



Rita Lourenço Matos

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Contaminação de Peixes de Aquacultura por Tetraciclina” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dra. Ana Carolina Castanheira e do Professor Doutor André Monteiro Pais Teixeira Pereira e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Rita Lourenço Matos

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Contaminação de Peixes de Aquacultura por Tetraciclina” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dra. Ana Carolina Castanheira e do Professor Doutor André Monteiro Pais Teixeira Pereira e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Rita Lourenço Matos estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº2012139969, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Contaminação de peixes de aquacultura por Tetraciclinas” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 08 de setembro de 2017.

Rita Lourenço Matos  
(Rita Lourenço Matos)

## **Agradecimentos**

A realização da Monografia e Relatório de Estágio assinala a proximidade do final de uma etapa de relevo para todo o estudante da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Começo assim por agradecer à Faculdade de Farmácia, a todos os representantes e elementos que participaram na minha formação, em particular, ao Professor Dr. André Pereira pela disponibilidade, vontade em ajudar e interesse que imprimiu na orientação da minha Monografia.

Agradeço à Dra. Graça Lídia Gonçalves por me ter possibilitado o estágio na Farmácia Loureiro, por me ter aberto as portas com a maior transparência e despoletar ainda mais o gosto pelas Ciências Farmacêuticas e a oportunidade de poder desempenhar o papel de Farmacêutica.

Agradeço a toda a equipa técnica da Farmácia Loureiro, à Dra. Ana Margarida Pestana, Dra. Ana Paula Aires, Dr. Bruno Agria, Joana Vilão, @ fXYg; i YXYğ Dra. Raquel Lobo, e em particular à Dra. Ana Carolina Castanheiro, pela disponibilidade, formação que me proporcionaram e amizade.

Agradeço aos meus pais, Rosário e José, à minha irmã Joana e restante família pelo amor de todos os dias.

Agradeço ao João Pedro pelo sentido que veio dar aos meus negros Verdes anos, e que dá a todos os meus dias.

Agradeço à Ana Jorge, Inês Picanço, Margarida Padrão e Sara Maricato pela beleza do que percorremos ao longo destes cinco anos, pela amizade construída e pela pessoa que de mim fazem.

Agradeço às Mondeguinas- Tuna Feminina da Universidade de Coimbra – pelos “sonhos de vida criados, paixões não esquecidas, beleza de tempos que foram histórias sem fim vividas”.

# **Parte I**

## **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

## Índice

### **Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

Introdução.....	8
A Farmácia Loureiro.....	9
Sumário da análise SWOT .....	10
Pontos Fortes.....	11
Dinamização da farmácia.....	11
Organização do estágio .....	11
Equipa técnica.....	12
Fidelização de utentes/ Diversidade de utentes.....	13
Sifarma 2000®.....	13
Ações de promoção de saúde .....	14
Serviços.....	15
Bases Teóricas e Laboratoriais .....	15
Pontos Fracos.....	16
Limitações no conhecimento em relação à posologia e duração de tratamentos de MNSRM .....	16
Limitações no conhecimento de dermocosmética, suplementação e homeopatia..	16
Revisão de medicação e acompanhamento farmacoterapêutico .....	17
Oportunidades.....	18
Formações .....	18
Receitas sem papel .....	18
Ameaças.....	19
Número elevado de produtos para o mesmo efeito.....	19
Locais de venda de MNSRM.....	19
Carência de formação prática .....	20

---

Casos Clínicos.....	21
Considerações Finais .....	23
Bibliografia.....	24
Anexos.....	25
Abreviaturas .....	30
Introdução.....	31
Antibioterapia em aquacultura .....	32
Legislação veterinária.....	33
Metodologias analíticas para a determinação de tetraciclinas em peixes .....	34
Ocorrência de tetraciclinas.....	37
Toxicidade das tetraciclinas em aquacultura.....	40
Efeitos no meio ambiente .....	40
Emergência de resistências bacterianas .....	41
Efeitos dos antibióticos no hospedeiro.....	42
Efeitos Antropológicos .....	43
Conclusão .....	44
Bibliografia.....	46

## **Abreviaturas**

HDL – *Hight Density Protein*

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL – *Low Density Protein*

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

OTC – *Over The Counter*

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## Introdução

*“A farmácia comunitária, dada a sua acessibilidade à população, é uma das portas de entrada no Sistema de Saúde. É um espaço que se caracteriza pela prestação de cuidados de saúde de elevada diferenciação técnico-científica, que tenta servir a comunidade sempre com a maior qualidade. Na farmácia comunitária realizam-se atividades dirigidas para o medicamento e atividades dirigidas para o doente” (1).*

De facto, a farmácia comunitária será sempre o espaço onde o farmacêutico poderá contemplar, em pleno, a missão de agente da saúde pública.

Por valorizar o contacto privilegiado com o utente e poder ser fonte de informação técnico-científica útil para comunidade, a farmácia comunitária sempre foi a vertente profissional que mais ambicionei. Sendo também, a razão pela qual realizei, pela íntegra, o estágio curricular em farmácia comunitária.

No culminar destes 4 anos e meio de formação surge finalmente a oportunidade, por um período de tempo considerável, de poder aplicar conhecimentos adquiridos e de poder completar tantos outros.

O presente relatório foi assim elaborado no âmbito da realização da unidade curricular Estágio Curricular na Farmácia Loureiro, que decorreu entre 30 de janeiro de 2017 a 16 de junho de 2017, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Carolina Castanheira.

Para uma avaliação holística de todo o meu percurso neste estágio realizei uma análise SWOT (acrónimo de *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*). Esta análise é uma ferramenta de gestão muito utilizada para empresas, produtos, pessoas ou locais para o diagnóstico estratégico (2). Permite uma descrição estruturada dos pontos fortes e pontos fracos (análise interna), oportunidades e ameaças (análise externa) com os quais lidei relativos à integração da aprendizagem, adequação do Curso às perspetivas profissionais futuras e à minha visão da realidade da Farmácia Comunitária e profissão do Farmacêutico.

