uso de antimicrobianos na produção de frangos;
- Estimar a quantidade de antimicrobianos usados na produção de carne de frango;
- Identificar os principais antimicrobianos usados na produção de carne de frango;
- Adaptar a técnica de inibição microbiana de 4 placas para detecção de resíduos dos antibióticos mais usados na produção de frangos em Maputo.

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Panorama da produção e consumo da carne de frango a nível global

O inevitável e irreversível crescimento demográfico global tem pressionando os sistemas alimentares, desafiando-os a darem pronta resposta à igualmente crescente demanda por alimentos seguros e nutritivos. A carne de frango figura entre as fontes mais acessíveis de proteína animal para alimentação humana. Projeções globais apontam que num futuro muito breve, o consumo da carne de frango venha a superar o consumo das carnes vermelhas. Essa tendência está sendo impulsionada pela busca por fontes de proteína animal de baixo custo, principalmente nos países em desenvolvimento (Kumar *et al.*, 2019).

A nível global, a produção de carne de frango registou a maior taxa de crescimento (107%) no período de 2000 à 2021. Esta produção tende a superar a produção da carne suína desde 2019, quando muitos países asiáticos foram assolados pela Peste Suína Africana (FAO, 2023). Estatísticas recentes da FAO apontam que em 2022, a produção global da carne de frango foi de aproximadamente 124 milhões de toneladas (FAO, 2023).

O ranking dos países maiores produtores da carne de frango em 2022, a nível mundial, foi liderado pelos Estados Unidos da América, com uma produção anual de quase 20 milhões de toneladas (16% da produção mundial). Brasil, China, Rússia e Índia são outros países que integraram o “top 5” de maiores produtores mundiais de frango (FAOSTAT, 2024b).

Ao nível do continente africano, em 2022, a produção da carne de frango foi de cerca de 7,8 milhões de toneladas (6% da produção mundial). O Egito destacou-se como o maior produtor da carne de frango, com uma produção em torno de 2,5 milhões de toneladas (32 % da produção continental). África do Sul, Marrocos, Nigéria e Argélia foram outros países que constaram do “top 5” de maiores produtores de frango em África (FAOSTAT, 2024b).

Entre os países da Comunidade para o Desenvolvimento da África Austral (SADC), a África do Sul liderou as estatísticas, contribuindo em mais de 80% na produção regional. Com uma produção anual em torno de 146 mil toneladas, Moçambique foi o segundo país com maior produção de carne de frango nesta região do continente africano, seguido por Namíbia, Eswatini e Botswana (FAOSTAT, 2024b).

Em Moçambique, actualmente a avicultura ocupa uma posição proeminente no sector agrário, sendo considerada uma alternativa viável e atractiva para o empreendedorismo e auto-emprego (Chunga *et al.*, 2023). Nos últimos 10 anos, Moçambique registou um assinalável crescimento na produção da carne de frango, com uma evolução anual positiva de até 18%. Se em 2013 a produção de carne de frango foi de 53.634 toneladas, em 2022 mais do que dobrou, para cerca de 146.684 toneladas.

Durante este período, a província de Maputo teve o maior contributo na produção de frangos, com mais de 70% da produção nacional (MADER-DNDP, 2023).

Em termos de tendências de consumo, dados recentes da FAO (referentes ao ano 2021), indicam que a nível mundial, a carne de frango constituiu a segunda fonte de proteína animal mais consumida (17 kg/pessoa/ano), perdendo apenas para o pescado. A mesma tendência observou-se a nível do continente africano, embora o consumo tenha sido um pouco menos do que metade do consumo mundial (7,2 kg/pessoa/ano). Entretanto, a nível regional na SADC, o consumo da carne de frango foi quase o dobro do consumo mundial (31 kg/pessoa/ano), superando todos os outros tipos de carnes, incluindo o pescado. Particularmente em Moçambique, o frango constituiu a segunda fonte de proteína animal mais consumida, depois do pescado. Contudo, o consumo anual *per capita* (3,4 kg) foi quase metade do consumo continental, e 10 vezes menor que o consumo regional da SADC, que é largamente influenciado pelo padrão de consumo da África do Sul, estimado em 39,8 kg/pessoa/ano (FAOSTAT, 2024a).

### **3.2 Organização da avicultura de corte em Moçambique**

De acordo com um estudo da FAO (2013), a cadeia produtiva de frangos de corte em Moçambique pode ser segmentada conforme a capacidade produtiva das unidades de produção, em:

- 1) Unidades de pequena escala (100 a 2.000 bicos/ciclo);
- 2) Unidades de média escala (2.000 a 20.000 bicos/ciclo);
- 3) Unidades de grande escala (acima de 20.000 bicos/ciclo).

As unidades de pequena escala são maioritariamente representadas por produtores do sector familiar. Entre unidades de média escala, constam produtores dos sectores privado, associativo e/ou cooperativo. As unidades de grande escala, sendo representadas pela então União Geral de Cooperativas (UGC), *Mozambique Farms*, Associação de Avicultores de Maputo (ADAM), Associação Moçambicana de Avicultores (AMA) e Higest, na região sul do país; Frangos de Manica e Abílio Antunes, no centro do país; Novos Horizontes e Pintainhos Stewart, na região norte do país (FAO, 2013).

O sector familiar tem destacado-se como responsável pela segunda maior quota da produção nacional de frangos de corte, perdendo para o sector privado (FAO, 2013; MADER-DNDP, 2023). Entretanto, em termos económicos, um estudo recente de Chunga *et al.* (2023) demonstrou que as unidades que produzem menos de 2000 bicos/ciclo (pequena escala), são menos eficientes. Esta pesquisa sugeriu que a baixa eficiência económica nas unidades de pequena escala pode estar associada ao facto destas unidades, normalmente, não possuírem planos de negócios, sendo que apenas um terço tem os seus negócios devidamente estruturados e registados. Assim, ficam praticamente vedados de firmar acordos comerciais e limitados de aceder a financiamentos e mercados mais competitivos. Outro factor potencialmente determinante para a baixa eficiência

económica desta categoria de criadores são as altas taxas de mortalidade dos frangos, provavelmente aliadas a inobservância de medidas básicas de biossegurança.

Nos últimos 10 anos (2012 – 2022), a Província de Maputo tem liderado a produção nacional de frango, seguida pelas províncias de Nampula e Manica (FAO, 2013; MADER-DNDP, 2023). Isto pode estar aliado, entre outras razões, ao facto desta província ostentar a maior cadeia de valor avícola, composta por quase todos os intervenientes desta cadeia, desde incubadoras, fornecedores de insumos, diferentes segmentos de criadores (independentes, integrados e/ou associados; do sector familiar e comercial/privado) e matadouros para o processamento.

### **3.3 Antimicrobianos e seu uso na produção animal**

São designados agentes antimicrobianos, todas as substâncias químicas de origem natural, semi-sintética ou sintética, capazes de eliminar, inactivar ou inibir a proliferação de microrganismos. Estes agentes podem ser classificados em específicos ou inespecíficos. São considerados inespecíficos, os antimicrobianos que actuam sobre os microrganismos no geral, sejam eles patogénicos ou não. Fazem parte deste grupo, os antissépticos, aplicados sobre a pele e mucosas, e os desinfetantes, empregues em superfícies e objectos (Spinosa e Tarraga, 2017).

Na produção animal, os antimicrobianos inespecíficos são principalmente usados para auxiliar na higienização e desinfecção das instalações zootécnicas e dos materiais médico-cirúrgicos, afim de garantir a sanidade animal. São também usados na indústria de processamento de alimentos de origem animal, para a higienização e desinfecção das instalações industriais, assim como de equipamentos e utensílios que entram em contacto com os produtos de origem animal (Spinosa e Tarraga, 2017)

Antimicrobianos específicos são aqueles que actuam sobre microrganismos patogénicos - capazes de causar doenças (Spinosa e Tarraga, 2017). Estes podem ser estratificados com base no grupo de microrganismos sobre os quais actuam, em antibacterianos ou antibióticos (activos contra bactérias), antifúngicos (activos contra fungos), antivirais (activos contra vírus) e antiparasitários (activos contra parasitas microscópicos).

Na produção animal, os antibióticos e/ou quimioterápicos são administrados aos animais, tanto por via oral, como por via parenteral e/ou tópica, para tratar ou prevenir doenças, e ainda como estimulantes do crescimento (Spinosa e Tarraga, 2017). Mais de 70% de todos os antimicrobianos específicos consumidos a nível global são usados na produção animal ou medicina veterinária (Van Boeckel *et al.*, 2017). Para esta utilidade, o grupo de antibióticos tem merecido maior atenção (Spinosa e Tarraga, 2017).

### 3.3.1 Antibióticos

Os antibióticos são actualmente definidos como “substâncias químicas sintetizados por algumas espécies de fungos e certas bactérias (metabólitos), incluindo seus equivalentes sintéticos (quimioterápicos), com actividade medicamentosa, sendo capazes de, em doses ínfimas, eliminar ou inibir o crescimento de microorganismos infecciosos” (Spinosa e Tarraga, 2017). O termo antibiótico restringe-se à substâncias com actividade antimicrobiana específica contra agentes infecciosos bacterianos, não sendo efectivos contra infecções causadas por fungos ou vírus (Mehdi *et al.*, 2018).

Na produção animal, os antibióticos são usados tanto para fins terapêuticos como não terapêuticos. Segundo Spinosa e Tarraga (2017), trata-se de fins terapêuticos quando os antibióticos são usados para os seguintes propósitos:

- Acção curativa - uso de antibiótico para tratar uma infecção bacteriana previamente diagnosticada;
- Acção metafilática - tratamento de um lote inteiro de animais com um ou alguns animais infectados e, portanto, os restantes em risco de serem infectados;
- Acção profiláctica / preventiva - administração de antibióticos antes da infecção, para prevenção do risco de infecção, incluindo o tratamento estruturado e recorrente de um grupo de animais, para prevenir doenças relacionadas a biossegurança e higiene deficitárias.

A acção curativa dos antibióticos pode ser bactericida, quando destroem a estrutura celular da bactéria, causando a sua morte, ou bacteriostática, quando enfraquecem as bactérias, inibindo a sua proliferação e/ou favorecendo a sua fagocitose pelo sistema imunológico (Spinosa e Tarraga, 2017).

Ainda de acordo com Spinosa e Tarraga (2017), os fins não terapêuticos correspondem ao uso de antibióticos não com o propósito de tratar nem prevenir doenças, mas sim como promotores de crescimento, através do controlo da flora intestinal para melhoria da eficiência da conversão alimentar e consequente aumento do ganho médio diário do peso.

Spinosa e Tarraga (2017) referem que os antibióticos são classificados com base na sua estrutura química, grupo de bactérias contra as quais agem (espectro de acção), assim como o modo de acção. Os critérios de estrutura química e modo de acção são conjugados para a definição das famílias ou classes farmacológicas dos antibióticos (Tabela 1).

**Tabela 1:** Classes farmacológicas dos principais antibióticos usados na avicultura

<b>Estrutura química</b>	<b>Mecanismo de acção</b>	<b>Classe farmacológica</b>	<b>Antibióticos/quimioterápicos representantes</b>
Derivados de aminoácidos	Inibição da síntese da parede celular	Beta-lactâmicos (penicilinas e cefalosporinas)	Penicilina G, V; Ampicilina; Amoxicilina; Cefazolina
		Bacitracinas	
		Vancomicinas	
	Alteração da função da membrana plasmática	Polimixinas	Polimixina B, C, E (colistna)
Derivados de açúcares	Inibição da síntese proteica	Aminoglicosídeos	Estreptomicina; Gentamicina; Neomicina; Espectinomicina
		Macrolídeos	Eritromicina; Tilosina; Espiramicina; Kitasamicina; Tilmicosina
		Lincosamidas	Lincomicina
		Cloranfenicóis	Cloranfenicol
Derivados do acetato e propionato	Inibição da síntese de ácidos nucleicos	Tetraciclina	Tetraciclina; Oxitetraciclina; Clortetraciclina; Doxicilina
		Rifampicinas	
		Polienos	Anfotericina B
Outras	Inibição da síntese de ácidos nucleicos	Novobiocina	
		Quinolonas	Ácido nalidíxico; Flumequina; Ácido oxolínico
		Fluoroquinolonas	Enrofloxacina; Ciprofloxacina
	Antagonismo metabólico	Sulfas e derivados	Sulfadiazina; Sulfametazina; Trimetoprima

Fonte: Adaptado de Spinosa *et. al.* (2017)

### **3.3.2 Uso de antibióticos na produção avícola**

Como forma de responder à evidente demanda crescente da carne de frango, tem-se como saída a intensificação dos sistemas de criação. Isto pode implicar a criação de um grande número de aves em espaços reduzidos e nalgumas vezes não sendo possível observar certas medidas de biossegurança. Com isso, as aves tornam-se mais susceptíveis a contrair infecções cujo tratamento depende do uso de fármacos veterinários, com ênfase para os antibióticos (Kumar *et al.*, 2019).

Na indústria avícola, os antibióticos podem igualmente ser usados, em doses sub-terapêuticas, como promotores do crescimento dos frangos de corte, através do controlo de infecções gastrointestinais e modificação da microbiota intestinal, possibilitando a melhoria da taxa de conversão alimentar e ganho de peso (Mehdi *et al.*, 2018).

Uma pesquisa feita no Vietnã por Huong-anh *et al.* (2020), revelou que antibióticos de amplo espectro, sobretudo das famílias de tetraciclina, fluoroquinolona e sulfonamida são largamente usados na avicultura de corte naquele país asiático, de clima similar ao de Moçambique (clima tropical, com prevalência de 2 estações anuais), onde as aves são principalmente vulneráveis a problemas respiratórios e infeções do trato gastrointestinal.

Pesquisas feitas em vários pontos do mundo têm demonstrado que os avicultores precisam melhorar as suas práticas de uso de antimicrobianos. Por vezes os avicultores demonstram possuir conhecimentos teóricos e atitudes positivas, no entanto, quando observados na prática, poucos aplicam efectivamente as boas práticas de uso de antimicrobianos (Chilawa *et al.*, 2023; Huong-anh *et al.*, 2020).

No Kenya, Kariuki *et al.* (2023) investigaram as práticas de uso de antibióticos na avicultura e seus determinantes, tendo-se constatado que os avicultores usam extensivamente antibióticos. A ocorrência de doenças, o fácil acesso aos medicamentos veterinários e a pressão económica para a lucratividade foram apontados como os principais determinantes para esse padrão de uso. Entre as práticas inadequadas de uso de antimicrobianos (AMU) comumente observadas, destacou-se o uso profilático de antibióticos e/ou como promotores de crescimento e o uso de antibióticos combinados (mais de um princípio activo), incluindo princípios considerados críticos para a medicina humana (Kariuki *et al.*, 2023).

### **3.3.3 Indicadores quantitativos do uso de antibióticos**

A quantificação do uso de antimicrobianos na produção animal é feita na base de indicadores. De modo geral, os indicadores de AMU expressam a proporcionalidade da quantidade de antimicrobianos consumidos pela quantidade de animais (biomassa ou número de indivíduos) em risco de serem tratados por esses antimicrobianos num determinado período (Collineau *et al.*, 2017).

Segundo Collineau *et al.* (2017) e Sanders *et al.* (2020), os indicadores de AMU podem ser classificados com base na unidade técnica de medida consumida pela população em risco de ser tratada num determinado período (numerador):

- Indicadores baseados em massa – tem como numerador o custo de tratamento, peso da substância activa, quantidade de pacotes ou itens usados diariamente;
- Indicadores baseados na dose – tem como numerador o peso vivo tratado,
- Indicadores baseados na contagem – tem como numerador o número de dias recebendo tratamento completo, número de indivíduos em tratamento.

Os indicadores que usam como denominador a biomassa de animais em risco de serem tratados são (aparentemente) os mais comuns e de fácil interpretação, segundo (Collineau *et al.*, (2017), designadamente:

- Custo de tratamento / kg de carcaça;
- Quantidade de substância activa / kg de peso vivo (ou carcaça) ou Unidade de Correção Populacional (PCU - que representa o número total de animais vivos ou abatidos, multiplicado pelo peso médio no momento do abate)
- Nível de exposição dos Animais aos Antimicrobianos (ALEA).

Dos indicadores acima arrolados, a “quantidade de substância activa / PCU”, um indicador baseado em massa, tem sido largamente usado em muitas abordagens sobre as tendências globais de AMU. Para o efeito, geralmente faz-se modelagem estatística, combinando dados de efectivos pecuários ou mapas de densidade animal, com dados de consumo, venda ou importação de antimicrobianos (Mulchandani *et al.*, 2023; Van Boeckel *et al.*, 2015).

Já foram identificados pelo menos 38 sistemas de monitoria de AMU em 16 países, os quais usaram abordagens claramente diferentes de colheita, tratamento e reporte de dados para a determinação dos indicadores de AMU. Isto denota a necessidade de harmonização das diferentes abordagens, tendo em vista a melhoria da interpretação e facilitar a comparabilidade entre países nesse aspecto (Sanders *et al.*, 2020).

Van Boeckel *et al.* (2015) estimaram em 148 mg/PCU o nível de AMU na produção avícola, a nível global, num cenário em que projectou-se um aumento do consumo em 67% no período de 2010 à 2030. Acreditava-se que 1/3 desse aumento viria a ser impulsionado pela viragem dos sistemas de produção nos países de baixa à média renda, em que as unidades de produção pouco intensivas, de pequena escala, poderão evoluir ou ser substituídas por aquelas altamente intensivas, de média a grande escala, que demandam grandes quantidades de antimicrobianos (Van Boeckel *et al.*, 2015). Entretanto, estimativas mais recentes apontaram para uma aparente redução do consumo de antimicrobianos na produção avícola. Mulchandani *et al.* (2023) sugeriram um consumo global de 45.4 mg/PCU. Salientar que este nível de AMU foi deduzido a partir de 229 países, dos quais 42 reportaram dados concretos de venda, consumo, ou importação de antimicrobianos, usados para a determinação do seu nível de AMU, tendo servido igualmente para a extrapolação estatística da AMU nos restantes 187 países que não reportaram esses dados.