## **A Farmácia Loureiro**

A Farmácia Loureiro foi fundada em 1988, tendo sido transferida para as atuais instalações em 2010. Fica situada na Rua dos Cantoneiros, em Antanhol, numa pequena zona comercial, razão pela qual existe um grande e variado leque de utentes.

O horário de funcionamento é das 8:30h às 20:00h de segunda a sexta-feira e das 9:00h às 19:00h aos sábados.

A Farmácia Loureiro tem uma sala de atendimento ao público de grandes dimensões com cinco postos de atendimento e onde encontram expostos produtos organizados por secções distintas, como a de MNSRM, dermocosmética, puericultura e dispositivos médicos. Na área de atendimento existe um gabinete, adjacente, onde são administradas vacinas e medicamentos injetáveis e onde se realiza a medição de parâmetros bioquímicos. Este gabinete é também utilizado quando o utente necessita de um ambiente privado para expor uma situação específica, bem como para a realização das consultas de Nutrição e Podologia. Na zona posterior à zona de atendimento situa-se o gabinete da direção técnica, o laboratório e a zona destinada à receção de encomendas. No piso inferior situa-se o armazém.

A equipa da Farmácia Loureiro é constituída por seis farmacêuticos, um técnico de farmácia e um técnico auxiliar de farmácia.

## Sumário da análise SWOT

### PONTOS FORTES

Dinamização da Farmácia  
Organização do estágio  
Equipa técnica  
Fidelização de utentes/  
Diversidade de utentes  
Sifarma 2000®  
Serviços  
Ações de promoção de  
saúde  
Bases Teóricas e Laboratoriais

### PONTOS FRACOS

Limitação do conhecimento em  
relação a posologia e duração  
de tratamentos  
  
Limitação de conhecimentos  
em dermocosmética,  
puericultura, suplementação e  
homeopatia  
  
Revisão de medicação e  
acompanhamento  
farmacoterapêutico

### OPORTUNIDADES

Receitas sem papel  
  
Formações

### AMEAÇAS

Locais de venda de MNSRM  
  
Número elevado de produtos  
para o mesmo efeito  
  
Formação prática limitada

## Pontos Fortes

### Dinamização da farmácia

Na farmácia Loureiro realizam-se campanhas e promoções de diferentes tipos de produtos, como dermocosmética e suplementação. A entrada de campanhas e promoções é muitas vezes dinamizada por profissionais conselheiros das marcas dos produtos, que prestam um aconselhamento personalizado aos utentes. Estas ações obrigam a que muitas vezes os lineares sejam reestruturados e pensados o que confere à farmácia uma imagem de constante mudança e novidade suscitando o interesse por parte do utente. É muito importante expor os produtos que são publicitados na televisão e *outdoors*, bem como produtos que estão mais adequados à estação do ano. A farmácia Loureiro para além do espaço físico, dispõe também de uma página de *facebook*, onde divulga todas as campanhas, promoções e ações, no sentido de se aproximar da população via eletrónica e, também, de se atualizar, sendo sempre uma Farmácia que preza pela mudança para melhor.

### Organização do estágio

O meu estágio foi dividido por várias fases sequenciais, o que me permitiu trabalhar em todas as áreas que envolvem o circuito do medicamento e ter as responsabilidades inerentes a cada uma das etapas. Numa primeira fase realizei as atividades relacionadas com a receção e o aprovisionamento de todos os produtos da farmácia. Nesta fase ganha-se um maior sentido de organização e gestão. Ao iniciar este contacto com todos os medicamentos comecei a conseguir associar os princípios ativos a nomes comerciais e embalagens. Nesta etapa, para além da receção dos produtos, pude aprender como se faz a gestão dos mesmos, conferir as validades, fazer devoluções e aprovisionamento.

Na fase seguinte comecei a participar na preparação dos manipulados, a fazer a reconstituição de preparações extemporâneas, e iniciei também o contacto com o utente através da medição da pressão arterial e da medição de parâmetros bioquímicos, como a glicémia e o perfil lipídico. Aquando do meu estágio, a farmácia adquiriu um novo aparelho de medição de parâmetros bioquímicos, sendo bastante benéfico para mim, já

que tive formação sobre o seu funcionamento e pude praticar bastante o procedimento da medição. Nesta fase comecei também a ter contacto com o receituário. Considero que é de extrema importância antes de iniciar o atendimento ao público pois permite uma familiarização com as receitas e permite detetar informações importantes, como os diferentes sistemas de comparticipação e os erros de validação.

A farmácia disponibiliza também o serviço de administração de injetáveis e vacinas, onde tive contacto com o processo preparação e com vias de administração diferentes.

Cumulativamente fui presenciando e acompanhando atendimentos feitos pelos farmacêuticos, o que me permitiu começar a assimilar competências. Inicialmente os atendimentos foram realizados com acompanhamento por parte do farmacêutico e após ganhar alguma autonomia iniciei mais ativamente o atendimento ao balcão.

A organização sequencial do meu estágio permitiu-me apreender uma visão holística do percurso que o produto atravessa até alcançar o utente, tendo concluído que este deve ser bem conhecido por todos os técnicos e farmacêuticos da farmácia, já que, num mercado cada vez mais competitivo, a diferenciação depende muitas vezes da capacidade de organização e gestão de toda a equipa técnica.

### Equipa técnica

Um dos pontos fortes deste estágio foi a aprendizagem adquirida com toda a equipa da Farmácia Loureiro. Composta por farmacêuticos, técnicos de farmácia e técnicos auxiliares de farmácia, com diferentes experiências profissionais, todos me transmitiram os seus conhecimentos e esclareceram sempre com máxima acessibilidade, colocando sempre a minha aprendizagem como uma prioridade. Posso afirmar que toda a equipa é dotada de uma capacidade de relação que me permitiu uma integração rápida e foi-me transmitida confiança para que pudesse expor todas as minhas dúvidas. Constituída por jovens profissionais com formação atualizada contínua, com um sentido de trabalho em equipa e entreadajuda, que se reflete nos serviços diários da farmácia, tornando os mesmos mais agradáveis para todos.

## Fidelização de utentes/ Diversidade de utentes

A Farmácia Loureiro fica localizada a 7 Km do centro da cidade de Coimbra. Apesar da proximidade à cidade não deixa de estar no centro de uma aldeia onde há um grande sentido de comunidade e proximidade entre as pessoas. Este aspeto é muito sentido na farmácia, havendo uma clara procura por parte dos utentes no esclarecimento de dúvidas quanto ao modo de administração e posologia da medicação, bem como, dúvidas relativas a resultados de análises clínicas ou marcação de exames. Há assim uma fidelização por parte dos utentes à farmácia, o que facilita muito o aconselhamento farmacêutico, tornando as medidas farmacológicas e não farmacológicas mais dirigidas e personalizadas. Por outro lado, a localização da farmácia numa zona comercial e de passagem faz com que a farmácia acompanhe utentes de todas as idades o que permitiu um estágio mais dinâmico, com situações de atendimento diversificadas.

### Sifarma 2000®

A Farmácia Loureiro utiliza como *software* de trabalho o *Sifarma 2000*®. Este sistema informático desenvolvido pela *Glintt*®, uma empresa do universo empresarial da Associação Nacional dos Farmacêuticos, constitui uma ferramenta com grande potencial e que considero muito útil no *backoffice* e no atendimento. No *backoffice* constitui uma das ferramentas de trabalho essencial permitindo a receção de encomendas, faturação do receituário, controlo de prazos de validade, gestão de *stocks*, entre outros. É também de extrema importância no atendimento, pois além de ser bastante intuitivo, permite ter acesso a informação científica da maioria dos medicamentos, alerta para precauções a ter durante o uso do medicamento e para a possibilidade de interações. Permite assim esclarecer dúvidas que surjam durante o aconselhamento, aumentando a segurança e eficácia do aconselhamento ao utente. Outra funcionalidade deste *software* é a possibilidade de criação de ficha do utente, na qual é possível registar valores de parâmetros medidos na farmácia e onde ficam registados os medicamentos dispensados ao utente, possibilitando um melhor acompanhamento do mesmo.

Durante o Curso do Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas (MICF) frequentei uma breve formação sobre este *software*, que me permitiu ter um primeiro contacto e obter um conhecimento geral das suas funcionalidades básicas. No decorrer

do estágio fui desenvolvendo uma maior destreza no seu manuseamento, permitindo-me uma utilização confortável do programa.

### Ações de promoção de saúde

Enquanto estagiária tive a oportunidade de participar em ações de promoção e proteção da saúde pública, constituindo este um dos pontos mais importantes do meu percurso. No decorrer do meu estágio pude participar na organização de duas iniciativas, o rastreio de doenças cardiovasculares e uma ação de sensibilização de proteção solar nas escolas (Anexo 1 e 2).

O rastreio de saúde cardiovascular decorreu durante três dias no mês de abril, sendo totalmente gratuito e acessível a todos os utentes, mediante marcação prévia. Em cada rastreio foram medidos alguns parâmetros com relevância para a doença cardiovascular, como o Índice de Massa Corporal (IMC), tensão arterial, perímetro abdominal e perfil lipídico: colesterol (total, HDL, LDL) e triglicéridos. Esta iniciativa permitiu-me desenvolver não só capacidade de organização e responsabilidade, como me ajudou a identificar e compreender as principais dificuldades dos utentes na adesão à terapêutica, no caso dos utentes já medicados, nos hábitos alimentares e estilos de vida. Este contacto privilegiado com a população contribuiu fortemente para o início da minha interação, enquanto futura farmacêutica, com o utente.

A outra iniciativa, da qual também fui parte integrante da equipa de organização e concretização foi a ação de sensibilização de proteção solar. Esta consistiu numa ação de promoção dos cuidados a ter com o sol, em algumas escolas primárias e jardim-de-infância da região. Nesta ação pude desenvolver capacidade de adequação de linguagem ao público-alvo (crianças com idade entre os 4 e os 9 anos) e mais uma vez fui confrontada com a imprevisibilidade da interação com a população.

Concluí que esta ação teve uma importância extrema na educação destas crianças, pois fomo-nos apercebendo que, nas várias escolas, existiam muitas crianças que não faziam qualquer proteção solar, mesmo quando se encontravam expostas ao sol, não tendo conhecimento do perigo a que estão expostas.

Pude ainda acompanhar o projeto do *Valormed*<sup>®</sup>, onde tive oportunidade de sensibilizar os utentes para os riscos da incorreta eliminação dos medicamentos no lixo doméstico, incentivando-os a entregarem na farmácia, os medicamentos e embalagens que já não voltarão a utilizar e/ou que estejam fora do prazo de validade.

## Serviços

A Farmácia Loureiro dispõe de dispositivos de medição da tensão arterial, glicémia, hemoglobina, colesterol (total, HDL, LDL) e triglicéridos. Ao longo do estágio fui realizando estas medições o que me permitiu não só adquirir competências de manuseamento e utilização capaz, mas também estabelecer um contacto privilegiado com utente, já que é estabelecida uma conversa de cariz mais informal que permite uma melhor avaliação da saúde do utente e, conseqüentemente, um aconselhamento mais eficaz.