### **3.3.4 Padrão de uso de antibióticos na avicultura em alguns países da África Austral**

Compreender o padrão de uso de antimicrobianos (AMU) na produção animal é uma preocupação que cresce a cada dia, motivada principalmente pela emergência cada vez generalizada, da resistência antimicrobiana (AMR) em patógenos de interesse na saúde pública. A preocupação é

ainda maior nos países pouco desenvolvidos, nos quais há ainda fraca legislação e restrição sobre AMU na produção animal. Este cenário favorece o potencial uso indiscriminado destes insumos de produção, sobretudo em actividades pecuárias intensivas como a avicultura de corte (Azabo *et al.*, 2022; Chilawa *et al.*, 2023; Kariuki *et al.*, 2023).

Um estudo observacional transversal recentemente conduzido em Dar-Es-Salaam, Tanzania, reportou uso pelos avicultores, de um total de 17 princípios antibióticos pertencentes a sete (07) classes farmacológicas. Beta-lactâmicos, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclina e macrolídeos foram as classes mais usadas. Esses antibióticos foram maioritariamente usados para propósitos terapêuticos (tratamento de infeções). A sobredosagem e a não observância dos períodos de suspensão foram reportados como principais práticas inadequadas no uso de antimicrobianos (Azabo *et al.*, 2022).

### **3.3.5 Uso imprudente de antibióticos na produção animal e seus impactos na saúde pública**

De acordo com ASEAN (2017) e Magnusson *et al.* (2020), podem corresponder ao uso imprudente de antibióticos na produção animal, os aspectos relacionados com a tomada de decisão sobre o seu uso, designadamente:

- (1) Falta de prescrição ou prescrição desnecessária de antibiótico;
- (2) Início tardio do tratamento com antibiótico apropriado;
- (3) Uso frequente de antibióticos de amplo espectro ou uso inapropriado de antibióticos de estreito espectro e/ou considerados críticos para a medicina humana;
- (4) Encurtamento ou alongamento da duração do tratamento com antibióticos;
- (5) Falta de reavaliação do tratamento antibioterapêutico com base nos resultados laboratoriais e na evolução clínica.

Entretanto, ainda segundo as nuances de ASEAN (2017) e Magnusson *et al.* (2020), percebe-se que mesmo quando acertada a decisão sobre a necessidade do seu uso, existem ainda, outras situações relacionadas com a administração de antibióticos aos animais, que também concorrem, como uso imprudente de antibióticos, que incluem:

- (1) Prescrição mal respeitada (sobredosagem ou subdosagem; encurtamento ou alongamento do tempo de tratamento)
- (2) Administração de antibióticos em desuso (fora do prazo) ou mal conservados;
- (3) Má homogeneização do frasco, no caso de antibiótico injectável, ou má diluição, para administração oral;
- (4) Superestimação ou subestimação do peso do animal ou biomassa a ser tratada.

O fraco conhecimento e atitudes ou práticas negativas sobre AMU e AMR foram recentemente documentados entre avicultores de países em desenvolvimento, nos quais observa-se uma tendência crescente do uso de antibióticos na produção avícola (Chilawa *et al.*, 2023).

Entretanto, o uso de antibióticos na produção avícola, quando feito de forma irracional ou irresponsável, pode apresentar impactos negativos na saúde humana, animal e no meio ambiente. As principais consequências do uso irresponsável de antibióticos incluem o desenvolvimento da resistência antimicrobiana e a ocorrência de resíduos nos produtos de origem animal usados na alimentação humana (Mehdi *et al.*, 2018). Adicionalmente, esses resíduos podem comprometer a resposta imunitária em indivíduos susceptíveis e/ou causar desordens na microbiota intestinal (Mund *et al.*, 2017; Okocha *et al.*, 2018).

O uso inapropriado de antibióticos na produção animal, sobretudo a sua administração em doses subterapêuticas concorre como uma das principais causas do desenvolvimento da AMR, levando a redução de alternativas terapêuticas para o tratamento de patologias comuns, tanto na medicina veterinária como na humana (Kumar *et al.*, 2019). Dentre os vários riscos à saúde do consumidor, resultantes do consumo de produtos de origem animal contendo resíduos de antibióticos, o surgimento de estirpes bacterianas resistentes aos antimicrobianos mais usados no tratamento de infecções comuns na medicina humana, é cada vez mais preocupante.

A título ilustrativo, numa pesquisa recente, Gestels *et al.*, (2024) demonstraram que doses de ciprofloxacina 10 vezes menores do que aquelas classificadas como aceitáveis para ingestão diária, podem induzir resistência da *Klebsiella pneumoniae* à este antibiótico. Este achado sugeriu que seria prudente reconsiderar os critérios utilizados para determinar os limites considerados “seguros” da concentração de resíduos de antibióticos nos alimentos, passando a incluir a indução de resistência antimicrobiana como um critério importante.

### **3.3.6 Estratégias para reduzir o uso de antibióticos na produção de frangos**

Apesar de reconhecidos os potenciais impactos negativos decorrentes do uso excessivo e indiscriminado de antibióticos na produção avícola, eliminar o seu uso na totalidade parece ser um caminho quase impossível. Entretanto, existem várias estratégias, que se constituem principalmente de medidas técnicas e/ou práticas que podem ser adoptadas neste sector, de modo a pelo menos, reduzir ou minimizar a dependência por antimicrobianos (Mehdi *et al.*, 2018). Algumas dessas medidas é que possibilitam a efectivação dos sistemas orgânicos de produção avícola (Abd El-Hack *et al.*, 2022)

As principais medidas técnicas para este propósito incluem, fundamentalmente, as boas práticas de manejo, medidas de biossegurança, vacinação das aves, avaliação custo / benefício, uso de

antibióticos apenas mediante diagnóstico e prescrição veterinária e/ou tratamento apenas de bandos efectivamente doentes (Magnusson, 2021). Contribui ainda para o mesmo propósito, o uso de alternativas naturais aos antibióticos, incluindo probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, óleos essenciais, enzimas, imunostimulantes e fitogénicos ou fitobióticos (Abd El-Hack *et al.*, 2022).

Para facilitar a sua interpretação e efectivação, a FAO resumiu as principais medidas técnicas, numa série de 11 recomendações práticas (em formato de cartaz) que podem ser adoptadas ao nível das explorações avícolas, designadamente (FAO, 2021):

1. **Uso prudente de antibióticos:** administrá-los apenas para aves que tenham sido diagnosticadas e/ou seus contactos, devendo ser administrados na água e não na ração; evitar o uso preventivo de antibióticos ou como promotores de crescimento;
2. **Manutenção de alto nível de biosegurança (conceptual / estrutural e operacional):** localizar o aviário longe de áreas vulneráveis a contaminações; restringir o acesso a visitantes, assegurando a correcta desinfectação de fómites que eventualmente entrem na exploração; vedar acessos de pragas e animais selvagens e praticar a estratégia de “tudo-dentro tudo fora” no alojamento e expedição das aves;
3. **Cumprimento dos programas regulares de vacinação:** usar vacinas de qualidade comprovada, devendo armazená-las, manuseá-las e administrá-las conforme as instruções do fabricante;
4. **Vigilância activa:** inspeccionar diariamente a condição de saúde e comportamento das aves, de modo a intervir prontamente, quando necessário.
5. **Monitoria regular do ambiente:** garantir boa ventilação, iluminação, proporção de equipamentos de alimentação e abeberamento, assim como adequado espaço vital ou densidade de alojamento.
6. **Uso de aditivos alternativos aos antibióticos na ração:** na formulação de rações, adicionar compostos naturais com propriedades antibacterianas ou que promovam uma microflora saudável no trato gastrointestinal das aves, incluindo prebióticos, probióticos, óleos essenciais, ácidos orgânicos e fibras insolúveis.
7. **Preparação adequada do aviário:** limpar e desinfectar correctamente as instalações e equipamentos antes do alojamento de aves novas, tendo garantido a observância do intervalo de segurança entre os ciclos produtivos.

8. **Alojamento de aves saudáveis:** adquirir pintos de fontes confiáveis, de modo a assegurar que sejam precedentes de matrizes saudáveis e vacinadas.
9. **Recepção adequada dos pintos:** evitar situações de stress logo no princípio, garantindo acesso a ração e água que satisfaçam as exigências nutricionais e fisiológicas das aves nesta fase crítica do ciclo produtivo.
10. **Uso de água de boa qualidade:** garantir a disponibilidade de água de elevado padrão de qualidade higiénico-sanitária, devendo limpar e desinfetar regularmente os sistemas de armazenagem e abastecimento de água às aves.
11. **Fornecimento de ração adequada:** garantir que a ração fornecida às aves seja de qualidade higiénica apropriada, e contenha suficiente valor energético e óptimo balanço nutricional de macro e micronutrientes, privilegiando rações à base de matérias-primas vegetais.

Além das medidas técnicas acima arroladas, já foram igualmente propostas algumas medidas políticas para reduzir o uso de antimicrobianos na produção animal (de modo geral), incluindo: a adopção e fiscalização de regulamentação global para limitar o uso de antimicrobianos; adesão às directrizes nutricionais que promovem a redução do consumo de alimentos de origem animal e aplicação de taxas sobre o uso de medicamentos veterinários (Van Boeckel *et al.*, 2017).

### **3.3.7 Monitoria de resíduos de antibióticos em produtos de origem animal**

Para monitorar a ocorrência de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos de origem animal, a *Codex Alimentarius* estabeleceu os Limites Máximos de Resíduos (LMR), definidos como “a concentração máxima de resíduo resultante do uso de um medicamento veterinário, legalmente permitida ou reconhecida como aceitável no alimento” (CAC Secretariat, 2018).

Os LMR's são expressos em mg/kg ou µg/kg (numa base de peso fresco), cujos valores são estabelecidos por entidades legislativas ou normativas de vários países e regiões (Mund *et al.*, 2017). Países que não estabeleceram LMR próprios (caso de Moçambique), adoptam os definidos pelo *Codex Alimentarius*, que já estabeleceu LMR para cerca de 60 substâncias farmacologicamente activas (Codex Alimentarius, 2018).

Em produtos avícolas, os LMR's definidos pelo *Codex Alimentarius* variam para antibióticos dos diferentes grupos farmacológicos mais usados na avicultura. Assim, para beta-lactâmicos (amoxicilina, benzilpenicilina, ampicilina) estabeleceu-se LMR's de 50 µg/kg, 100 µg/kg para sulfonamidas (sulfadimidina) e macrolídeos (eritromicina, tilosina), 100 a 6000 µg/kg para tetraciclina (oxitetraciclina) e 500 a 1000 µg/kg para aminoglicosídeos (neomicina) (Codex Alimentarius, 2018; The European Commission, 2010).

### **3.3.8 Métodos e técnicas de análise de resíduos de antimicrobianos**

De acordo com uma revisão extensiva da literatura, feita por Vishnuraj *et al.* (2016), existem disponíveis vários métodos e técnicas para a análise de resíduos farmacológicos em produtos de origem animal. Para melhor abordagem, são classificados em métodos de rastreio qualitativo ou semi-quantitativo e métodos de confirmação quantitativa. O primeiro grupo inclui os ensaios de inibição microbiana (técnicas de difusão em agar), ensaios imuno-enzimáticos (ELISA) e a Cromatografia em Camada Delgada (TLC). Já os métodos de confirmação quantitativa incluem técnicas sofisticadas como, principalmente, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e Cromatografia Líquida acoplada a Espectrofotometria de Massa (LC-MS) (Vishnuraj *et al.*, 2016).

#### **3.3.8.1 Ensaios de inibição microbiana**

Já foi largamente documentado na literatura que os métodos microbiológicos foram a primeira opção ou alternativa usada no rastreio de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. Esses métodos foram desde o princípio, desenvolvidos para auxiliar nas monitorias feitas pela indústria de laticínios, com o intuito de prevenir potenciais interferências nos processos fermentativos. Só a partir da década de 1970 foi alargada a aplicação destes métodos, passando a abarcar outros produtos de origem animal: carnes e ovos. Apesar da sua antiguidade, os métodos microbiológicos continuam válidos e largamente usados na monitoria de resíduos de medicamentos em quase todos os produtos de origem animal (Pikkemaat, 2009; Pikkemaat *et al.*, 2011).

Existem basicamente dois (2) formatos destes testes: em tubos e em placas. O formato de teste em tubos consiste num meio de cultura inoculado com uma bactéria de sensibilidade conhecida e suplementado por um indicador redox ou de pH. Sob incubação à temperatura adequada, a bactéria inoculada inicia o crescimento e como resultado do seu metabolismo acidifica o meio, o que será indicado pela mudança de cor (resultado negativo). Em contraste, a presença de um princípio antimicrobiano inibe ou atrasa a mudança de cor (resultado positivo) (Gondová *et al.*, 2014). Este modelo é principalmente usado para a triagem de rotina em produtos na natureza líquida, com destaque para o leite e derivados. Como forma de conferir praticidade de aplicação nos controlos de rastreio rotineiros (em campo e/ou no laboratório), foram desenvolvidas variantes comerciais deste modelo de testes, que incluem as principais variantes comerciais de kits rápidos, *Delvo-test* e o *Premi-test*. Por se ter demonstrado possuir um desempenho analítico comparável aos métodos de referência baseados na inibição do crescimento microbiano, o *Premi-test* foi validado pela Agência Francesa de Normalização (AFNOR), para a análise de resíduos de antimicrobianos em tecidos animais (Gaudin *et al.*, 2008).

Já o modelo de teste em placas consiste em uma camada de meio de cultura, igualmente inoculado de bactéria sensível. Para o efeito, porções de tecido são depositadas na superfície do meio em placas, ou extractos fluídos são depositados em poços perfurados no agar. Na presença de

princípios antimicrobianos, sob incubação à temperatura ideal, haverá inibição do crescimento microbiano (criação de orla opaca) em certo raio à volta da porção de tecido ou poço com extracto fluído da amostra (Pikkemaat, 2009).

Os testes de inibição do crescimento microbiano tem sido a primeira opção para o rastreio de resíduos de antimicrobianos em produtos alimentares (Pikkemaat *et al.*, 2011). Diversas variantes do modelo de teste de inibição em placas (difusão em agar) já foram propostas e validadas. Destaque vai para a técnica de 4 placas, validada na União Europeia e abreviadamente conhecida como “EU4pt”. A técnica de quatro placas foi particularmente validada pela Agência Francesa de Segurança de Alimentos (AFSSA), como método oficial para o rastreio de resíduos de antibióticos em produtos de origem animal naquele país europeu (Heitzman, 1994).

A validade analítica de um teste é dependente da sua conformidade com os parâmetros de desempenho e/ou robustez (eficácia e eficiência). A eficácia do teste de inibição microbiológica em 4 placas está relacionada com a sua capacidade de detectar níveis de antibióticos acima do LMR de diversas famílias de antibióticos, incluindo beta-lactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos e macrolídeos (Hakem *et al.*, 2013). De modo geral, a eficiência dos métodos microbiológicos foi sempre justificada pelo seu baixo custo e alta abrangência, sendo capazes de detectar um amplo espectro de antibióticos numa única análise (Pikkemaat, 2009). Estes ensaios são de grande valia em situações de limitações financeiras ou constrangimentos materiais, por ser um método simples e rápido para um rastreio relativamente robusto e preciso (Hakem *et al.*, 2013).

Várias pesquisas vêm demonstrando que com a combinação de diferentes bactérias de testagem é possível a detecção mais precisa e de amplo espectro de antibióticos. A título ilustrativo, já foram propostas outras variantes do teste de inibição microbiana, que possibilitam a detecção simultânea e identificação presuntiva de todos os grupos de resíduos detectáveis pela técnica de 4 placas e ainda o grupo de quinolonas. Destacam-se nesse sentido, os modelos STAR (*Screening Test for Antibiotic Residues*) e NAT (*Nouws Antibiotic Test*) (Gondová *et al.*, 2014)

### **3.3.8.2 Principais limitações dos ensaios de inibição microbiana**

É inquestionável a utilidade destes testes no rastreio de resíduos de substâncias antimicrobianas em produtos avícolas, sobretudo em contextos de limitados recursos materiais e financeiros, resultando principalmente em fraca capacidade laboratorial (Hakem *et al.*, 2013). Entretanto, vários autores, como Gondová *et al.* (2014); Pikkemaat *et al.* (2011); Okerman *et al.* (1998) já destacaram algumas limitações destes testes, que constituem desafio ao seu desempenho analítico:

- São trabalhosos e demorados, e portanto, mais susceptíveis à ocorrência de erros de procedimento pelo analista;
- Têm pouca precisão analítica, ou seja, são passíveis à ambiguidade na leitura dos resultados, por ser largamente influenciada pela visão e interpretação do analista;

- Apresentam baixa sensibilidade e especificidade, sendo susceptíveis a apresentar resultados falsos-negativos e falsos-positivos;
- Podem sofrer interferência da flora contaminante potencialmente presente na matriz amostral, sobre a bactéria-teste, dificultando a leitura dos resultados.

Portanto, pela presente revisão bibliográfica ficou ainda mais evidente a necessidade de produção e divulgação de conhecimentos locais, no que diz respeito ao real padrão de uso de antimicrobianos na produção animal de modo geral, e particularmente na avicultura. Evidências científicas locais são igualmente necessárias reactivamente ao desenvolvimento de capacidade laboratorial, conforme as condições localmente disponíveis, para o rastreio de potenciais resíduos de substâncias antimicrobianas nos produtos avícolas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Tipo, período e variáveis do estudo

O estudo foi conduzido em duas componentes: observacional (transversal) e experimental. A componente observacional (parte 1) decorreu no período de Dezembro de 2021 à Setembro de 2022 e a experimental (parte 2) decorreu de Maio à Julho de 2023

A parte 1 seguiu uma abordagem descritiva, tendo como variáveis qualitativas o perfil sócio-demográfico dos avicultores, seus conhecimentos, práticas e atitudes sobre o uso de antimicrobianos e a relação dos grupos de antimicrobianos mais usados na produção de frangos, e como variável quantitativa, a estimativa da quantidade de antimicrobianos usados para produzir 1kg de carne de frango.

A parte 2 seguiu uma abordagem analítica, tendo como variáveis os parâmetros qualitativos e quantitativos de validação analítica da técnica de análise.

### 4.2 Área de estudo

A pesquisa foi conduzida na região de Maputo (província e cidade), extremo sul de Moçambique. Esta região é caracterizada por um clima predominantemente tropical, com prevalência de 2 estações, uma estação quente e chuvosa (Outubro a Março) e outra fria e seca (Abril a Setembro).

A Província de Maputo possui cerca de 26.058 km<sup>2</sup> de extensão territorial, albergando uma população que foi estimada em pelo menos 2.507.098 habitantes (Instituto Nacional de Estatística, 2017). Administrativamente, é dividida em 8 distritos, designadamente Matutuine, Namaacha, Boane, Matola, Maomba, Marracuene, Manhiça e Magude. Detém a maior cadeia produtiva avícola a nível nacional, quase completa, desde incubadoras de pintos-do-dia, indústria de rações e uma cadeia de processamento que conta com 2 matadouros industriais.

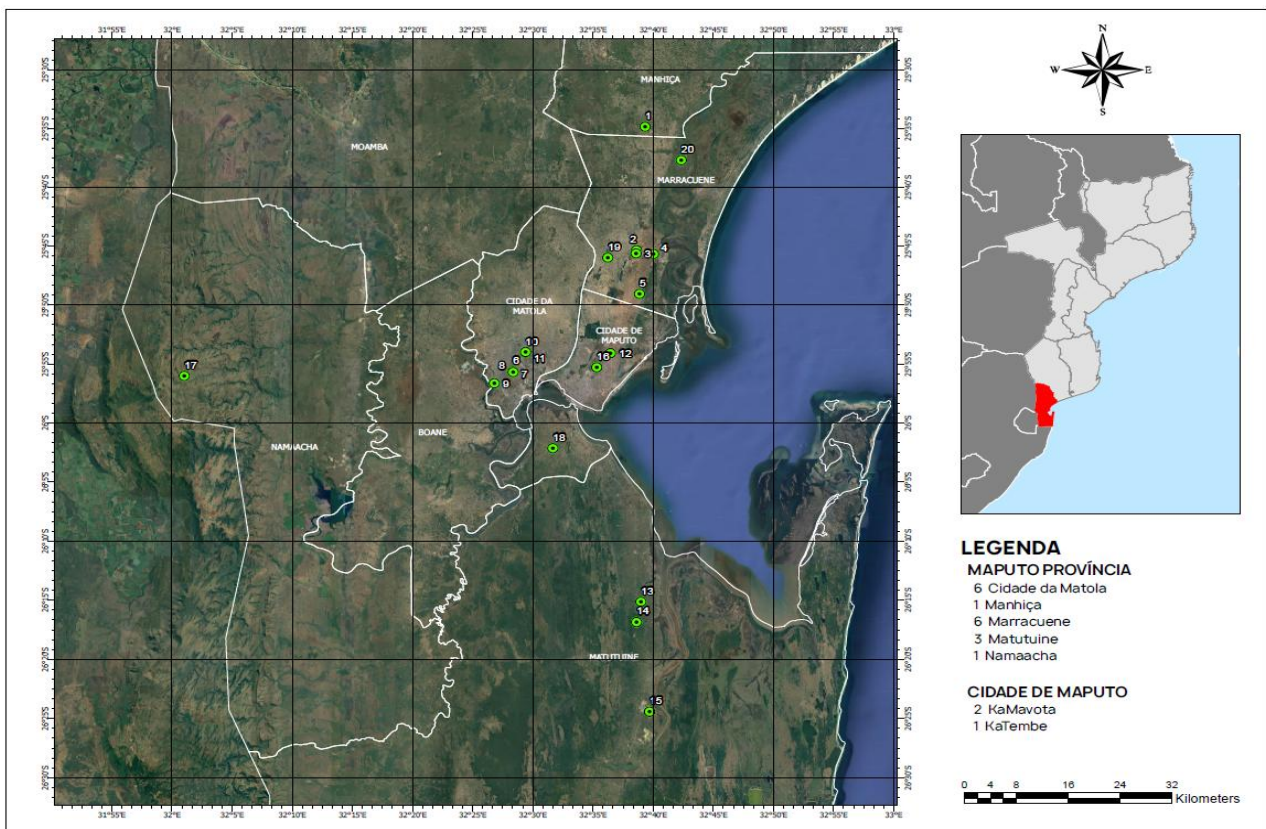
A Cidade de Maputo ocupa uma área geográfica de aproximadamente 346 km<sup>2</sup>, com uma população estimada em pelo menos 1.127.565 habitantes (Instituto Nacional de Estatística, 2017). Administrativamente é repartida em 7 Distritos Municipais nomeadamente: Ka Mubukwani, Ka Mavota, Ka Nihamankulu, Ka Maxaquene, Ka Mpfumo, Ka Nyaka e Ka Tembe. A Cidade de Maputo constitui o principal mercado consumidor de produtos alimentares processados, incluindo a carne de frango, dado o seu nível de urbanização, possuindo a maior rede de centros de distribuição e consumo (mercados, supermercados, serviços de restauração, *catering* e/ou similares).

### 4.3 Desenho do estudo

#### Parte 1: Uso de antimicrobianos na produção de frangos

##### i) Amostragem e selecção do grupo-alvo

Efectou-se uma amostragem não probabilística (por conveniência), abrangendo vinte (20) aviários. Conforme ilustra a figura I, foram seleccionados 17 aviários ao nível da Província de Maputo, nos distritos da Matola (6), Marracuene (5), Matutuine (3), Namaacha (1), e Manhiça (1) e três ao nível da Cidade de Maputo, nos Distritos Municipais Ka-Mavota (2) e Katembe (1). Foram criadas categorias de criadores com base na escala de produção: pequena escala (até 500 aves por ciclo), média escala (501 a 15.000 aves por ciclo) e grande escala (acima de 15.000 aves por ciclo). Esta categorização foi baseada nas actuais características diferenciais observadas, em termos das condições das infraestruturas e tecnologias de criação aplicadas, não coincidindo com a classificação das explorações avícolas proposta pela FAO (2013).



**Figura 1:** Mapa da cidade e província de Maputo, ilustrando a distribuição dos locais de amostragem.  
**Nota:** Os pontos marcados e enumerados correspondem às localizações dos aviários, nomeadamente, na província de Maputo: Cidade da Matola [Fomento (6, 7, 8), Matola C (9), Machava-sede (10,11)], Manhiça [Ngalunde (1)], Marracuene [Zinthava (2), Mapulango (3,4), Cumbeza (5), Agostinho-Neto (19), Guava(20)], Namaacha [Matianine(17)], Matutuine [Mugadine (13), Kufa (14), Mudada(15)]. Na cidade de Maputo: KaMavota [(Laulane (12), Mavalane "A"(16)) e Katembe [Chamissava (18)]. As geo-referências para cada ponto foram recolhidas usando o Google Maps e o mapeamento foi feito com auxílio do programa ArcGIS pro 2.6, ESRI Inc., Redlands, California, USA.

## ii) Colheita de dados

Para a colheita de dados sobre as tendências de uso de antimicrobianos na produção de frangos foram feitas visitas semanais aos aviários selecionados, acompanhando o ciclo produtivo desde a recepção de pintos de um dia até à saída do lote. Em cada unidade foram monitorados pelo menos dois (2) lotes de aves. Nos aviários onde não foi possível repetir a monitoria do ciclo, por razões diversas, foi feita substituição das unidades de produção por outras de características similares, na mesma região.

Os dados foram colhidos com o uso de um questionário semi-estruturado sobre o uso de medicamentos, administrado individualmente a cada avicultor seleccionado. O questionário abordou aspectos relacionados com as práticas e conhecimentos sobre o manejo sanitário das aves (ênfase para o uso de antimicrobianos) e nível de consciência sobre ocorrência de resíduos de fármacos na carne de frango, resistência antimicrobiana, para além do seu impacto na segurança de alimentos e saúde pública (Anexo 1).

Foi igualmente recolhida informação sobre os antimicrobianos usados, incluindo o nome comercial, os princípios activos, número de animais tratados, dose e duração do tratamento, via de administração, propósito de uso e peso das aves no fim de cada lote, entre outras (Anexo 2).

## iii) Determinação das variáveis quantitativas

Para a quantificação do uso de antimicrobianos, foram considerados três (3) indicadores, designadamente:

- **Quantidade total consumida** – indicador usado para estimar a quantidade do ingrediente activo (moléculas que realmente têm efeito antimicrobiano) usada pelo bando durante o ciclo de criação. Foi determinado aplicando a seguinte fórmula:

$$\text{Quantidade total consumida} = \text{Quantidade usada} \times \text{Parte do ingrediente activo (mg)}$$

- **Quantidade consumida por ave** – indicador usado para estimar o consumo individual de antimicrobianos pelas aves. Foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$\text{Quantidade consumida/ave} = \frac{\text{Quantidade total consumida (mg)}}{\text{Número total de aves (ave)}}$$

- **Quantidade consumida para produzir 1kg de peso vivo de frango** – indicador usado para estimar a quantidade de antimicrobianos necessária para produzir um quilograma de peso vivo de frango. Foi calculado usando a seguinte fórmula:

$$\text{Quantidade para produzir 1kg de pv} = \frac{\text{Quantidade total consumida (mg)}}{\text{Peso vivo total das aves ao abate (kg)}}$$

#### iv) Análise e interpretação dos dados

Os dados foram sistematizados e analisados através da estatística descritiva, no programa *Microsoft Office Excel*. Foram apresentados em tabelas e/ou gráficos, tornando-os mais informativos e possibilitando a sua comparação com dados de referência a nível internacional.

---

### Parte 2: Adaptação da técnica de inibição de crescimento microbiano de 4 placas para análise de resíduos dos antibióticos mais usados na produção de frangos em Maputo

---

#### i) Delineamento experimental

A partir de um lote de frangos de corte seguido desde o primeiro dia do ciclo de criação, foram seleccionados para o ensaio, 27 frangos na última semana do ciclo de produção (a partir do 21º dia). Estes foram divididos em grupos de 9, aos quais foram administrados os principais grupos de antibióticos usados na avicultura de corte em Maputo, definindo-se assim os tratamentos:

1. Tratamento I (T1): administração sulfamidas (*Agracox*)
2. Tratamento II (T2): administração de tetraciclina + aminoglicosídeos + macrolídeos + polimixinas (*Agraceryl*)
3. Tratamento III (T3): administração de fluoroquinolonas (*Enroll*)

Durante o ensaio, todos os frangos foram mantidos em único pavilhão de criação, mas em compartimentos (boxes) separados consoante o tratamento (fármaco administrado) (Figura 2 - esquerda). Foram mantidas as normais condições de manejo alimentar (ração e água), higienização dos equipamentos (comedouros e bebedouros) e controlo do ambiente (cama, temperatura, luz).



**Figura 2:** Compartimentação / disposição dos tratamentos (esquerda) e pacotes ilustrando os nomes comerciais dos medicamentos usados no ensaio.

A administração dos fármacos foi feita via água de abeberamento das aves de cada grupo, respeitando o protocolo terapêutico recomendado pelos fabricantes dos fármacos em estudo (3 dias o grupo de sulfas e 5 dias nos restantes 2 grupos). Para cada tratamento existiam 9 frangos, de

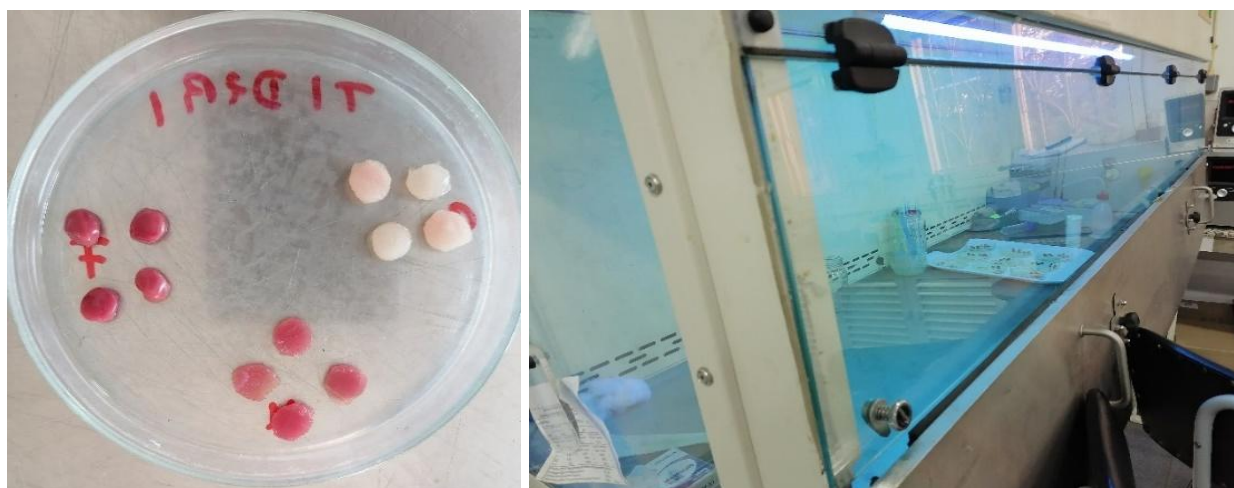
modo que, as análises foram feitas em triplicado, ou seja, 3 abatidos e analisados no segundo dia, outros 3 no quarto dia e os últimos 3 no sétimo dia após suspensão da administração dos fármacos. Aos frangos de controlo negativo, foi administrada água sem antibiótico durante os 5 dias (Anexo 3). Durante o decurso da experiência não foi observada mortalidade das aves em todos os grupos.

## ii) Análises laboratoriais

As análises de resíduos de antibióticos foram feitas pela técnica microbiológica de 4 placas (EU4pt) com algumas modificações, com destaque para o pré-tratamento das amostras, conforme descrito a seguir.

### a) Preparação e pré-tratamento das amostras

De cada frango, foram considerados 3 tecidos diferentes (músculo/carne, fígado e moela) como amostras laboratoriais. A partir de cada amostra laboratorial foram recortados pelo menos 4 pequenas porções (idealmente cilíndricas: 6mm de diâmetro e 3mm de altura) e usadas como amostras-teste (Figura 3 - esquerda). As amostras-teste foram pré-tratadas por irradiação ultravioleta, em cabine de fluxo laminar, durante 5 minutos (Figura 3 – direita), para descontaminação da potencial microflora presente no tecido animal, como forma de minimizar possíveis interferências com a bactéria-teste, no momento da leitura dos resultados.



**Figura 3:** Porções de amostras laboratoriais de cada um dos tecidos (esquerda) e posterior pré-tratamento por exposição em radiação ultravioleta, na cabine de biossegurança (direita).

### b) Preparação de suspensões bacterianas

Foram preparadas suspensões bacterianas de *Bacillus subtilis* BGA (ATCC 6051) e *Micrococcus luteus* (ATCC 9341), obtidas do bio-banco do Laboratório de Higiene e Tecnologia de Alimentos (LHTA – FAVET/UEM). Para tal, foram seleccionadas 4/5 colónias isoladas e frescas (reactivadas dentro de 24 horas) de cada bactéria-teste e inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultura *Nutrient Broth* (NB). Os tubos foram homogeneizados em vortex, obtendo-se suspensões

com uma concentração de células em torno de  $5 \times 10^4$  UFC/ml (equivalente a 5 unidades na escala de MacFarland), prontas para serem imediatamente usadas nas análises.

c) Procedimentos de análise

Antes de iniciar os procedimentos analíticos, as amostras-teste, as placas com meios de cultura e as suspensões bacterianas foram colocadas à temperatura ambiente, em condições assépticas (cabine de segurança). As placas foram devidamente identificadas/rotuladas (indicando o código da amostra, bactéria-teste, pH do meio e data da análise). Em cada placa fez-se um tracejado ilustrando a divisão em 4 quadrantes, sendo 3 para os diferentes tecidos de frango e o 4º para o disco impregnado de antibiótico, servindo de controlo. Usando zaragatoa (swab) estéril, inoculou-se por esgotamento, a cultura bacteriana correspondente em cada placa. Usando uma pinça estéril, depositou-se as porções (cilindros) de tecido e o disco do antibiótico padrão (controlo), nos respectivos quadrantes de cada placa. As placas foram incubadas em posição normal (assentadas pela base / não invertidas), à 37 °C durante 18 - 24 horas.

d) Leitura e interpretação dos resultados

Depois de pelo menos 18 horas e máximo de 24h de tempo de incubação, procedeu-se com a leitura dos resultados. Usando uma régua milimétrica, mediu-se o diâmetro do halo / zona de inibição do crescimento microbiano a volta da amostra ou disco (IZ). Um resultado positivo foi indicado pela inibição completa ou parcial do crescimento microbiano em torno da porção de tecido da respectiva amostra, em uma ou mais placas de teste, com aparecimento de uma orla inibitória de pelo menos 2mm em volta do disco ou porção de tecido em teste. Um resultado negativo foi indicado pela ausência de inibição do crescimento ao redor da porção de tecido. O teste foi repetido nos casos em que o resultado fosse inconclusivo nas quatro placas. Se novamente o resultado não fosse claramente interpretável, a amostra era declarada negativa.

e) Controlo de qualidade e validação do teste

Foram depositados discos de antibióticos de concentração conhecida em placas representativas de cada condição de testagem, para verificar a sensibilidade das bactérias-teste e definir as mais credíveis condições de operação para a realização do teste de difusão em agar. O teste foi validado através da observação do mínimo raio de inibição expectável para cada condição de testagem.