Na Farmácia Loureiro existem ainda consultas semanais de nutrição, com um nutricionista e consultas mensais de podologia com uma profissional podologista. Durante o meu estágio fui adquirindo conhecimentos sobre os produtos que ambos os profissionais indicavam aos utentes, melhorando o meu conhecimento de Medicamento Não Sujeito a Receita Médica (MNSRM) e produtos de suplementação destas áreas.

## Bases Teóricas e Laboratoriais

O plano de estudos do MICF é constituído por unidades curriculares bastante diversas, conferindo uma visão abrangente daquilo que são as Ciências Farmacêuticas e as suas futuras saídas profissionais.

Ao longo deste Estágio Curricular, pude constatar que unidades curriculares como Farmacologia I, Farmacologia II e Farmacoterapia constituíram uma base teórica fundamental para a minha formação, tendo sido essenciais para o meu desempenho no reconhecimento dos medicamentos, no entendimento da organização da farmácia e no aconselhamento e dispensa ao utente.

Também na preparação dos manipulados e na reconstituição de preparações extemporâneas senti alguma facilidade apoiada nas bases facultadas pela forte componente laboratorial do curso de Ciências Farmacêuticas. Esta componente laboratorial é assim uma mais valia no desempenho destas funções na Farmácia Comunitária.

## Pontos Fracos

Limitações no conhecimento em relação à posologia e duração de tratamentos de MNSRM

Uma dificuldade que senti, e que considero um ponto fraco do meu estágio, foi a limitação de conhecimentos acerca de alguma medicação e das características de determinados tratamentos. Nos medicamentos não sujeitos a receita médica as questões mais frequentes, colocadas pelos utentes, são relativas à duração da terapêutica e à sua posologia. Numa fase inicial esta foi a minha principal dificuldade, devido à grande variedade de produtos existentes na farmácia e às especificidades do aconselhamento de cada um deles. Esta insegurança aumentava quando se tratavam de utentes pertencentes aos grupos de risco como idosos, crianças e grávidas.

Para colmatar esta falha da minha formação tentei sempre pesquisar informação a cerca de cada produto e solicitei a ajuda aos elementos da equipa da farmácia, que se mostraram sempre disponíveis para me ajudar e para lembrar alguns conceitos esquecidos.

Todos os dias na farmácia surgem situações que proporcionam uma crescente aprendizagem neste sentido e acredito que a experiência bem como o estudo científico constante são as melhores ferramentas para o bom desempenho da prática farmacêutica.

Limitações no conhecimento de dermocosmética, suplementação e homeopatia

Um dos pontos fracos, com que me deparei durante um estágio, foi a limitação de conhecimentos nas áreas de dermocosmética, suplementação e homeopatia.

A área da dermocosmética e suplementação tem muita procura na Farmácia Loureiro. A enorme variedade de produtos e a especificidade das solicitações por parte do utente tornam muito importante o domínio do conhecimento por parte do farmacêutico.

Foi uma surpresa para mim ter sentido dificuldades na área da dermocosmética, já que é uma área abordada durante o MICEF, na Unidade Curricular Dermofarmácia e

Cosmética. No entanto, apercebi-me que esta unidade curricular não responde aos desafios que nos são propostos na farmácia comunitária. Penso que a Unidade Curricular poderia ser mais dirigida para o aconselhamento farmacêutico, onde pudéssemos ter conhecimentos das principais linhas orientadoras que ajudam a suportar o nosso aconselhamento. Na minha opinião, esta Unidade Curricular poderia ainda contemplar um conhecimento geral das diferentes gamas de dermocosmética existentes no mercado, bem como os produtos contemplados por cada uma delas.

A suplementação alimentar é, também, uma área cada vez mais procurada pelos utentes e estes contam muito com o aconselhamento do farmacêutico. Penso que esta é uma área de interesse que poderia ser abordada na Unidade Curricular de Nutrição Humana, onde se poderia explorar em que situações a suplementação será benéfica, os vários constituintes dos suplementos e qual a sua função, bem como uma breve abordagem dos produtos que existem no mercado.

Apesar da procura de produtos homeopáticos ser reduzido na Farmácia Loureiro, o aconselhamento destes também se revelou como um ponto fraco no meu estágio.

Durante o percurso académico penso que não houve formação consistente na vertente da homeopatia o que aliado a um certo ceticismo pessoal, constituiu esta fragilidade.

### Revisão de medicação e acompanhamento farmacoterapêutico

A escassez de oportunidades em prestar os serviços de revisão da medicação e acompanhamento farmacoterapêutico constituíram um dos pontos fracos do meu estágio.

A prestação destes serviços é uma função do farmacêutico muito aprofundada e estudada no Curso de MICF.

Por vezes, o contacto com os utentes durante o ato da dispensa permite um conhecimento do histórico da medicação e clínico feito pelos mesmos. Esta proximidade permite ao farmacêutico uma avaliação sumária da terapêutica, contudo perante a rotina do atendimento, condicionada pelos utentes, esta avaliação torna-se insuficiente.

O contacto que obtive durante esta experiência levou-me a reiterar a importância da existência de um serviço de revisão de medicação e acompanhamento farmacoterapêutico independente do ato da dispensa de medicação. Desta forma, conseguir-se-ia um melhor acompanhamento dos utentes.

## Oportunidades

### Formações

*“Considerando a constante evolução das ciências farmacêuticas e médicas, o farmacêutico deve manter actualizadas as suas capacidades técnicas e científicas para melhorar e aperfeiçoar constantemente a sua actividade, por forma a que possa desempenhar conscientemente as suas obrigações profissionais perante a sociedade” (3).*

As ações de formação são das principais fontes de aquisição de novos conhecimentos, contribuindo em larga escala para o cumprimento do dever do farmacêutico de se manter atualizado nas suas capacidades técnicas e científicas.