**Tabela 2:** Critérios de controlo de qualidade e validação analítica to teste

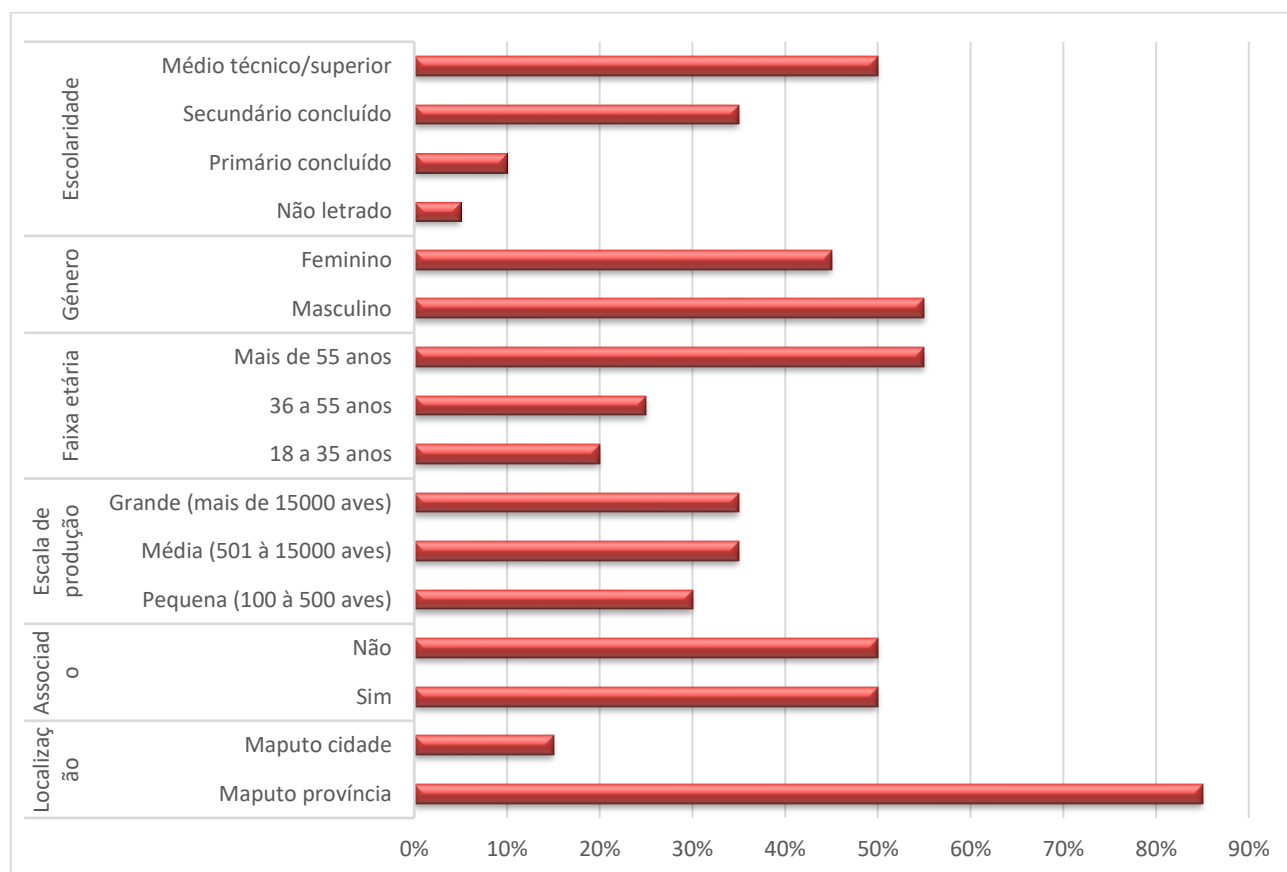
Condição de testagem	Disco-padrão (concentração)	Mínimo IZ esperado (mm)
pH 6; <i>B. Subtilis</i>	T30 (30 µg/kg)	18
pH 7.2; <i>B. Subtilis</i>	S30 (30 µg/kg)	18
pH 8.0; <i>B. Subtilis</i>	GM10 (10 µg/kg)	22
pH 8.0; <i>M. Luteus</i>	CIP30 (30 µg/kg)*	23

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Práticas do uso de antimicrobianos na avicultura de corte em Maputo

#### 5.1.1 Perfil sócio-demográfico dos avicultores

Conforme ilustrado na figura 4, os avicultores abrangidos pela presente pesquisa localizavam-se maioritariamente na província de Maputo (17/20; 85%). Metade destes (10/20; 50%) afirmaram fazer parte de algum tipo de agremiação de criadores e possuir alguma formação profissionalizante (ensino técnico-profissional ou superior). Registou-se maior participação (11/20; 55%) de indivíduos do sexo masculino, sendo do grupo etário acima de 55 anos.



**Figura 4:** Características socio-demográficas dos criadores abrangidos pelo estudo

#### 5.1.2 Conhecimentos e atitudes sobre manejo sanitário de frangos de corte

Na tabela 3 constam resumidas as atitudes dos avicultores e o seu nível de conhecimento sobre alguns aspectos do manejo sanitário dos frangos. Mais de metade dos avicultores integrados no presente estudo afirmaram que não passaram por nenhum treinamento específico sobre manejo sanitário de frangos de corte. A maioria (17/20; 85%) referiu que durante a criação tem beneficiado de assistência técnica veterinária, prestada principalmente pelos fornecedores de insumos. Mais de

metade (12/20; 60%) afirmaram produzir em ciclos sucessivos ao longo do ano, sem intervalo de repouso para o vazio sanitário.

Todos os avicultores referiram que nalguns momentos tem recorrido ao uso de antimicrobianos na criação de frangos. Sobre o propósito do uso de antimicrobianos, metade indicou primariamente fins terapêuticos (10/20; 50%), com pouco menos de metade (8/20) integrando o tratamento à profilaxia (40%) e uma minoria (2/20) a usá-los igualmente como promotores de crescimento (10%). Questionados acerca do local de aquisição dos fármacos eventualmente usados, mais de metade (12/20) informaram que os obtiveram a partir de fornecedores de insumos (60%).

Pouco mais de metade dos criadores (11/20; 55%) disseram ter pouco conhecimento acerca da ocorrência da resistência antimicrobiana (AMR) e metade (10/20; 50%) dos criadores afirmaram que têm igualmente pouco conhecimento sobre os efeitos da AMR na saúde pública.

**Tabela 3:** Atitudes e conhecimentos dos avicultores sobre o manejo sanitário de frangos

<b>Questões / Variáveis (N = 20)</b>	<b>Respostas / categorias</b>	<b>Frequência absoluta (n)</b>	<b>Frequência relativa percentual (n/N; %)</b>
<b>Uso de fármacos na criação</b>	Sim	20	100%
	Não	0	0%
<b>Assistência veterinária</b>	Sim	17	85%
	Não	3	15%
<b>Local de aquisição dos fármacos</b>	Farmácia veterinária	5	25%
	Fornecedor de insumos	12	60%
	Vários locais	3	15%
<b>Ciclos ao longo do ano</b>	Sem interrupção	12	60%
	Com interrupção	8	40%
<b>Razão para o uso dos fármacos</b>	Tratamento	10	50%
	Profilaxia	8	40%
	Promotor de crescimento	2	10%
<b>Conhecimento sobre resistência aos antimicrobianos</b>	Nenhum	5	25%
	Pouco	11	55%
	Suficiente	4	20%
<b>Conhecimento sobre efeitos da resistência na saúde pública</b>	Nenhum	6	30%
	Pouco	10	50%
	Suficiente	4	20%

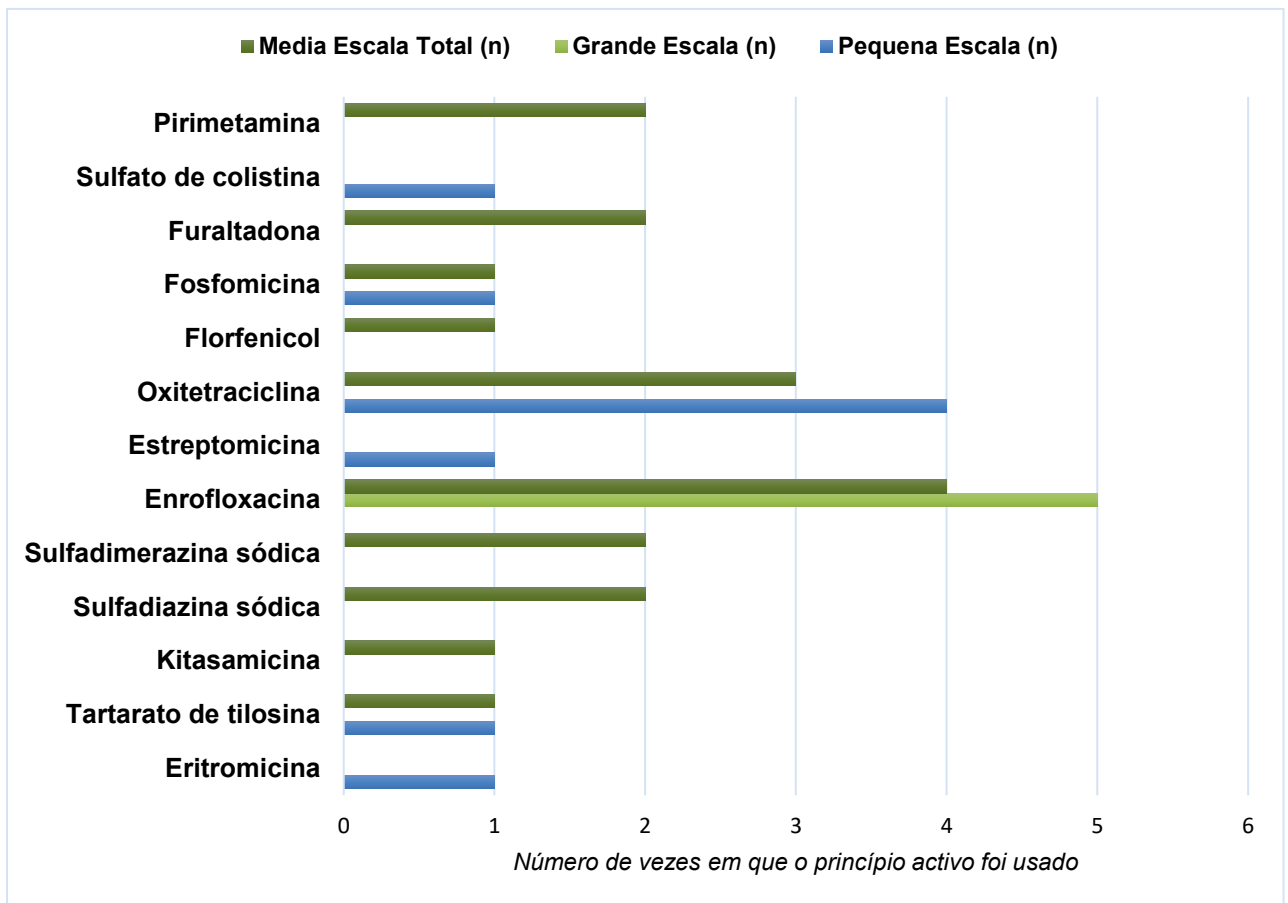
### **5.1.3 Principais antimicrobianos usados na produção de frangos**

Durante o período do estudo, um total 13 antibióticos pertencentes à 10 classes farmacológicas diferentes, foram usados pelos avicultores (Tabela 4). As unidades de escala média observaram maior variedade de antibióticos usados, com um total de dez princípios activos diferentes. Nas unidades de pequena escala (acompanhadas somente durante o verão) registou-se maior

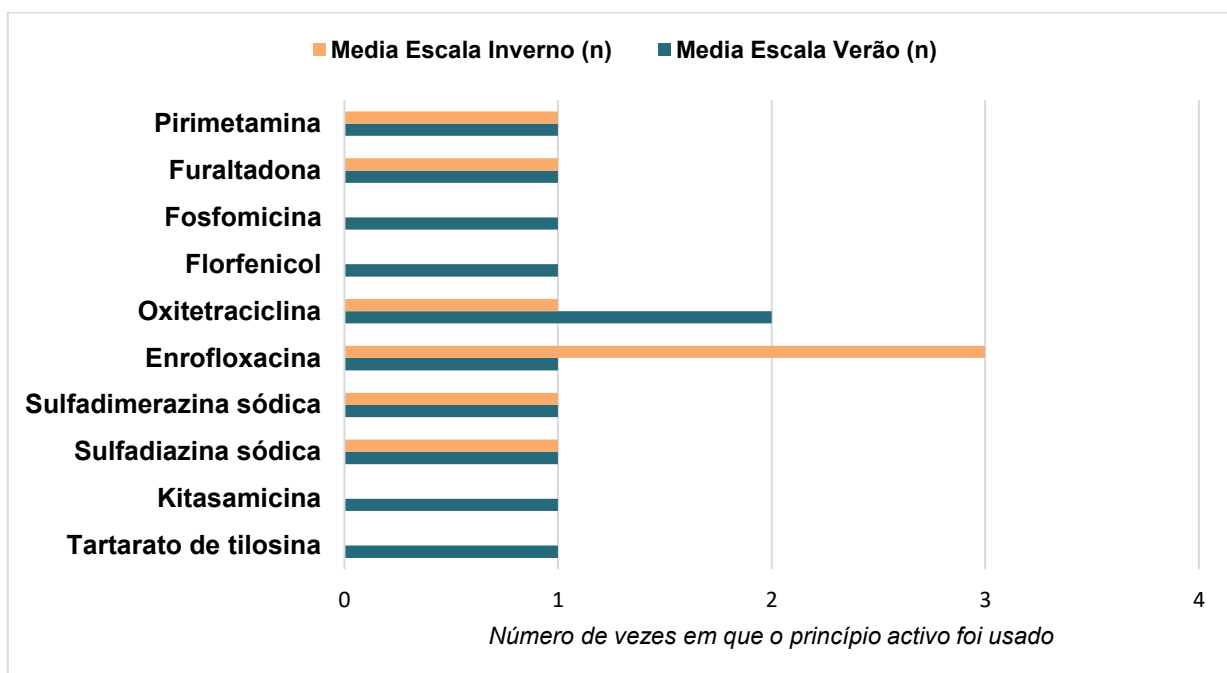
frequência de uso da oxitetraciclina enquanto nas de grande escala (acompanhadas apenas no inverno) houve maior frequência de uso da enrofloxacina (Figura 5). As unidades de escala média usaram com maior frequência a oxitetraciclina no verão e a enrofloxacina no inverno (Figura 6).

**Tabela 4:** Principais antimicrobianos usados pelos avicultores em função da escala de produção e da estação do ano

Nr.	Princípio activo	Classe farmacológica	Pequena escala	Média escala		Grande escala
			Verão	Verão	Inverno	Inverno
<i>(Quantas vezes o princípio activo foi usado?)</i>						
1	Eritromicina	Macrólido	1	1	0	0
2	Tartarato de tilosina		1	1	0	0
3	Kitasamicina		0	1	0	0
4	Sulfadiazina sódica	Sulfamida	0	1	1	0
5	Sulfadimerazina sódica		0	1	1	0
6	Enrofloxacina	Quinolona	0	1	3	5
7	Estreptomicina	Aminoglicosídeo	1	1	0	0
8	Oxitetraciclina	Tetraciclina	4	2	1	0
9	Florfenicol	Anfenicól		1	0	0
10	Fosfomicina	Derivado de ácido fosfónico	1	1	0	0
11	Furaltadona	Derivado de nitrofurano	0	1	1	0
12	Sulfato de colistina	Polimixina	1	1	0	0
13	Pirimetamina	Diaminopirimidina	0	1	1	0



**Figura 5:** Princípios antibióticos usados pelos avicultores das 3 categorias durante período total de seguimento

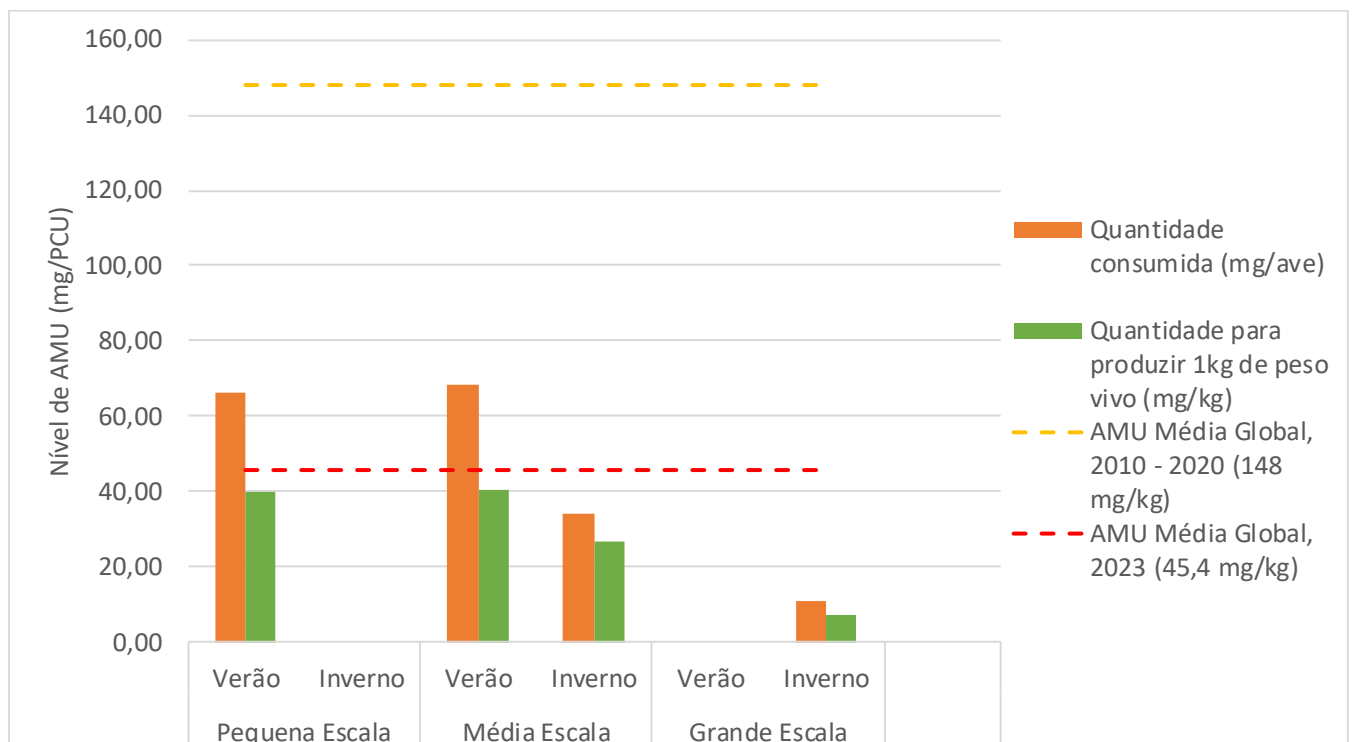


**Figura 6:** Princípios antibióticos usados pelos avicultores de escala média em cada estação sazonal

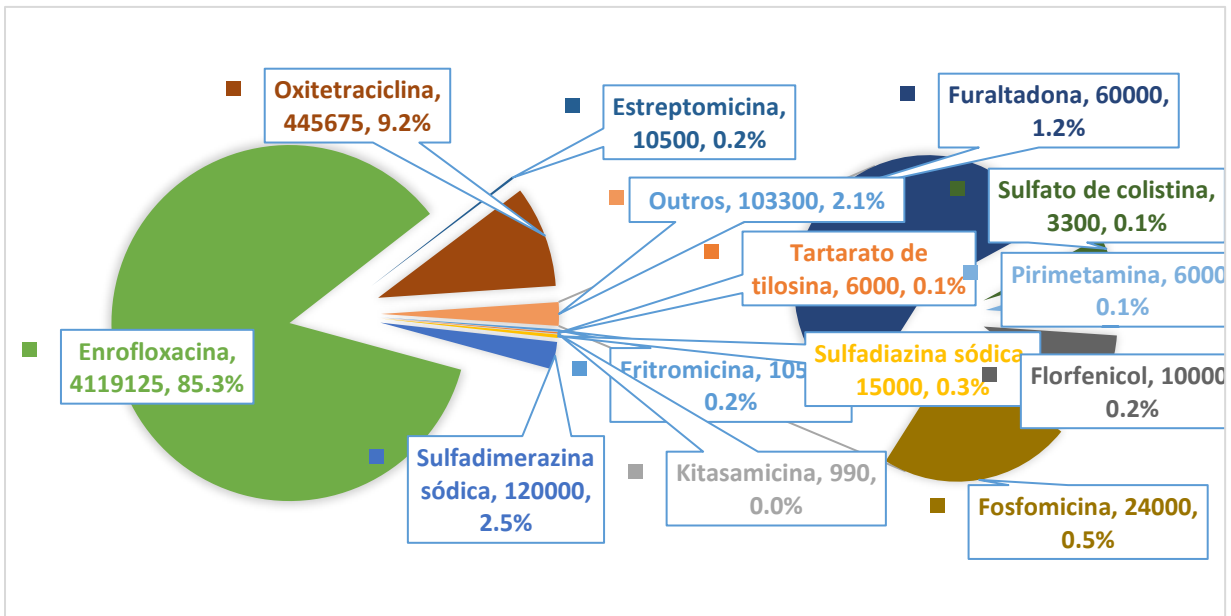
#### 5.1.4 Quantidade de antimicrobianos consumidos na produção de frangos em Maputo

Os frangos foram expostos a antibióticos durante uma média de 5 dias ao longo de cada ciclo de produção. De modo geral, registou-se baixo a moderado consumo de antimicrobianos (7,25 – 40,32 mg/Kg) durante o período do estudo. O consumo mais elevado (40,32 mg/kg) foi observado durante o verão, em unidades de escala média, enquanto o consumo mais baixo (7,25 mg/Kg) foi registado durante o inverno, em unidades de grande escala (Figura 7).

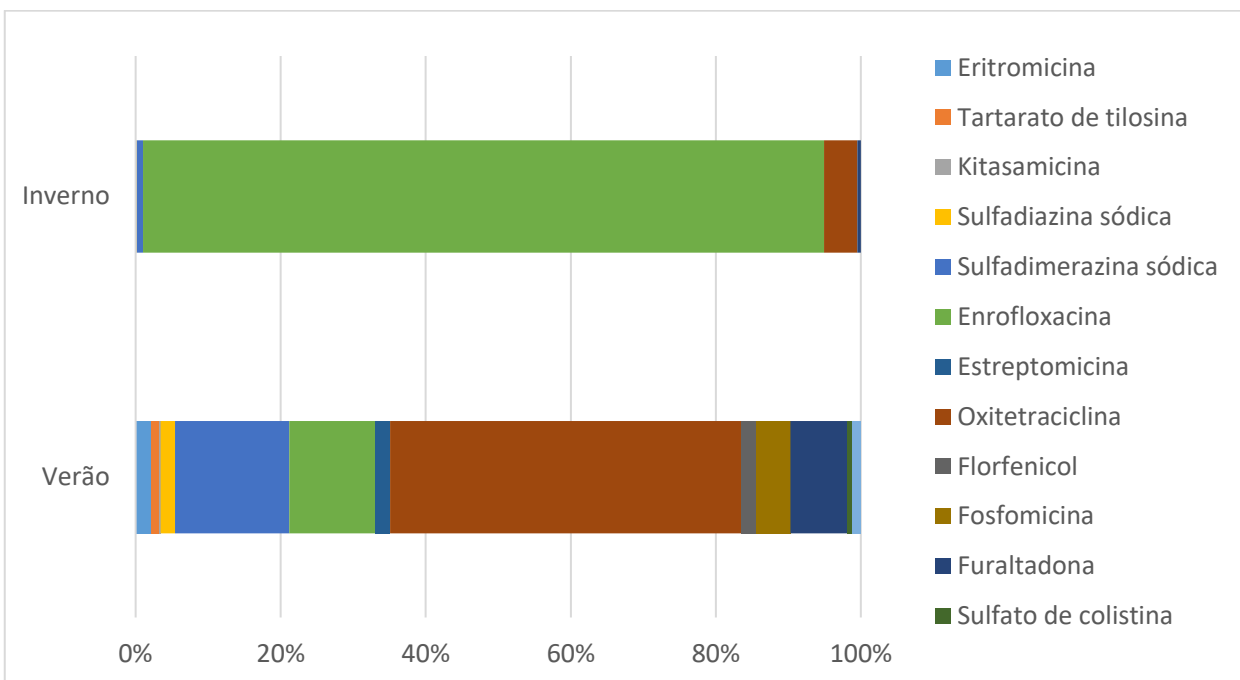
De modo geral, tal como ocorreu em termos de frequência de uso, a enrofloxacina (4.119.125,0mg; 85,3%) e a oxitetraciclina (445.675,0mg; 9,2%) foram os princípios activos com as maiores quantidades consumidas (Figura 8). Oxitetraciclina foi mais consumida no verão e enrofloxacina no inverno (Figura 9).



**Figura 7:** Indicadores quantitativos do consumo de antibioticos nas explorações avícolas em estudo



**Figura 8:** Quantidade total consumida de cada princípio activo em miligramas (mg) e percentagem correspondente.



**Figura 9:** Proporção da quantidade total de antibióticos consumidos no verão e inverno

## 5.2 Ensaio da detecção de resíduos de antibióticos pelo teste de inibição do crescimento microbiano de 4 placas adaptado

### 5.2.1 Validação do teste e controlo de qualidade

O teste adaptado foi validado através da observação do mínimo halo de inibição expectável para os discos-padrão, impregnados de antibióticos de concentração conhecida, testados em placas

representativas de cada condição de testagem (combinação do pH do meio de cultura e bactéria-teste).

Exceptuando as placas de pH 7.2, em todas as outras condições de testagem, os discos-padrão revelaram halos de inibição maiores que os mínimos espectáveis, o que possibilitou a validação analítica do teste nessas condições (Tabela 5).

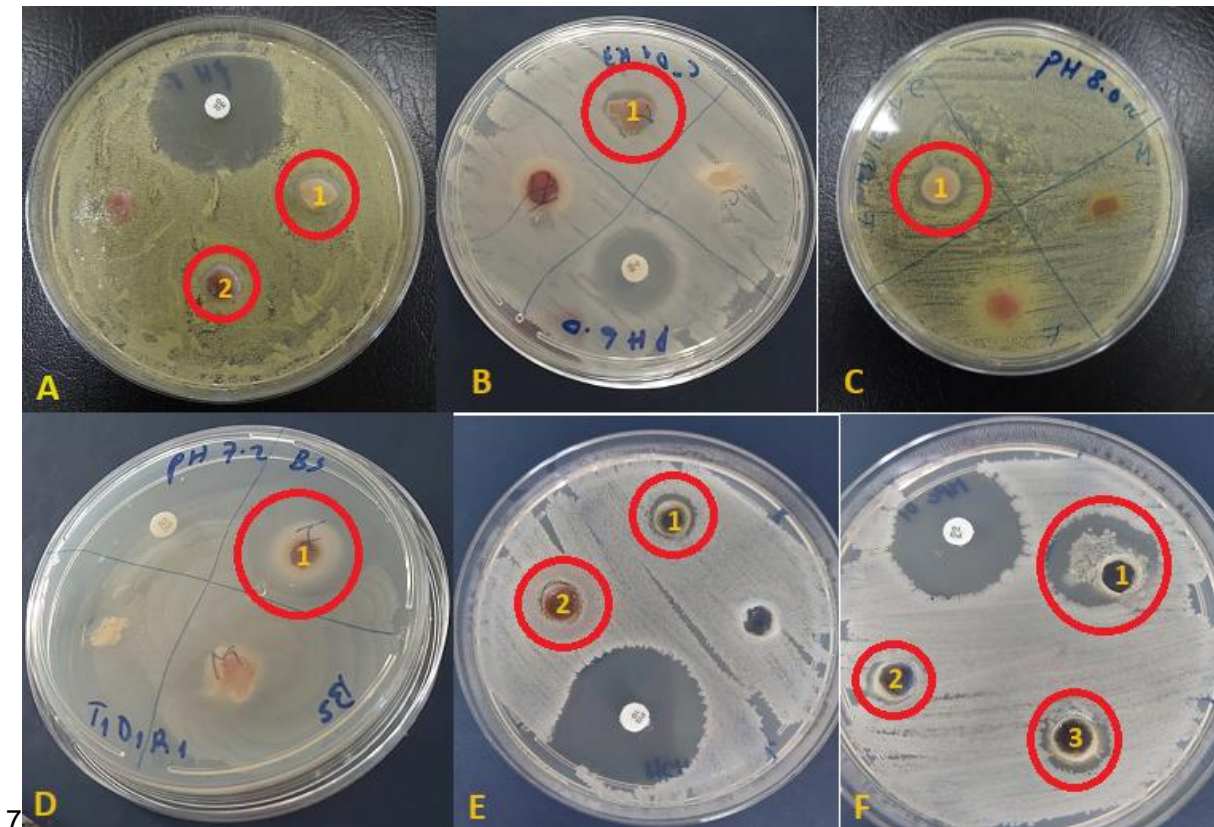
**Tabela 5:** Indicadores de controlo de qualidade e validação do teste

Condição de testagem	Disco-padrão (concentração)	Mínimo IZ esperado (mm)	IZ observado (mm)	Teste validado?
pH 6; <i>B. Subtilis</i>	T30 (30 µg/kg)	18	30	Sim
pH 7.2; <i>B. Subtilis</i>	S30 (30 µg/kg)	18	13	Não
pH 8.0; <i>B. Subtilis</i>	GM10 (10 µg/kg)	22	30	Sim
pH 8.0; <i>M. Luteus</i>	CIP30 (30 µg/kg)*	23	35	Sim

\*Por indisponibilidade de disco de macrolídeos (eritromicina), usou-se um representante de fluoroquinolonas (ciprofloxacina) como padrão.

### **5.2.2 Detecção de resíduos de antibióticos pelo teste de inibição do crescimento microbiano em 4 placas**

As adaptações à técnica de inibição do crescimento microbiano de quatro placas, possibilitaram a análise de resíduos de antibióticos em frangos seleccionados a partir de um lote monitorado ao longo do ciclo produtivo. Um resultado positivo (presença ou ausência de resíduos detectáveis) foi indicado pela presença de inibição completa ou parcial (em pelo menos um dos triplicado) do crescimento microbiano em torno da porção de tecido ou poço contendo extracto do tecido da respectiva amostra em uma ou mais placas de testagem, com aparecimento de uma orla de inibição nítida e mensurável (Figura 10) .



**Figura 10:** Placas seleccionadas ilustrando diferentes situações de amostras positivas:

- A1: Amostra de moela em placa de pH 8 – *M. luteus*, com um halo de inibição claramente nítido e mensurável;
- A2: Amostra de fígado em placa de pH 8 – *M. luteus*, com um um halo de inibição pouco nítido e dificilmente mensurável;
- B1: Amostra de moela em placa de pH 6 – *B. subtilis*, com um halo de inibição irregular, mas nítido e mensurável
- C1: Amostra de músculo em placa de pH 8 – *M. luteus*, com um halo de inibição claramente nítido e mensurável
- D1: Amostra de fígado em placa de pH 7,2 – *B. subtilis*, com um halo de inibição com uma “sobre-orla” opaca à volta da amostra, e, portanto, dificultando a leitura do resultado;
- E1: Amostra de moela em placa de pH 6 - *B.subtilis*, com um halo de inibição claramente nítido e mensurável
- E2: Amostra de músculo com um halo de inibição pouco nítido e difícil de medir
- F1, F2 e F3: Amostras dos 3 tecidos (músculo, fígado e moela) em placa de pH 6 – *Bacillus subtilis*, exibindo halos de inibição nítidos porem irregulares, e portanto, difíceis de medir.

Conforme pode ser verificado na tabela 6, nas condições de teste, foi possível detectar actividade antimicrobiana, indicativo da presença de antibióticos em amostras de diferentes tecidos comestíveis de frango, até ao sétimo dia da suspensão da administração dos fármacos.

Para o grupo de sulfonamidas (T1), embora o indicador de validação não tenha sido satisfatório, o teste mostrou-se mais sensível para a detecção de resíduos desse grupo, com pelo menos uma placa positiva em todos os dias de análise, para todos os tecidos, à excepção do fígado no sétimo dia de suspensão.

Para o grupo de antibióticos múltiplos, com maior concentração de tetraciclinas (T2), detectou-se actividade antimicrobiana em todos os tecidos no segundo dia de suspensão. Já no quarto e sétimo

dia de suspensão, respectivamente, apenas uma placa de fígado e uma de moela revelaram resultado positivo.

**Tabela 6:** Detecção de resíduos antibióticos em amostras de diferentes tecidos comestíveis de frango em função do tempo de suspensão da administração dos medicamentos

Tecido	Resultado: positivo / negativo (+ / -) considerando as condições de testagem		
	T. suspensão: 2 dias	T. suspensão: 4 dias	T. suspensão: 7 dias
<b>T1 (sulfas)</b>			
Carne (C)	Positivo (- - - +)	Positivo (- + - +)	Positivo (- - - +)
Fígado (F)	Positivo (+ - - +)	Positivo (+ - - +)	Negativo (- - - -)
Moela (M)	Positivo (- + + +)	Positivo (+ - - +)	Positivo (- - - +)
<b>T2 (Oxitet. + eritro. + estrepto. + colist.)</b>			
Carne (C)	Positivo (- + - +)	Negativo (- - - -)	Negativo (- - - -)
Fígado (F)	Positivo (+ - - +)	Positivo (+ - - -)	Negativo (- - - -)
Moela (M)	Positivo (+ + - +)	Negativo (- - - -)	Positivo (- - - +)
<b>T3 (Enroflox.)</b>			
Carne (C)	Positivo (- + - +)	Negativo (- - - -)	Negativo (- - - -)
Fígado (F)	Negativo (- - - -)	Positivo (+ - - +)	Negativo (- - - -)
Moela (M)	Positivo (- - - +)	Negativo (- - - -)	Negativo (- - - -)

**Nota:** Os sinais entre parenteses significam resultado positivo (+) ou negativo (-) em pelo menos uma das triplicatas amostrais, na seguinte sequência das 4 placas com diferentes condições de testagem (pH do meio de cultura e bactéria-teste): pH 6.0 BS (mais sensível para tetraciclina e beta-lactâmicos); pH 7.2 BS (mais sensível para sulfonamidas); pH 8.0 BS (mais sensível para aminoglicosídeos); pH 8.0 ML (maior sensibilidade para macrolídeos). Onde: BS = *Bacillus subtilis* e ML = *Micrococcus luteus*.

Cumulativamente, maior frequência de amostras positivas foi registrada em amostras de moela passadas, 2 dias de suspensão da administração de antibióticos (77.7%), a seguir em amostras de fígados, passadas 4 dias de suspensão (55.5%), e por último, novamente em amostras de moela (33.3%) passadas 7 dias de suspensão (Tabela 7).

**Tabela 7:** Frequência de amostras positivas<sup>1</sup> em função do tecido

Tratamento (antibiótico)	Frequência de amostras positivas - n/N (%)								
	(Susp. 2 dias)			(Susp. 4 dias)			(Susp. 7 dias)		
	C	F	M	C	F	M	C	F	M
<b>T1 (sulfas)</b>	1/3 (33.3)	3/3 (100)	2/3 (66.7)	1/3 (33.3)	2/3 (66.7)	3/3 (100)	1/3 (33.3)	0/3 (0)	3/3 (100)
<b>T2 (oxyt+eryt+strep+colis)</b>	2/3 (66.7)	3/3 (100)	3/3 (100)	0/3 (0.0)	1/3 (33.3)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	1/3 (33.3)
<b>T3 (Enroflox.)</b>	2/3 (66.7)	0/3 (0.0)	2/3 (66.7)	0/3 (0.0)	2/3 (66.7)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)
<b>T1 + T2 + T3</b>	<b>5/9 (55.5)</b>	<b>6/9 (66.6)</b>	<b>7/9 (77.7)</b>	<b>1/9 (11.1)</b>	<b>5/9 (55.5)</b>	<b>3/9 (33.3)</b>	<b>1/9 (11.1)</b>	<b>0/9 (0)</b>	<b>4/9 (44.4)</b>

<sup>1</sup> Um resultado “positivo” foi indicado pela inibição completa ou parcial (em pelo menos um dos triplicado) do crescimento microbiano em torno da porção de tecido, em uma ou mais placas de testagem, com aparecimento de uma orla de inibição mensurável.

Considerando cada frango como unidade amostral (sem discriminação por tecidos), na tabela 8 consta que a frequência de amostras positivas demonstrou uma tendência decrescente na seqüência cronológica da suspensão da administração de antibióticos, baixando de 63% (2 dias de suspensão) para 18.5% (7 dias de suspensão).