Uma das maiores oportunidades que tive no decorrer do meu estágio foi a presença em variadíssimas formações, em distintas áreas. Frequentei formações na área da dermocosmética (*La Roche-Posay*<sup>®</sup>, *Avène*<sup>®</sup>, *Bioderma*<sup>®</sup>, *Isdin*<sup>®</sup>, *A-derma*<sup>®</sup>), produtos de aconselhamento terapêutico (*Benzac*<sup>®</sup>, *Stilnoite*<sup>®</sup>, *PediRelax*<sup>®</sup>), produtos de higiene oral (*Elgydium*<sup>®</sup>), suplementação (*Absorvit*<sup>®</sup>), produtos homeopáticos (*Boiron*<sup>®</sup>) e dispositivos médicos (*Omron*<sup>®</sup>). Pude ainda participar no Fórum Farmácia 2017, organizado pela empresa farmacêutica portuguesa Bial, onde foi discutido o papel do farmacêutico em diversas patologias abordadas.

Todas estas formações foram essenciais para o conhecimento que adquiri no decorrer do estágio curricular. Forneceram-me informações técnico-científicas de cada produto facilitando o aconselhamento aos utentes.

### Receitas sem papel

Ao longo do estágio tive contacto com os vários tipos de receita, de vários organismos de comparticipação, tendo tido oportunidade de apreender todos os procedimentos inerentes a cada um destes. No entanto, pude concluir que o modelo de receitas sem papel é uma mais valia para as farmácias já que torna a conferência de receitas e faturação mais simples. É um método vantajoso também para o utente, pois

permite que os medicamentos estejam incluídos num único documento e não tenham de ser dispensados de uma só vez, permitindo que o utente vá adquirindo a medicação à medida que necessita. Considero que as já implementadas receitas eletrónicas constituíram uma oportunidade no meu estágio. Permitem que não haja erros na dispensa de medicamentos, ao reduzir a necessidade de conferência da receita, o que para além de me conceder uma maior confiança no atendimento deu espaço para me centrar mais no utente.

## Ameaças

### Número elevado de produtos para o mesmo efeito

O facto de existir muita publicidade a diferentes MNSRM e aos produtos da área da suplementação alimentar torna a procura do utente muito repartida. A farmácia vê-se assim obrigada a ter uma grande variedade de produtos para poder responder às necessidades dos utentes. Durante o estágio senti algumas dificuldades no critério de aconselhamento destes produtos. Tentei sempre explorar com pormenor a constituição de cada um de modo a tentar diferenciá-los, mas essa diferença nem sempre existia, apresentando-se assim como uma ameaça no momento do aconselhamento.

### Locais de venda de MNSRM

São cada vez mais os espaços de venda de MNSRM, desde o momento em que as farmácias perderam o exclusivo de venda, situação que obrigou as farmácias a entrar num novo mercado de competição. Apesar da farmácia ser um espaço de prestação de cuidados de saúde e contemplar inúmeros serviços que os novos espaços de venda de MNSRM não podem oferecer, apresenta-se em desvantagem no negócio dos *Over The Counter* (OTC). Esta desvantagem acontece porque estes novos espaços de venda de MNSRM se encontram em grandes superfícies, reconhecidos pela boa acessibilidade e prática de preços mais vantajosa para o utente.

Esta realidade constituiu também uma ameaça para o meu estágio, já que recorrentemente os utentes comparavam os preços praticados na farmácia e nos outros locais de venda e sugeriam que lhes tinha sido aconselhado um produto diferente nesses mesmos locais.

Deparei-me que em certas situações a acessibilidade dos MNSRM e a falta de conhecimento por parte dos utentes e a falta de esclarecimento nestes locais de venda conduzem a uma automedicação descuidada, comprometendo assim a saúde dos utentes.

### Carência de formação prática

Considero que uma ameaça para os recém mestrados em Ciências Farmacêuticas é a entrada no mundo do trabalho com carências de uma formação sólida de cariz prático. Creio que o Curso de MICEF, através das mais variadas unidades curriculares, oferece uma formação que permite uma variada escolha de saídas profissionais. No entanto, deparei-me durante o estágio que seria vantajoso abordar determinados conceitos teóricos mais direcionados para a realidade das saídas profissionais.

Na farmácia comunitária, é muito evidente a concorrência por parte dos cursos técnicos de farmácia, que acabam por ser mais vocacionados para uma componente prática. Este facto acaba por se tornar numa ameaça, já que, por vezes, estes profissionais são prioritariamente contratados por não sobrecarregarem monetariamente a entidade patronal.

## Casos Clínicos

Durante o estágio contactei com algumas situações clínicas em que os utentes procuraram a farmácia para aconselhamento. Tendo oportunidade de prestar este aconselhamento, procurei esclarecer todas as questões colocadas, indicando a terapêutica mais adequada.

A seguir são apresentadas algumas situações clínicas com que me deparei.

### Caso I: Doença Hemorroidária

Homem de 40 anos dirige-se à farmácia com queixas de exteriorização do complexo hemorroidário e questiona que terapêutica deve fazer. O utente refere ainda que tem pequenas hemorragias aquando do esforço defecatório e sente dor.

Aconselhei a pomada retal *Faktu*<sup>®</sup> que tem como princípios ativos o policresuleno, hemostático local, e cinchocaína que é um anestésico local, limitando reversivelmente a sensibilidade dos nervos sensoriais (4). Referi que deveria aplicar uma camada fina cobrindo a região perianal e o canal anal. E para obtenção de uma eficácia máxima o fármaco deve ser aplicado, de preferência, depois do ato defecatório e região rectal ser lavada e seca. Para a lavagem basta utilizar um sabão suave e água morna e para secar aconselhei as toalhetas de limpeza calmantes *Hemofarm Plus*<sup>®</sup>. Ressalvei ainda que o utente deveria evitar o esforço defecatório, aumentando a ingestão de fibras e fluidos, já que evitam a obstipação e as fezes duras e deveria ainda manter bons hábitos defecatórios, pois a necessidade de defecar não deve ser adiada.

### Caso II: Onicomicose

Mulher, com 65 anos, apresenta uma unha do pé com coloração amarelada e espessamento, indicativo de infeção fúngica.

Existem vários produtos disponíveis no mercado para tratar esta patologia. No entanto, devido à experiência que fui adquirindo com os farmacêuticos e a profissional de podologia da farmácia, decidi aconselhar o conjunto antifúngico *Locetar Ef*<sup>®</sup>. Este produto

é um verniz medicamentoso que contém o antifúngico amorolfina. Cada embalagem contém 30 compressas embebidas em álcool isopropílico a 70%, 10 espátulas reutilizáveis e 30 limas descartáveis. O verniz deve ser aplicado uma a duas vezes por semana (5). Antes de aplicar o verniz, deve ser limada a zona afetada, de seguida limpar a superfície da unha com a compressa e posteriormente aplicar o verniz com a espátula facultada na totalidade da superfície afetada e deixar secar bem.

A eliminação de um fungo é um processo moroso, pelo que é muito importante alertar o utente para este facto, realçando que o tratamento só está completo quando a unha crescer completamente saudável, devendo assim o utente continuar o tratamento mesmo que os resultados não apareçam logo nos primeiros dias. É importante reforçar também os cuidados de higiene, como lavar e secar bem os pés, usar sempre chinelos em locais balneários públicos, não partilhar roupa de banho e manter as unhas cortadas.

### **Caso III: Distúrbio gastrointestinal**

Mulher de 28 anos apresenta queixas dispépticas e uma flatulência associada.

A situação de dificuldade de efetuar a digestão pode resultar na secreção insuficiente de enzimas digestivas, o que promove a deficiente absorção dos alimentos podendo levar à formação de gases.

Aconselhei, assim, o *Pankreoflat*<sup>®</sup> constituído por dimeticone um antiflatulento e pancreatina, lípase, amílase e protéases que são enzimas pancreáticas que irão ajudar no processo da absorção dos alimentos. Deve ser tomado 1 a 2 comprimidos nas 3 principais refeições (6). Referi também que a utente deveria efetuar refeições frequentes e pouco abundantes e evitar ingerir alimentos de difícil digestão.

## Considerações Finais

Findado este estágio em farmácia comunitária é concludente a importância desta unidade curricular no curso do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. É-nos permitido não só ter contacto com aquela que poderá vir a ser a nossa profissão, mas também a oportunidade de interligar e adquirir novos conhecimentos. Na minha perceção o MICF proporciona uma boa formação no que à componente teórica diz respeito, tendo sido o suporte para a realização do estágio. Por outro lado, senti necessidade de um melhor aprofundamento prático prévio a esta experiência curricular.

A presente análise permite-me concluir que o balanço que faço do meu percurso neste estágio com todas as fragilidades e ameaças, é positivo, considerando que cumpro os objetivos propostos na adaptação profissional, qualidade de trabalho e relacionamento com os utentes e toda a equipa da farmácia.

Considero que a Farmácia Loureiro tem uma forte componente académica, onde constatei que o farmacêutico é um profissional que está em permanente atualização técnico-científica, visto a área da saúde estar em constante mudança, e um profissional versátil com forte capacidade de proatividade. Para além do especialista no medicamento é um prestador de cuidados de saúde com uma grande vertente social e humana.

Agradeço, assim, a toda a equipa da Farmácia Loureiro por todos os conhecimentos que me transmitiram, pelo profissionalismo, apoio, amizade e confiança que em mim depositaram e principalmente por me darem a alegria da certeza que é esta a profissão que quero exercer.

## Bibliografia

1. Ordem dos Farmacêuticos. - Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF). Cons Nac da Qualidade, 3ª edição. f2009;3ªEdição:53.
2. IAPMEI. A análise SWOT [Internet]. [cited 2017 jul 7]. Available from: <https://www.iapmei.pt/getattachment/PRODUTOS-E-SERVICOS/Empreendedorismo-Inovacao/Empreendedorismo/Guias-praticos/A-analise-SWOT.pdf.aspx>
3. Ordem dos Farmacêuticos. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. 1998;1-9.
4. INFARMED. Resumo das Características do Medicamento - Faktu [Internet]. Infarmed. 2007 [cited 2017 jul 20]. p. 2-7. Available from: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=3241&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=3241&tipo_doc=rcm)
5. INFARMED. Resumo das características do medicamento - Locetar EF [Internet]. 2011 [cited 2017 jul 20]. p. 2-8. Available from: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=5156&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=5156&tipo_doc=rcm)
6. INFARMED. Resumo das características do medicamento - Pankreoflat [Internet]. 2006 [cited 2017 jul 20]. Available from: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=6624&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=6624&tipo_doc=rcm)

## Anexos

Anexo I – Ação de promoção de proteção solar nas escolas.



Anexo 2 – Folheto informativo do Rastreio de Saúde Cardiovascular.

**Índice de Massa Corporal**

O índice de massa corporal é uma fórmula, com base no peso e altura, que caracteriza o peso corporal.

Se tiver muita gordura acumulada, especialmente no abdómen, tem maior risco de ter pressão arterial alta e colesterol elevado. O risco de complicações estará aumentado quando o perímetro abdominal for superior a 102 cm para os homens e 88 cm para as mulheres.