**Tabela 8:** Frequência de amostras positivas sem discriminação dos tecidos de cada frango

Tratamento (antibiótico)	Frequência de amostras positivas - n/N (%)		
	(Susp. 2 dias)	(Susp. 4 dias)	(Susp. 7 dias)
<b>T1 (sulfas)</b>	6/9 (66.7)	6/9 (66.7)	4/9 (44.4)
<b>T2 (oxyt+eryt+strep+colis)</b>	7/9 (77.8)	1/9 (11.1)	1/9 (11.1)
<b>T3 (Enroflox.)</b>	4/9 (44.4)	2/9 (22.2)	0/9 (0.0)
<b>T1 + T2 + T3</b>	<b>17/27 (63)</b>	<b>9/27 (33.3)</b>	<b>5/27 (18.5)</b>

### 5.2.3 Análise semi-quantitativa dos dados do ensaio

Para as amostras positivas, considerou-se o diâmetro do halo de inibição do crescimento microbiano (IZ) em milímetros (mm) como indicador semi-quantitativo da maior ou menor concentração de resíduos de antibióticos.

**Tabela 9:** Halos de Inibição das amostras positivas, em milímetros (média ± desvio padrão)

Cond. de testagem	Músculo			Fígado			Moela		
	2º Dia	4º Dia	7º Dia	2º Dia	4º Dia	7º Dia	2º Dia	4º Dia	7º Dia
<b>T1 (sulfas)</b>									
pH6,0; Bs	0	0	0	14,0±1,4	17,5±0,7	0	0	10,0	0
pH7,2; Bs	0	0	0	0	0	0	20,0	0	0
pH8,0; Bs	0	0	0	0	0	0	12	0	0
pH8,0; MI	12,0±0	13,0±1	8,0±0	12,0±0	11,0±0	0	8	10,0±1,4	11,3±0,6
<b>T2 (oxyt+eryt+strep+colis)</b>									
pH6,0; Bs	0	0	0	17,0	13,0	0	20,0	0	0
pH7,2; Bs	10,0	0	0	0	0	0	10,0	0	0
pH8,0; Bs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pH8,0; MI	11,5±0,7	0	0	11,0	0	0	10,0	0	11,0
<b>T3 (Enroflox.)</b>									
pH6,0; Bs	0	0	0	0	11,5±0,7	0	0	0	0
pH7,2; Bs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pH8,0; Bs	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pH8,0; MI	14,0±0	0	0	0	12	0	10,5±0,7	0	0

Os valores de IZ das amostras positivas demonstraram tendência decrescente do segundo ao sétimo dia de suspensão da administração dos fármacos, passando por um ligeiro aumento ao quarto dia. Maiores halos foram registados passados 2 dias de suspensão em amostras de moela do grupo T1 em placas de pH 7,2 e do grupo T2 em placas de pH 6,0 (20,0 mm), seguido por amostras

de fígado do grupo T1 e T2 em placas de pH 6,0 passados 4 dias (17,2 mm) e 2 dias de suspensão, respectivamente. Sob quase todas as condições, excluindo o grupo T3 em placas de pH 8,0 inoculados de *M. luteus*, as amostras de músculo apresentaram os valores IZ mais baixos, comparativamente ao fígado e moela.

## 6 DISCUSÃO

A Província de Maputo teve maior representatividade de participantes, comparativamente à Cidade de Maputo, o que pode ser justificável pela menor extensão territorial e alto nível de urbanização desta última, factores pouco favoráveis para a prática da avicultura de corte. Mais de metade dos avicultores participantes do estudo possuíam alguma formação profissionalizante, porém não especializada em avicultura, o que revela que os mesmos têm outra orientação ou ocupação profissional, tendo a avicultura apenas como fonte de renda alternativa. Esta possibilidade é ainda reforçada pelo facto de igual proporção dos participantes (pelo menos 50%) serem do sexo masculino, na faixa etária acima de 55 anos.

### 6.1 Conhecimentos, atitudes e práticas dos avicultores sobre o uso de antimicrobianos na produção de frangos e seu impacto na saúde pública e segurança de alimentos

A maioria dos avicultores afirmou não ter passado por nenhuma capacitação ou treinamento especializado sobre avicultura, e confia nas recomendações e conselhos de amigos, familiares e/ou fornecedores dos insumos de produção. Este cenário abre espaço para atitudes e práticas inapropriadas do uso de antimicrobianos na produção animal.

Várias são as práticas de uso inapropriado de antibióticos, imputáveis entre outras razões, à falta de treinamento técnico dos avicultores. Avicultores não treinados, são vulneráveis à, por exemplo, não saber decidir quando é realmente necessário usar antibióticos ou mesmo não saber seguir correctamente a posologia, o que corresponde ao uso imprudentemente (ASEAN, 2017; Magnusson *et al.*, 2020)

O fraco conhecimento, atitudes negativas e práticas inadequadas sobre AMU e AMR já foram extensivamente documentados como sendo comuns entre avicultores dalguns países da África Austral, de que Moçambique faz parte. Chilawa *et al.* (2023) observaram um preocupante padrão de uso de antibióticos na produção avícola na Província de Copperbelt, Zâmbia, onde prevalece fraco conhecimento, atitudes negativas e práticas inapropriadas sobre AMU e AMR. Num estudo conduzido por Azabo *et al.* (2022), em Dar-Es-Salam, Tanzania, foram observadas práticas inadequadas de uso de antimicrobianos, pelos avicultores daquele país vizinho de Moçambique, tendo se destacado a sobredosagem e a inobservância dos períodos de suspensão.

O uso imprudente ou inapropriado de antibioticos na produção animal constitui grande preocupação para a saúde pública e segurança de alimentos, por ser um dos principais factores de risco para a ocorrência da AMR e resíduos nos produtos de origem animal (Kumar *et al.*, 2019; Mehdi *et al.*, 2018). Portanto, pelos resultados da presente pesquisa, esta preocupação é ainda agravada pelo facto dos avicultores terem se mostrado pouco conscientes sobre o desenvolvimento da resistência antimicrobiana pelos patógenos e a ocorrência de resíduos de fármacos nos alimentos. Isto

demonstra que os avicultores não estão suficientemente conscientes das consequências e/ou impactos das suas atitudes e práticas.

Alguns autores do campo da psicologia do comportamento humano, referem que o nível de consciência é determinante no estímulo à mudança de atitudes (adopção de atitudes positivas) sobre determinado assunto (Verplanken e Orbell, 2022) e que a tomada de decisões eticamente correctas, exige um nível de consciência que torne o indivíduo sensível as possíveis consequências das suas atitudes e práticas (Rahmani *et al.*, 2023). Com isso, torna-se necessário advogar, junto às entidades competentes, para o desencadeamento de acções de consciencialização dos avicultores sobre o uso correcto de antibióticos na produção avícola, partindo pela compreensão dos possíveis impactos negativos decorrentes das suas atitudes e práticas actuais.

## **6.2 Principais antimicrobianos usados na produção de carne de frango**

Durante o período do estudo, um total de treze (13) antibióticos pertencentes a dez (10) classes farmacológicas diferentes, foram usados pelos avicultores. As unidades de escala média de produção observaram uma maior variedade de antibióticos usados, com um total de dez (10) princípios activos. A grande diversidade de antibióticos usados pelos avicultores pode ser reflexo da disponibilidade de vários medicamentos veterinários de fácil acesso no circuito comercial local, onde qualquer um pode compra-los a partir de várias fontes, mesmo sem prescrição veterinária (GARP-Mozambique Working Group, 2015).

Nas unidades de pequena escala foi mais usada a oxitetraciclina enquanto nas de grande escala foi mais usada a enrofloxacin. As unidades de escala média usaram mais oxitetraciclina no verão e enrofloxacin no inverno. A oxitetraciclina foi considerada pela OMS, entre os antibióticos “criticamente importantes” e a enrofloxacin entre os antibióticos “altamente importantes” na medicina humana, pelo que o seu uso na produção animal devia ser estritamente controlado (Van *et al.*, 2020). O seu uso frequente na produção avícola, sobretudo quando feito sem orientação médico-veterinária, é preocupante. Se em consequência do seu uso indiscriminado, os agentes patogénicos desenvolverem resistência antimicrobiana a estes antibióticos, então ficar-se-á com menos alternativas para combate de infecções comuns, tanto em animais como em humanos.

Conforme referido por Kumar *et al.* (2019), o uso inapropriado de antibióticos na produção animal, principalmente tratando-se de antibióticos críticos, constitui uma das principais causas do desenvolvimento da AMR, levando à redução de alternativas terapêuticas para o tratamento de patologias comuns, tanto na medicina veterinária como na humana.

O surgimento de resistência à antibióticos críticos, em patógenos de maior preocupação na cadeia avícola é uma preocupação em Moçambique, tendo já sido reportada a ocorrência de resistência a beta-lactâmicos e fluoroquinolonas (ex: enrofloxacin) em *Enterobacteriaceae* isoladas a partir de

frangos importados e localmente produzidos, na Cidade de Maputo (Faife *et al.*, 2019) e a ocorrência de *Campylobacter spp.* multi-droga resistentes (destaque para tetraciclinas), na cadeia de distribuição de frangos localmente produzidos e processados na Província e Cidade de Maputo (Matsimbe *et al.*, 2021).

### **6.3 Quantidade de antimicrobianos usados para a produção da carne de frango**

Pela exposição durante uma média de 5 dias ao longo do ciclo de produção, o indicador da quantidade de antibióticos consumidos pelas aves no decurso desta pesquisa variou de 7,25 a 40,32 mg/kg de peso vivo. Esta amplitude do indicador de AMU foi menor que a média a nível mundial, estimada em 148 mg/kg (Van Boeckel *et al.*, 2015), até ao momento da colheita destes dados (2010 - 2022). Mesmo considerando as estimativas mais recentes, que apontaram para uma redução do consumo global de antimicrobianos na produção avícola para 45.4 mg/PCU (Mulchandani *et al.*, 2023), o nível de consumo observado na presente pesquisa continua não superando o consumo médio global.

Com estes achados pode-se entender que, quantitativamente, regista-se baixo à moderado uso de antibióticos na produção de frangos em Maputo. Analisado singularmente, este cenário podia despertar menor preocupação sobre o potencial uso excessivo ou indiscriminado de antibióticos na cadeia produtiva de frangos no contexto em análise. Entretanto, considerando o facto de terem sido registados alguns aspectos propiciantes de práticas inadequadas de AMU, há ainda motivos de maior preocupação. É possível que essas quantidades indicativas reactivamente baixas, tenham resultado do incumprimento da posologia dos medicamentos usados, incluindo a subdosagem, incumprimento do tempo de tratamento, má determinação da biomassa ou densidade animal tratada, entre outros cenários potenciais, imputáveis a práticas inadequadas de AMU (ASEAN, 2017; Magnusson *et al.*, 2020). Não se descarta também a possibilidade de ter ocorrido um sub-reporte das quantidades realmente usadas, uma vez que os avicultores em causa estavam conscientes de que tratava-se de dados a serem usados para efeitos de investigação.

Em outra linha de análise, se o indicador a considerar na comparação fosse a quantidade de antimicrobianos consumidos por cada ave (mg/ave), então seria de alguma forma preocupante o consumo registado durante o verão, em unidades de escala média (68,12 mg/ave) e em unidades de pequena escala (66,24 mg/ave), que estariam acima da actual média global (45.4 mg/PCU). Isto demonstra o cuidado que deve ser tomado na selecção de indicadores apropriados para permitir a comparabilidade dos dados quantitativos de AMU (Collineau *et al.*, 2017).

O consumo de enrofloxacin no inverno, em aviários de grande escala, pode estar associado ao maior poder aquisitivo desta categoria de criadores, uma vez que as fluoroquinolonas fazem parte de antibióticos reactivamente novos, potentes e caros, tornando-se boa alternativa para avicultores que enfrentam experiências frustrantes com infecções recorrentes, causadas por bactérias

resistentes aos antibióticos da geração mais antiga. Por outro lado, o padrão de consumo de oxitetraciclina no verão, em aviários de pequena escala, pode justificar-se pela sua maior disponibilidade e acessibilidade (preços comparativamente baixos) na cadeia de comercialização de medicamentos veterinários para a avicultura. E ainda, no verão, é comum registar-se altas taxas de mortalidade, sobretudo em aviários precários (pequena escala), e para fazer face a esse fenómeno, os avicultores frequentemente recorrem aos antibióticos mais acessíveis.

De qualquer forma, mesmo em quantidades consideradas seguras, o uso de antimicrobianos na produção animal não deixa de representar preocupação para a saúde pública. Pesquisas *in vitro* já demonstraram que, mesmo uma única dose da quantidade diária “aceitável” de certos antibióticos nos alimentos, pode desencadear a resistência antimicrobiana dalgumas bactérias de maior preocupação para a saúde pública. Isto significa que mesmo o que consideramos níveis seguros de antibióticos em produtos alimentares podem estar a contribuir para o aumento das superbactérias (Gestels *et al.*, 2024).

#### **6.4 Ensaio da detecção de resíduos de antibióticos pelo teste de inibição do crescimento microbiano de 4 placas**

De um modo geral o ensaio demonstrou efectividade da técnica de inibição microbiana de 4 placas para a detecção de resíduos dos antibióticos mais usados na produção de frangos em Maputo. Entretanto, notou-se um fraco desempenho analítico (baixa sensibilidade e especificidade) desta técnica de análise, pelo menos nas condições ensaiadas no presente estudo. Entre outras razões, o baixo desempenho analítico da técnica pode ter sido influenciado em larga escala pela interferência de prováveis microrganismos contaminantes da matriz em análise. Pelas características das colónias, cresceram bactérias diferentes da bactéria de teste, tendo sido inibido o crescimento desta (bactéria de teste) eventualmente devido à presença de agentes antimicrobianos aos quais ela é sensível, mas os contaminantes não são.

Por competir com as bactérias de testagem, as bacterias contaminantes dificultaram a leitura dos resultados, sobretudo por ser desconhecido o seu perfil de suscetibilidade antimicrobiana. A interferência de bactérias contaminantes tem se constituído um desafio para a clara interpretação dos resultados desta técnica de análise (Pikkemaat *et al.*, 2011). Como tal, foi justificável o pré-tratamento das amostras laboratoriais através da sua exposição à radiação ultravioleta, visando a minimização da pontencial microflora contaminante.

Além da microflora contaminante, é importante considerar a provável interferência da própria matriz (tecido animal) na redução da sensibilidade do teste, sobretudo para a detecção de potenciais resíduos de antibióticos beta-lactâmicos e flouroquinolonas (Okerman *et al.*, 1998). Para minimizar este efeito matriz, pode ser de grande valia considerar a alternativa do uso do extracto fluido de

cada tecido, depositado em poços perfurados adequadamente no agar em placa ou absorvido em disco de papel de filtro embebidos e depositados na superfície do agar em placa, como sugerido por Watkins e Kožárová (2019).

Resultados inconclusivos já foram reportados em outras pesquisas que também procuram otimizar técnicas de análise equivalentes à técnica em ensaio no presente estudo. Um estudo por Watkins e Kožárová (2019), não permitiu concluir definitivamente sobre o desempenho da técnica, principalmente por não ter sido usada uma técnica confirmativa complementar, que possibilitasse determinar até que magnitude ocorreram ou não falsos-positivos e/ou falsos-negativos. Contudo, a fraca sensibilidade da técnica sobretudo para resíduos de fluoroquinolonas e sulfonamidas, vem sendo reportada desde iniciativas de pesquisas mais antigas (Okerman *et al.*, 1998).

Os grupos tratados com sulfonamidas (T1) e oxitetraciclina combinada com outros princípios activos (T2) apresentaram maiores taxas de positividade até ao sétimo dia após a suspensão da administração dos medicamentos. Entretanto, para o T1, parte significativa das amostras positivas foram detectadas em placas de pH 8.0 inoculadas de *M. luteus* (teoricamente mais sensível para macrolídeos), e não em placas de pH 7.2 (mais sensível para sulfamidas), como seria óbvio. Isto remete novamente a provável baixa especificidade do teste. O baixo desempenho analítico (baixa especificidade e sensibilidade) da técnica em ensaio na presente pesquisa foi destacado em outros estudos (Karmi, 2014; Pikkemaat, 2009; Pikkemaat *et al.*, 2011).

Tendo em conta os diferentes tecidos analisados, amostras de moelas e fígados apresentaram maiores frequências de positividade, quando comparadas com amostras de músculo. Este facto significa que as miudezas de frango podem ser consideradas tecidos preferenciais como amostras na monitoria de resíduos farmacológicos, dado o papel que estas desempenham nos processos de metabolização farmacológica. Esta tendência é consistente, entre outras pesquisas que também analisaram o músculo (carne) e as miudezas, tendo registado maior positividade em amostras de miudezas (Shahid *et al.*, 2007).

Em outra linha de análise, do ponto de vista de segurança de alimentos, este achado pode significar que a preferência pelo consumo de miudezas de frangos, justificada pela sua palatabilidade e alto valor nutricional, possivelmente represente maior risco de exposição a potenciais resíduos de antibióticos (Kadi *et al.*, 2024) que o músculo ou carne propriamente dita. No contexto moçambicano, o consumo de miudezas é mais que preferencial, e sim questão de subsistência, sobretudo entre indivíduos com menor poder aquisitivo (que é a maioria), representando maior risco de exposição a resíduos, potencialmente maior.

Ao analisar a depleção dos resíduos nos diferentes tecidos, assumindo o halo de inibição como indicador de concentração, notou-se uma tendência decrescente do segundo ao sétimo dia de suspensão da administração dos fármacos, passando por um ligeiro aumento ao quarto dia. Isto

pode estar relacionado com o tempo necessário para mobilizar as dorgas do tracto gastro-intestinal para estes tecidos. Ao investigar a depleção de 7 antibióticos das famílias de quinolonas (enrofloxacina, ciprofloxacina, norfloxacina) e tetraciclinas (oxitetraciclina, clortetraciclina, doxiciclina) administrados oralmente em frangos de corte, analisando seus resíduos na carne, Silveira (2016) demonstrou que, em regra geral, a concentração de resíduos na carne tende a diminuir com o decorrer do tempo de suspensão da administração, variando de 1 a 9 dias dependendo do antibiótico. Portanto, assume-se que na presente pesquisa, eventualmente em torno do quarto dia de suspensão ocorreu maior acúmulo das moléculas antimicrobianas nos tecidos e que depois foi baixando, mas antes desse momento, uma parte ainda estava em circulação no sangue ou ainda estava no tracto gastrointestinal.

As nuances anteriores reforçam a hipótese de maior risco de exposição aos resíduos de antibióticos, pelo consumo de miudezas (fígado e moelas), comparativamente à carne. Ainda, estes tecidos configuram-se amostras relevantes para a pesquisa de resíduos de antibióticos em frangos, por serem potencialmente os tecidos de maior concentração detectável de resíduos (Hsiao *et al.*, 2016; Patel *et al.*, 2018).

## 7 CONCLUSÕES

Os avicultores demonstraram lacunas de conhecimentos sobre o uso correcto de antimicrobianos na produção de frangos, constituindo factor de risco para o desenvolvimento da resistência antimicrobiana e a ocorrência de resíduos farmacológicos nos produtos avícolas.

A oxitetraciclina foi o principal antibiótico usado pelos avicultores de pequena escala, no inverno e a enrofloxacina foi o principal antibiótico usado pelos avicultores de grande escala, no verão.

A quantidade de antibióticos usados na produção da carne de frango foi menor que a quantidade média global, o que foi indicativo de baixo a moderado consumo de antibióticos.

As adaptações à técnica microbiana de 4 placas possibilitaram a análise de resíduos dos antibióticos mais usados na produção de frangos em Maputo. Contudo, optimizações contínuas são necessárias convista a assegurar melhor desempenho analítico da técnica adaptada.

## 8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E RECOMENDAÇÕES

### 8.1 Limitações do estudo

Os seguintes aspectos foram limitantes para que a pesquisa respondesse cabalmente aos objectivos propostos:

- Abrangência: um número limitado de avicultores foi envolvido neste estudo, não tendo sido possível garantir uma real representatividade da população em estudo (avicultores da região de Maputo), e portanto, limitando a inferência das conclusões da pesquisa para essa população;
- Amostragem por conveniência / adesão voluntária: foram envolvidos neste estudo, apenas os avicultores que demonstraram interesse, disponibilidade e permissibilidade para que os pesquisadores procedem com a colheita de informações e dados em suas unidades de produção. Assim, não foi possível trabalhar com produtores de grande escala no verão e de pequena escala no inverno, o que de certa forma limita a comparação das tendências em função das estações sazonais;
- Incerteza: na falta duma técnica quantitativa robusta, para a confirmação da concentração real de resíduos de antibióticos ao longo do tempo (estudo da depleção), não se pode concluir definitivamente sobre o desempenho analítico da técnica adaptada.

### 8.2 Recomendações

À comunidade académico-científica, recomenda-se:

- A realização de estudo similar, mas de abrangência alargada, idealmente envolvendo uma amostra verdadeiramente significativa de avicultores a nível da província e cidade de Maputo, assim como em outras províncias do país;
- O seguimento (optimização) das adaptações a técnica de inibição de crescimento microbiano de 4 placas, comparando o seu desempenho nas variantes de uso de porções depositados na superfície do agar e de extractos fluidos das amostras depositados em pequenos poços perfurados no agar;

Às entidades governamentais e não governamentais de tutela, recomenda-se:

- A promoção de programas de treinamento dos avicultores sobre as boas práticas de AMU e campanhas consciencialização pública sobre os riscos associados as práticas nocivas;

- O investimento na criação de capacidade laboratorial para a análise de resíduos de antimicrobianos em produtos alimentares.

Aos avicultores, recomenda-se:

- A adoção de boas práticas de biossegurança, avaliação cuidadosa do uso de antimicrobianos e uso de práticas sustentáveis na criação de frangos.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Salem, H. M., El-Tahan, A. M., Soliman, M. M., Youssef, G. B. A., Taha, A. E., Soliman, S. M., Ahmed, A. E., El-kott, A. F., Al Syaad, K. M., & Swelum, A. A. (2022). Alternatives to antibiotics for organic poultry production: types, modes of action and impacts on bird's health and production. *Poultry Science*, *101*(4), 101696. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101696>
- ASEAN. (2017). *ASEAN Guidelines for the Prudent Use of Antimicrobials in Livestock* (pp. 1–28). Adopted 39th AMAF Meeting (28/9/2017). <https://asean.org/wp-content/uploads/2021/09/ASEAN-Guidelines-for-Prudent-Use-of-Antimicrobials-in-Livestock.pdf>
- Azabo, R., Mshana, S., Matee, M., & Kimera, S. I. (2022). Antimicrobial usage in cattle and poultry production in Dar es Salaam, Tanzania: pattern and quantity. *BMC Veterinary Research*, *18*(7), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03056-9>
- Bah, E., & Gajigo, O. (2019). Improving the Poultry Value Chain in Mozambique. Em *AFDB Working Paper Series* (309). <https://www.afdb.org/en/documents/publications/working-paper-series/>
- CAC Secretariat. (2018). *Codex Alimentarius Commission Procedural Manual* (26th Edition). <https://www.fao.org/3/i8608en/I8608EN.pdf>
- Cannavan, A. (2004). Capacity building for veterinary drug residue monitoring programmes in developing countries. Em *Joint FAO/WHO Technical Working on Residues of veterinary drugs without ADI/MRL*. <https://www.researchgate.net/publication/262165725>
- Chilawa, S., Mudenda, S., Daka, V., Chileshe, M., Matafwali, S., Chabalenge, B., Mpundu, P., Mufwambi, W., Mohamed, S., & Mfunne, R. L. (2023). Knowledge, Attitudes and Practices of Poultry Farmers on Antimicrobial Use and Resistance in Kitwe, Zambia: Implications on Antimicrobial Stewardship. *Open Journal of Animal Sciences*, *13*, 60–81. <https://doi.org/10.4236/ojas.2023.131005>
- Chunga, J., Silva, L. M., & Soares, F. B. (2023). Poultry Value Chain Performance Measurement Using Stochastic Frontier Analysis in Mozambique, Maputo Region. *Economies*, *11*(8), 1–16. <https://doi.org/10.3390/economies11080214>
- Codex Alimentarius. (2018). *Maximum Residue Limits (MRL'S) and Risk Management Recommendations (RMR'S) for Residues of Veterinary Drugs in Foods (CX/MRL 2-2018)* (CX/MRL 2-2018).

- Collineau, L., Belloc, C., Stärk, K. D. C., Hémonic, A., Postma, M., Dewulf, J., & Chauvin, C. (2017). Guidance on the Selection of Appropriate Indicators for Quantification of Antimicrobial Usage in Humans and Animals. *Zoonoses and Public Health*, 64(3), 165–184. <https://doi.org/10.1111/zph.12298>
- DINAV. (2015). *Programa de Intensificação Produção Pecuária (PIPEC) 2015 - 2019* (p. 20). Ministerio da Agricultura e Segurança Alimentar (MASA).
- Faife, S. L., Zimba, T., Sekyere, J. O., Govinden, U., & Chenia, H. Y. (2019).  $\beta$ -Lactam and Fluoroquinolone Resistance in Enterobacteriaceae from Imported and Locally-Produced Chicken in Mozambique. *Journal of Infection in Developing Countries*, 14(5), 1–10. <https://doi.org/10.3855/jidc.10924>
- FAO. (2013). *Poultry Sector Mozambique* (5). FAO Animal Production and Health Livestock Country Reviews. <https://www.fao.org/3/i3487e/i3487e.pdf>
- FAO. (2021). *How to reduce the use of antibiotics in poultry production* (p. 2). FAO. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/CB6811EN>
- FAO. (2023). World Food and Agriculture – Statistical Year Book 2023. Em *World Food and Agriculture – Statistical Pocketbook 2023*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cc8165en>
- FAOSTAT. (2024a). *Food Balances - Food Balances (2010-)*. FAOSTAT Statistical Database. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>
- FAOSTAT. (2024b). *Production - crops and livestock products*. FAOSTAT Statistical Database. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- GARP-Mozambique Working Group. (2015). *Situation Analysis and Recommendations: Antibiotic Use and Resistance in Mozambique* (Número July).
- Gaudin, V., Juhel-Gaugain, M., Morétain, J. P., & Sanders, P. (2008). AFNOR validation of Premi@Test, a microbiological-based screening tube-test for the detection of antimicrobial residues in animal muscle tissue. *Food Additives and Contaminants - Part A*, 25(12), 1451–1464. <https://doi.org/10.1080/02652030802429088>
- Gestels, Z., Baranchyk, Y., Bossche, D. Van Den, Laumen, J., Abdellati, S., Xavier, B. B., Santhini, S., & Kenyon, C. (2024). Could traces of fluoroquinolones in food induce ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*? An in vivo study in *Galleria mellonella* with important implications for maximum residue limits in food. *Microbiology Spectrum*, 12(6), 1–14. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03595-23>

- Gondová, Z., Kožárová, I., Poláková, Z., & Mad'arová, M. (2014). Comparison of four microbiological inhibition tests for the screening of antimicrobial residues in the tissues of food-producing animals. *Italian Journal of Animal Science*, 13(4), 728–734. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3521>
- Hakem, A., Titouche, Y., Houali, K., Yabrir, B., Malki, O., Chenouf, N., Yahiaoui, S., Labiad, M., Ghenim, H., Kechih-Boumar, S., Chirila, F., Lapusan, A., & Fit, N. I. (2013). Screening of Antibiotics Residues in Poultry Meat by Microbiological Methods. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*, 70(1), 1–23.
- Heitzman, R. J. (1994). *Veterinary Drug Residues - Residues in Food Producing Animals and their Products: Reference Materials and Methods* (R. J. Heitzman (ed.); 2.<sup>a</sup> ed.). Blackwell Scientific Publications. <http://dx.doi.org/10.1021/bk-1996-0636.ch002>
- Hsiao, P. F., Chang, S. K., Hsu, T. H., Li, K. P., & Chou, C. C. (2016). Pharmacokinetics and tissue depletion of doxycycline administered at high dosage to broiler chickens via the drinking water. *Acta Veterinaria Hungarica*, 64(4), 472–481. <https://doi.org/10.1556/004.2016.044>
- Huong-anh, N. T., Chinh, D. Van, & Tuyet-hanh, T. T. (2020). Antibiotic Residues in Chickens and Farmers' Knowledge of Their Use in Tay Ninh Province , Vietnam , in 2017. *Asia Pacific Journal of Public Health*, 00(0), 1–7. <https://doi.org/10.1177/1010539520909942>
- Instituto Nacional de Estadística. (2017). Divulgacao dos resultados preliminares do IV RGPH 2017. [www.ine.gov.mz](http://www.ine.gov.mz), 4. <http://www.ine.gov.mz/operacoes-estatisticas/censos/censo-2007/censo-2017/divulgacao-de-resultados-preliminares-do-iv-rgph-2017.pdf>
- Kadi, H., Boudebza, A., Abdeldjelil, M. C., Boulouf, L., Mansour, F., Chougui, I., Douak, Q. E., & Elmechta, L. (2024). Consumption habits of broiler offal and its contamination by antibiotic residues in the Northeast of Algeria. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, XXXIV(1), 1–7. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e34341>
- Kariuki, J. W., Jacobs, J., Ngogang, M. P., & Howland, O. (2023). Antibiotic use by poultry farmers in Kiambu County, Kenya: exploring practices and drivers of potential overuse. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 12(3), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01202-y>
- Karmi, M. (2014). Detection and Presumptive Identification of Antibiotic Residues in Poultry Meat by Using FPT. *Global Journal of Pharmacology*, 8(2), 160–165. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2014.8.2.82307>
- Kumar, D., Pornsukarom, S., & Thakur, S. (2019). Antibiotic Usage in Poultry Production and Antimicrobial-Resistant Salmonella in Poultry. Em K. Venkitanarayanan, S. Thakur, & S. C.

- Ricke (Eds.), *Food Safety in Poultry Meat Production, Food Microbiology and Food Safety* (pp. 47–66). Springer Nature Switzerland AG. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-05011-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-05011-5_3)
- MADER-DNDP. (2023). *Boletim de Estatísticas Pecuárias 2012-2022*. [www.agricultura.gov.mz](http://www.agricultura.gov.mz)
- Magnusson, U. (2021). *How to use antibiotics effectively in poultry production for the sake of human and animal health*. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/CB4157EN>
- Magnusson, U., Sternberg, S., Eklund, G., & Rozstalnyy, A. (2020). Prudent and efficient use of antimicrobials in pigs and poultry. Em *FAO Animal Production and Health / Manual 23*. <https://doi.org/10.4060/ca6729en>
- Mate, I., Come, C. E., Gonçalves, M. P., Cliff, J., & Gudo, E. S. (2019). Knowledge , attitudes and practices regarding antibiotic use in Maputo City , Mozambique. *PLOS ONE*, *14*(8), 1–15.
- Matsimbe, J. J., Manhiça, A. J., & Macuamule, C. J. (2021). Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* spp. Isolates from Broiler Chicken Meat Supply Chain in Maputo, Mozambique. *Foodborne Pathogens and Disease*, *18*(9), 683–685. <https://doi.org/10.1089/fpd.2021.0001>
- Mehdi, Y., Letourneau-Montminy, M.-P., Gaucher, M.-L., Chorfi, Y., Suresh, G., Rouissi, T., Brar, S. K., Cote, C., Ramirez, A. A., & Godbout, S. (2018). Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. *Animal Nutrition*, *4*, 170–178. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.03.002>
- MISAU, & MASA. (2019). *Plano Nacional de Acção Contra a Resistência Antimicrobiana - Moçambique* (p. 68). LEIMA IMPRESSÕES ORIGINAIS, LDA.
- Mulchandani, R., Wang, Y., Gilbert, M., & Van Boeckel, T. P. (2023). Global trends in antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030. *PLOS Global Public Health*, *3*(2), e0001305. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0001305>
- Mund, M. D., Khan, U. H., Tahir, U., Mustafa, B.-, & Fayyaz, A. (2017). Antimicrobial drug residues in poultry products and implications on public health : A review. *International Journal of Food Properties*, *20*(7), 1433–1446. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1212874>
- Nicolau, Q. ., Borges, A. C. ., & Souza, J. G. (2011). Cadeia produtiva avícola de corte de Mocambique: Caracterizacao e Competitividade. *Revista de Ciencias Agrarias*, *2006*.
- Okerman, L., De Wasch, K., & Hoof, J. Van. (1998). Detection of antibiotics in muscle tissue with microbiological inhibition tests: Effects of the matrix. *Analyst*, *123*(11), 2361–2365. <https://doi.org/10.1039/a804903c>

- Okerman, L., Hoof, J. Van, & Debeuckelaere, W. (1998). Evaluation of the European Four-Plate Test as a Tool for Screening Antibiotic Residues in Meat Samples from Retail Outlets. *Journal of AOAC International*, 81(1), 51–56. <https://doi.org/10.1093/jaoac/81.1.51>
- Okocha, R. C., Olatoye, I. O., & Adedeji, O. B. (2018). Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture. *Public Health Reviews*, 39(21). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30094087>
- Oppewal, J., Nhabinde, V., & Da Cruz, A. (2016). *Estudo Sectorial: Cadeia de Valor do Frango em Moçambique*.
- Patel, T., Marmulak, T., Gehring, R., Pitesky, M., Clapham, M. O., & Tell, L. A. (2018). Drug residues in poultry meat: A literature review of commonly used veterinary antibacterials and anthelmintics used in poultry. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 41(6), 761–789. <https://doi.org/10.1111/jvp.12700>
- Pikkemaat, M. G. (2009). Microbial screening methods for detection of antibiotic residues in slaughter animals. *Anal Bioanal Chem*, 395, 893–905. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2841-6>
- Pikkemaat, M. G., Rapallini, M. L. B. A., Zuidema, T., Elferink, J. W. A., Oostra-van Dijk, S., & Driessen-van Lankveld, W. D. M. (2011). Screening methods for the detection of antibiotic residues in slaughter animals: Comparison of the European union four-plate test, the Nouws antibiotic test and the premi® test (applied to muscle and kidney). *Food Additives and Contaminants - Part A*, 28(1), 26–34. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.535027>
- Rahmani, P., Behshid, M., Seif-Farshad, M., Mousavi, F. S., & Tavani, F. M. (2023). Moral awareness and its relationship with moral sensitivity among Iranian nursing students : A basis for nursing ethics education. *Nursing Open*, 10, 773–780. <https://doi.org/10.1002/nop2.1344>
- Sanders, P., Vanderhaeghen, W., Fertner, M., Fuchs, K., Obritzhauser, W., Agunos, A., Carson, C., Borck Høg, B., Dalhoff Andersen, V., Chauvin, C., Hémonic, A., Käsbohrer, A., Merle, R., Alborali, G. L., Scali, F., Stärk, K. D. C., Muentener, C., van Geijlswijk, I., Broadfoot, F., ... Dewulf, J. (2020). Monitoring of Farm-Level Antimicrobial Use to Guide Stewardship: Overview of Existing Systems and Analysis of Key Components and Processes. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(March). <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00540>
- Shahid, M. A., Siddique, M., Sajjad-Ur-Rehman, Hamed, S., & Hussain, A. (2007). Evaluation of a Microbiological Growth Inhibition Assay as a Screening Test for the Presence of Antibiotic Residues in Poultry Meat. *American Journal of Food Technology*, 2(5), 457–461.
- Silveira, V. G. da. (2016). *Estudo da Depleção de Fluorquinolonas e Tetraciclina em Frangos de*

*corte empregando LC-MS/MS. Universidade Federal de Santa Maria.*

- Spinosa, H. S., Górnjak, S. L., & Bernardi, M. M. (2017). *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária* (6.<sup>a</sup> ed.). Guanabara Koogan, Ltda.
- Spinosa, H. S., & Tarraga, K. M. (2017). Considerações Gerais sobre Antimicrobianos. Em H. S. Spinosa, S. L. Górnjak, & M. M. Bernardi (Eds.), *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária* (6.<sup>a</sup> ed., pp. 671–686). Guanabara Koogan, Ltda.
- The European Commission. (2010). *Pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin* (p. 72). Official Journal of the European Union L 15/1.
- Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Van Boeckel, T. P., Glennon, E. E., Chen, D., Gilbert, M., Robinson, T. P., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2017). Reducing antimicrobial use in food animals. *Science*, 357(6358), 1350–1352. <https://doi.org/10.1126/science.aao1495>
- Van, T. T. H., Yidana, Z., Smooker, P. M., & Coloe, P. J. (2020). Antibiotic use in food animals worldwide, with a focus on Africa: Pluses and minuses. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 20, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.031>
- Verplanken, B., & Orbell, S. (2022). Attitudes, Habits and Behavior Change. *Annual Review of Psychology*, 73, 327–352. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-020821-011744>
- Vishnuraj, M. R., Kandeepan, G., Rao, K. H., Chand, S., & Kumbhar, V. (2016). Occurrence, public health hazards and detection methods of antibiotic residues in foods of animal origin: A comprehensive review. *Cogent Food and Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1235458>
- Watkins, H. S., & Kožárová, I. (2019). Broad Spectrum Detection of Antibiotic Residues in Poultry Meat by a Multi-Plate Assay. *Folia Veterinaria*, 63(3), 9–17. <https://doi.org/10.2478/fv-2019-0022>