IMC	Classificação
<18,5	Baixo peso
18,5–24,5	Normal
25–29,9	Pré-obesidade
> 30,0	Obesidade

**Como corrigir?**

- ⇒ Ser ativo
- ⇒ Controlar o nível de colesterol
- ⇒ Ingerir comida saudável
- ⇒ Monitorizar a pressão arterial
- ⇒ Controlar o peso corporal
- ⇒ Reduzir o consumo de açúcar
- ⇒ Deixar de fumar
- ⇒ Evitar o stress

*No sua farmácia pode "medir a sua saúde" de uma forma rápida e segura, contando com a supervisão e conselho profissional do seu farmacêutico.*

Rua dos Cantoneiros nº 16 | 18 Antanhol | 3040-584 Coimbra

Tlm: 912 667 265  
Tlf: 239 443 355




**SAÚDE CARDIOVASCULAR**

- ⇒ Pressão Arterial
- ⇒ Perfil lipídico
- ⇒ Índice de Massa Corporal

**A sua Farmácia cuida de si**

**O que são doenças cardiovasculares?**

São doenças que afetam o sistema circulatório, ou seja, o coração e os vasos sanguíneos.

**Quais os sintomas?**

Tonturas, perdas de memória e/ou acidente vascular cerebral (AVC), entre outros.

**Fatores de risco cardiovasculares**

**Pressão Arterial**

A tensão arterial é a força que o sangue exerce quando passa nos vasos sanguíneos, sendo que quando esta é excessiva estamos perante um caso de hipertensão arterial.

A doença cardíaca, o AVC e a insuficiência renal são alguns dos riscos se a pressão arterial não for bem controlada.

Pressão Arterial	Máxima (Sistólica)	Mínima (Diastólica)
<b>Ideal</b>	< 120 mmHg	< 80 mmHg
<b>Normal</b>	Entre 120 e 129 mmHg	Entre 80 e 84 mmHg
<b>Normal alta</b>	Entre 130 e 139 mmHg	Entre 85 e 89 mmHg
<b>Hipertensão estágio 1</b>	Entre 140 e 159 mmHg	Entre 90 e 99 mmHg
<b>Hipertensão estágio 2</b>	Entre 160 mmHg ou mais	100 mmHg ou mais

**Perfil lipídico**

O perfil lipídico resulta da conjugação dos níveis de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicéridos no sangue.



O colesterol elevado é um dos mais importantes fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardíacas. Este deposita-se nas paredes das artérias e diminui o fluxo sanguíneo ao coração.

Analitos	Valores de Referência
<b>Hemoglobina</b>	Homens: 14 a 18 g/dl Mulheres: 12 a 16 g/dl
<b>Colesterol Total</b>	< a 190 mg/dl
<b>HDL</b>	Homens: > 40 mg/dl Mulheres: >45 mg/dl
<b>Triglicéridos</b>	< a 150 mg/dl
<b>LDL</b>	< a 100 mg/dl

## **Parte II**

### **Contaminação de peixes de aquacultura por Tetraciclinas**

## Resumo

As infeções bacterianas em peixes nos sistemas de aquacultura são frequentes. Por esse motivo, são utilizados antibióticos para prevenir e tratar essas infeções. As tetraciclina (TCs) são um dos grupos de antibióticos mais frequentemente utilizados em aquacultura.

A sua administração, no contexto da aquacultura, tem consequências nefastas para o ambiente e pode levar à emergência de resistências bacterianas, incluindo em bactérias patogénicas para o Homem.

Através de várias metodologias analíticas, como a cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) e ensaios imunoenzimáticos (ELISA), é possível identificar e quantificar os resíduos de TCs em músculo de peixe. Os trabalhos já publicados, apesar de escassos, confirmam a presença de concentrações significativas de resíduos de TCs, reiterando o problema do uso excessivo de antibióticos nas produções de aquacultura e o seu possível impacto no meio ambiente e na saúde pública.

**Palavras-chave:** aquacultura; tetraciclina; metodologias analíticas; toxicidade de tetraciclina; resistências bacterianas.

## **Abstract**

In aquaculture farms is common to observe fishes developing bacterial diseases. Therefore, antibiotics are used to prevent and treat these infections. In this farms, tetracyclines (TCs) are one of the most used antibiotics. Its administration in the context of aquaculture has harmful consequences for the environment and can lead to antimicrobial resistant bacteria, including in pathogenic bacteria to humans.

Through various analytical methodologies, such as high pressure liquid chromatography (HPLC) and enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), it is possible to identify and quantify TCs residues in fish muscle. Published studies, although scarce, confirm the presence of significant concentrations of TCs residues, emphasizing the problem of excessive use of antibiotics in aquaculture farms and its potential impact on the environment and public health.

**Keywords:** aquaculture; tetracyclines; analytical methodologies; tetracycline toxicity; bacterial resistance.

## **Abreviaturas**

ACN - Acetonitrilo

HCl – Ácido clorídrico

LOD – Limite de Deteção (Limit Of Detection)

LOQ – Limite de Quantificação (Limit Of Quantification)

LMR – Limite Máximo de Resíduos

MeOH – Metanol

TC – Tetraciclina

SPE – Extração em fase sólida (Solid Phase Extraction)

## Introdução

As primeiras práticas da aquacultura são atribuídas ao período entre 2000 aC e 1000 aC. No entanto, não existem registos disponíveis que o comprovem. Estas práticas eram apenas narradas e transmitidas de geração em geração. É certo que a China é o berço da aquacultura e, ainda hoje, o maior produtor mundial desta indústria (1).

Os primeiros sistemas de aquacultura diferiam muito da praticada nos dias de hoje. A principal diferença é que, nas metodologias primordiais de aquacultura, os peixes imaturos eram retirados do meio selvagem e transferidos posteriormente para um ambiente criado artificialmente que tivesse condições favoráveis ao seu crescimento.