## 10 ANEXOS

### ANEXO 1: QUESTIONÁRIO AOS CRIADORES DE FRANGOS DE CORTE SOBRE PRÁTICAS E CONHECIMENTOS DO USO DE ANTIMICROBIANOS.

#### PARTE I: DADOS PESSOAIS DO AVICULTOR E DA UNIDADE DE PRODUÇÃO

1. Nome do avicultor (opcional): \_\_\_\_\_;
2. Idade (anos): \_\_\_\_\_ ; Sexo: M \_\_\_ F \_\_\_
3. Escolaridade: Não frequentou a escola \_\_\_; Ensino Primário concluído \_\_\_; Ensino Secundário concluído \_\_\_; Ensino Superior concluído \_\_\_
4. Distrito: \_\_\_\_\_; Bairro: \_\_\_\_\_
5. Coordenadas Geográficas (GPS): \_\_\_\_\_
6. Duração do ciclo (dias): \_\_\_\_\_; Nº de aves/ciclo: \_\_\_\_\_; Nº de ciclos/ano: \_\_\_\_\_
7. Além de frangos, cria outros animais pecuários na mesma unidade de produção? SIM \_\_\_\_\_; NÃO \_\_\_\_\_
- 7.1. Se respondeu "Sim" para a questão anterior, indique a(s) outra(s) espécie(s) que cria:  
Poedeiras \_\_\_\_\_ Suínos \_\_\_\_\_  
Patos \_\_\_\_\_ Caprinos \_\_\_\_\_  
Coelhos \_\_\_\_\_ Outras \_\_\_\_\_
8. É membro de alguma associação de criadores? SIM \_\_\_\_\_; NÃO \_\_\_\_\_
9. Observa medidas de biossegurança? SIM \_\_\_\_\_; NÃO \_\_\_\_\_
- 9.1. Se respondeu SIM em 8, que medida (s) específica (s) são aplicadas na unidade?  
Rodilúvios \_\_\_\_\_ Vazio sanitário \_\_\_\_\_  
Pedilúvios \_\_\_\_\_ Cortinas biológica \_\_\_\_\_  
Controlo de pragas \_\_\_\_\_ Outras (Especifique) \_\_\_\_\_
10. O que usa para o controlo de pragas e animais indesejáveis?  
Veneno (insecticidas, raticidas/rodenticidas...) \_\_\_\_\_  
Pavilhões a prova de pragas/insectos/roedores \_\_\_\_\_  
Outra forma (Especifique) \_\_\_\_\_

#### PARTE II. QUESTÕES RELACIONADAS COM O MANEIO (USO DE ANTIBIÓTICOS) E RISCOS ASSOCIADOS

1. A unidade de produção beneficia de alguma assistência técnica à criação? SIM \_\_\_\_\_; NÃO \_\_\_\_\_
- 1.1. Se respondeu SIM, quem faz essa assistência?  
a) Veterinário/a particular \_\_\_\_\_  
b) Extensionista publico \_\_\_\_\_  
c) Extensionista privado \_\_\_\_\_  
d) Outro (especifique) \_\_\_\_\_ ( \_\_\_\_\_ )
2. Usa fármacos (medicamentos) veterinários durante a criação? SIM \_\_\_\_\_; NÃO \_\_\_\_\_
- 2.1 Se respondeu SIM em 2, possui registo do uso dos medicamentos? SIM \_\_\_\_\_; NÃO \_\_\_\_\_

**Nota:** Além do questionário, serão seleccionados alguns criadores para a monitoria / seguimento do uso de fármacos, em pelo menos dois ciclos / lotes / bandos, usando uma ficha-modelo específica (Anexo 3).

**2.2. Se respondeu SIM em 2, que tipo de fármacos (medicamentos) você tem usado?**

- a) Coccidiostatos e vacinas \_\_\_
- b) Antibióticos e vacinas \_\_\_
- c) Coccidiostatos e antibióticos \_\_\_
- d) Vitaminas e antibióticos \_\_\_
- e) Vitaminas e vacinas \_\_\_
- f) Vitaminas e coccidiostatos \_\_\_
- g) Só vacinas \_\_\_
- h) Só antibióticos \_\_\_
- i) Só coccidiostatos \_\_\_
- j) Só vitaminas \_\_\_
- k) Todos \_\_\_
- l) Outros (especifique) \_\_\_ (\_\_\_\_\_)

2.1.1. **Se usa antibióticos, conhece a/o (s) classe / grupo (s) que usa?** SIM \_\_\_\_\_; NÃO \_\_\_\_\_

**2.1.1.1. Se respondeu SIM, qual é a classe que mais tem usado?**

- a) Sulfonamidas \_\_\_\_\_
- b) Penicilinas \_\_\_\_\_
- c) Tetraciclina \_\_\_\_\_
- d) Aminoglicosídeos \_\_\_\_\_
- e) Estreptomicinas \_\_\_\_\_
- f) Outra (especifique) \_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**3. Onde adquire os medicamentos/antibióticos?**

- a) Na farmácia Veterinária \_\_\_
- b) No fornecedor de insumos \_\_\_
- c) Outra fonte (especifique) \_\_\_ (\_\_\_\_\_)
- d) Prefiro não indicar \_\_\_

**4. Quais são as razões que lhe levam a usar os antibióticos ou outros medicamentos veterinários?**

- a) medo de perder o bando \_\_\_\_\_
- b) ocorrência de doenças na região \_\_\_\_\_
- c) recomendação do fornecedor de insumos \_\_\_\_\_
- d) recomendações do veterinário / extensionista \_\_\_\_\_
- e) conselhos de outros avicultores / criadores \_\_\_\_\_
- f) Outras razões (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**5. Ao longo do ciclo de criação, quando administra os medicamentos?**

- a) Do 1º ao último dia \_\_\_\_\_
- b) Nos primeiros 7 dias \_\_\_\_\_
- c) Dos 7 aos 21 dias \_\_\_\_\_
- d) Depois dos 21 dias \_\_\_\_\_

**6. Como é que decide (escolhe) o medicamento a usar?**

- a) Segundo a recomendação do/a veterinário/a ou extensionista \_\_\_\_\_
- b) Segundo a recomendação do fornecedor de insumos \_\_\_\_\_
- c) Segundo a recomendação de outros criadores \_\_\_\_\_
- d) De acordo com o preço \_\_\_\_\_
- e) Outro critério (especifique) \_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**7. Em que circunstância concreta decide administrar antibióticos?**

- a) As aves têm sinais de doença (sonolência, fraqueza, febres, ronco ao respirar, inapetência...) \_\_\_\_\_

- b) As aves têm baixo peso\* entre 7 e 21 dias \_\_\_\_\_
  - c) As aves têm baixo peso depois de 21 dias \_\_\_\_\_
  - d) Em qualquer circunstância (é rotina) \_\_\_\_\_
  - e) Outras circunstâncias (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)
- \*(Por baixo peso referimo-nos a um peso vivo, na data da pesagem, inferior ao peso recomendado para o frango daquela idade!)*

**8. Quem administra os antibióticos às aves?**

- a) Eu próprio/a \_\_\_\_\_
- b) O/a veterinário/a ou técnico/a ou extensionista \_\_\_\_\_
- c) O guarda / vigilante ou assistente de criação \_\_\_\_\_
- d) Outro membro da família \_\_\_\_\_
- e) Outra pessoa (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**9. Como você/outra pessoa faz a administração dos antibióticos?**

- a) Diluídos na água de abeberamento \_\_\_\_\_
- b) misturados na ração \_\_\_\_\_
- c) Injectável \_\_\_\_\_
- d) Aplicação tópica ocular \_\_\_\_\_
- e) Outra forma (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_).

**10. Quando é que suspende a administração de medicamentos?**

- a) Quando os sinais de doença desaparecem \_\_\_\_\_
- b) Quando o/a veterinário/a ou extensionista recomendam \_\_\_\_\_
- c) Assim que os medicamentos acabam \_\_\_\_\_
- d) Faltando \_\_\_ (indique o número) dias para a saída do lote \_\_\_\_\_
- e) Depois de \_\_\_ (indique o número) aplicações \_\_\_\_\_
- f) Outra opção (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**11. O que faz em caso de doença faltando 1 semana para a saída do lote?**

- a) Administrar antibióticos e tirar o lote na data prevista \_\_\_\_\_
- b) Abater os animais e vender como frango congelado \_\_\_\_\_
- c) Administrar antibióticos e adiar a saída do lote \_\_\_\_\_
- d) Separar as aves doentes e tirar o lote \_\_\_\_\_
- e) Outra decisão (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**12. O que faz com as sobras de medicamentos?**

- a) Guardar para as próximas aplicações \_\_\_\_\_
- b) Descartar no lixo \_\_\_\_\_
- c) Administrar às aves até acabar \_\_\_\_\_
- d) Outro tratamento (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**13. O que faz com os recipientes vazios de medicamentos?**

- a) Jogar no lixo comum \_\_\_\_\_
- b) Queimar \_\_\_\_\_
- c) Enterrar \_\_\_\_\_
- d) Armazenar para serem recolhidos à lixeira Municipal \_\_\_\_\_
- e) Reutilizar como recipientes domésticos \_\_\_\_\_
- f) Outro tratamento (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_).

**14. Como vende os frangos?**

- a) Vivos \_\_\_\_\_
- b) Carcaças frescas \_\_\_\_\_
- c) Carcaças congeladas \_\_\_\_\_
- d) Outra forma (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**15. A quem, de preferência, vende os frangos?**

- a) Amigos / familiares / colegas / vizinhos \_\_\_\_\_

- b) Revendedores de mercado \_\_\_\_\_
- c) Matadouros \_\_\_\_\_
- d) Qualquer interessado (sem preferência) \_\_\_\_\_
- e) Outro grupo (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**15. Já ouviu falar sobre o a ocorrência de resíduos de antibióticos nos alimentos de origem animal (ex: na carne de frango)?**

- a) SIM \_\_\_\_\_
- b) NÃO \_\_\_\_\_
- c) Não tenho certeza se já ou não \_\_\_\_\_

**15.1. Se respondeu SIM, conhece ou terá ouvido falar sobre os efeitos (riscos) dos resíduos de antibióticos na saúde humana / saúde pública?**

SIM  NÃO

**15.1.1. Se respondeu SIM, qual efeito conhece mais ou ouviu falar mais sobre?**

- a) Toxicidade aguda directa \_\_\_\_\_
- b) Cancerogenicidade/carcinogenese \_\_\_\_\_
- c) Resistência Antimicrobianos \_\_\_\_\_
- d) Impacto sobre a flora/microbiota intestinal \_\_\_\_\_
- d) Outro efeito (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**15.1.2. Por que via ouviu falar sobre os efeitos (riscos) dos resíduos de antibióticos na saúde pública?**

- a) Rádio / TV \_\_\_\_\_
- b) Amigos / familiares / colegas \_\_\_\_\_
- c) Na escola / faculdade \_\_\_\_\_
- d) Pelo veterinário/extensionista \_\_\_\_\_.
- e) Outra fonte (especifique) \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_)

**16. Você usa a carne dos frangos que cria na alimentação própria ou da sua família?**

- a) Sim, frequentemente \_\_\_\_\_
- b) Sim, algumas vezes \_\_\_\_\_
- c) Sim, raramente \_\_\_\_\_
- d) Nunca (de forma alguma) \_\_\_\_\_
- e) Prefiro não responder \_\_\_\_\_

*Obrigado pela colaboração!*

**ANEXO 2: FICHA-MODELO DE RECOLHA DE INFORMAÇÕES SOBRE O USO DE FÁRMACOS POR CICLO DE CRIAÇÃO (LOTE / BANDO)**

Capacidade máxima do aviário: \_\_\_\_\_; Número de pintos-do-dia alojados: \_\_\_\_\_ Data da recepção: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Registo de mortalidade semanal:

➤ Semana 1: \_\_\_\_\_; Semana 2: \_\_\_\_\_; Semana 3: \_\_\_\_\_; Semana 4: \_\_\_\_\_; Semana 5: \_\_\_\_\_; Semana 6: \_\_\_\_\_

Data do início da saída dos frangos: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_; Data do fim da saída dos frangos: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data	Nome Comercial do fármaco	Fabricante	Princípio (s) activo (s)	Propósito do uso (P, T, E) *	Forma de administração		Dosagem		Preparação (Quantidades)		Período de suspensão (dias)	Responsável pela preparação e administração (criador, vet. / tec.)
					Na água	Na ração	Diária (mg/l ou kg)	Duração (dias)	Qtd. Droga	Qtd. Água/ração		

\* Propósito do uso do fármaco (P – prevenção; T - Tratamento, E – Estimulo do crescimento / conversão alimentar)

### ANEXO 3: LISTA DE MATERIAIS E EQUIPAMENTO PARA A PESQUISA LABORATORIAL

<p><b>Equipamentos, vidraria, consumíveis e outros:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Estufas de incubação (30 ± 1°C, 37 ± 1 °C)</li> <li>✓ Cabine de segurança / fluxo laminar</li> <li>✓ Microscópio óptico comum,</li> <li>✓ Lupa / contador digital de colónias</li> <li>✓ Placas de petri (diâmetro: 90 – 120mm)</li> <li>✓ Micropipetas (1 - 20µl, 20 – 200µl, 200 - 1000µl)</li> <li>✓ Pontas (<i>tips</i>) de micropipetas (1 - 20µl, 20 – 200µl, 200 - 1000µl)</li> <li>✓ Tesouras e/ou lâminas inoxidáveis</li> <li>✓ Pinças de aço inoxidável</li> <li>✓ Anças de inoculação estéreis</li> <li>✓ Tucos <i>falcon</i> (15ml, 50ml) e <i>ependorf</i> (1ml, 2ml)</li> <li>✓ Frascos volumétricos <i>pyrex</i> (250ml, 500ml, 1000ml)</li> <li>✓ Balões volumétricos (100ml, 200ml, 500ml)</li> <li>✓ Provetas graduadas (10ml, 50ml, 250ml, 500ml, 1000ml)</li> <li>✓ Tubos de ensaio</li> <li>✓ Régua milimétrica</li> <li>✓ Película de alumínio</li> <li>✓ Filme plástico flexível (<i>Parafilm</i>)</li> <li>✓ Papel-toalha (papel higiênico)</li> <li>✓ Luvas laboratoriais comuns</li> <li>✓ Escala óptica de <i>Mac Farland</i></li> </ul>	<p><b>Amostras</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Carcaças de frangos (peito e cocha)</li> <li>✓ Miudezas de frangos (fígados e moelas)</li> </ul> <p><b>Reagentes:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Solução salina (NaCl).</li> <li>✓ Solução de <i>Trimethoprim</i> a 0,005mg/ml</li> <li>✓ Água destilada</li> <li>✓ Água destilada esterilizada</li> <li>✓ Etanol a 70%</li> </ul> <p><b>Meios de cultura:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Agar para teste de inibição antimicrobiana (<i>Mueller Hinton</i>) ajustado a pH 6,0; pH 7,2 e pH 8,0 (<i>HIMEDIA Laboratories Pvt. Ltd, Mumbai, India</i>)</li> <li>✓ Agar nutritivo [<i>Nutrient agar</i> (NA)]</li> <li>✓ Caldo nutritivo [<i>Nutrient broth</i> (NB)]</li> <li>✓ <i>Tryptone Soy Broth</i> (TSB)</li> </ul>
<p><b>Microorganismos-teste:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>Bacillus subtilis</i> BGA (ATCC 6051)</li> <li>✓ <i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)</li> </ul>	<p><b>Padrões de antibioticos / controles (<i>Sigma Aldrich/ Mast Diagnosis</i>):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Discos de <i>Penicilin G</i> (10 Und);</li> <li>✓ Discos de <i>Sulphadimidine</i> (30 µg)</li> <li>✓ Discos de <i>Streptomycin</i> (30 µg)</li> <li>✓ Discos de <i>Erythromycin</i> (30 µg)</li> </ul>

**ANEXO 4: DELINEAMENTO DO ENSAIO E CODIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS**

Ordem (#frango)	Tratamento (princípio antibiótico)	Momento (dia)	Repetição	Código da amostra
1	T1 (sulfaquinoxalina, sulfametaxina e sulfadimetoxina sódicas + trimetoprima = <i>Sulfonamidas</i> )	D1	R1	T1D1R1
2			R2	T1D1R2
3			R3	T1D1R3
4		D2	R1	T1D2R1
5			R2	T1D2R2
6			R3	T1D2R3
7		D3	R1	T1D3R1
8			R2	T1D3R2
9			R3	T1D3R3
10	T2 (oxitetraciclina = <i>Tetraciclinas</i> , eritromicina = <i>Macrolídeos</i> , estreptomicina = <i>Aminoglicosidos</i> , sulfato de colistina = <i>Polimixinas</i> )	D1	R1	T2D1R1
11			R2	T2D1R2
12			R3	T2D1R3
13		D2	R1	T2D2R1
14			R2	T2D2R2
15			R3	T2D2R3
16		D3	R1	T2D3R1
17			R2	T2D3R2
18			R3	T2D3R3
19	T3 (enrofloxacina = <i>Fluoroquinolonas</i> )	D1	R1	T3D1R1
20			R2	T3D1R2
21			R3	T3D1R3
22		D2	R1	T3D2R1
23			R2	T3D2R2
24			R3	T3D2R3
25		D3	R1	T3D3R1
26			R2	T3D3R2
27			R3	T3D3R3