As técnicas de produção utilizadas atualmente foram introduzidas, pela primeira vez, em 1733, quando um produtor alemão conseguiu recolher os ovos dos peixes, fecundando-os e reunindo condições melhoradas em sistemas fechados (2).

A aquacultura é hoje definida, segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization - FAO*), como a criação de organismos aquáticos nas áreas costeiras e terrestres, envolvendo intervenções no processo de criação para aumentar a produção. Ainda segundo esta agência das Nações Unidas, a aquacultura é o setor de produção de alimentos de maior crescimento e representa atualmente 50% dos peixes utilizados para alimentação em todo o mundo (1).

Com efeito, o grande crescimento da população no século XXI foi acompanhado por uma acentuada procura de produtos para alimentação, nomeadamente de peixe e marisco. Inicialmente, a pesca de animais selvagens era suficiente, mas rapidamente esta prática começou a ser sobreexplorada (3). A aquacultura começou assim a ocupar um lugar determinante na provisão de alimentos do mar e água doce às populações.

Todavia, esta produção tem sido dificultada pela mortalidade imprevisível dos peixes, resultante de infeções provocadas por bactérias. A solução encontrada pelos produtores tem sido a utilização de antibióticos para o tratamento das infeções bacterianas (4).

## Antibioterapia em aquacultura

Os antibióticos são usados na aquacultura para tratar ou prevenir infeções nos peixes e invertebrados. Com vista a minimizar as perdas e a favorecer o aumento da produção de peixes, a utilização de antibióticos em aquacultura justifica-se pela presença de condições que favorecem o desenvolvimento e disseminação de infeções bacterianas neste meio aquático (5). Estas infeções surgem porque os hospedeiros estão confinados num espaço físico pequeno, aumentando a possibilidade do surgimento de feridas. Para além disso, a proximidade física favorece a transmissão de doenças entre os peixes. Estas doenças podem ser provocadas por dinoflagelados, protozoários, fungos, bactérias e vírus, o que resulta num aumento da utilização de agentes antibióticos (4). Mais recentemente, e visando a diminuição da utilização de antibióticos, desenvolveram-se métodos de produção com melhores condições higiénicas para minimizar e controlar a propagação de doenças (6).

As vias mais comuns de administração de antibióticos são a utilização de rações medicadas, a adição direta na água (terapia de imersão) e a administração direta nos animais (por exemplo, injetáveis) (7). Na utilização de rações medicadas parte dos antibióticos acaba no meio envolvente, visto que os peixes não metabolizam a totalidade dos antibióticos e transportam-nos diretamente para o ambiente nas fezes e urina. Estima-se que aproximadamente 80% dos antibióticos utilizados na alimentação dos peixes são excretados na água (5). A terapia de imersão surge como a principal problemática, já que nesta via, para os peixes terem acesso ao antibiótico, há administração direta do antibiótico no meio ambiente, conduzindo à sua contaminação em concentrações elevadas.

As tetraciclina (TCs) são um grupo de antibióticos frequentemente utilizados em medicina veterinária, nomeadamente na aquacultura. Os principais antibióticos que fazem parte do grupo das TCs são a doxiciclina, minociclina, TC, oxitetraciclina e clorotetraciclina. Dados da FAO de 2005 relatavam um uso de 92,3% de oxitetraciclina e 23,1% a clorotetraciclina pelos treze países com maior produção de aquacultura (3).

Estes antibióticos têm elevado espetro de ação e, por isso, têm sido amplamente utilizados no tratamento de infeções bacterianas (7). Têm ação bacteriostática em microrganismos de gram positivo e gram negativo e ainda em alguns tipos de protozoários.

O maior risco para a saúde pública relacionado com o uso de antibióticos é o desenvolvimento e propagação de resistências bacterianas. A presença de resíduos de

antibióticos em produtos de aquacultura pode ainda promover reações alérgicas e reações de fotossensibilidade nos consumidores (8,9).

### **Legislação veterinária**

Os antibióticos são frequentemente utilizados na prática veterinária não só para o tratamento, mas também para prevenir infeções bacterianas. Até ao ano de 2006 eram também usados como promotores de crescimento, melhorando assim a produtividade piscícola, sendo que atualmente já não é permitido este tipo de utilização (10). No entanto, as preocupações quanto à presença de resíduos destes fármacos são crescentes, já que podem provocar efeitos tóxicos, reações alérgicas e a emergência de resistências bacterianas (11).

Para isso, cada país tem legislado, para animais destinados à produção de alimentos, quais os fármacos que podem ser utilizados e os respetivos limites máximos de resíduos (LMR), dependendo do tecido alvo dos animais. Portugal integra o grupo de países que adota a legislação da União Europeia (UE).

Na UE estão autorizados, na produção de aquacultura, vários antibióticos, entre os quais as tetraciclina: tetraciclina, clorotetraciclina e oxitetraciclina (12). Sendo que o limite máximo de resíduos é de 100 µg/kg no músculo do peixe (13) (Tabela 1). O regulamento (CEE) n.º 2377/9055 reitera que “os limites permitidos baseiam-se no tipo e quantidade de resíduos que se considera não apresentarem qualquer risco de toxicidade para a saúde humana nos termos expressos pela dose diária aceitável (DDA) ou com base numa DDA temporária com um fator de segurança adicional. Atende também a outros riscos pertinentes para a saúde pública, bem como a aspetos de tecnologia alimentar.” (14).

Tabela I – Substâncias farmacologicamente ativas e respetiva classificação no que respeita aos limites máximos de resíduos (LMR) (13,15).

<b>Substância farmacologicamente ativa</b>	<b>Tetraciclina, Oxitetraciclina e Clorotetraciclina</b>
<b>Resíduo marcador</b>	Soma do princípio ativo e do seu 4-epímero
<b>Espécie animal</b>	Todas as espécies destinadas à produção de alimentos
<b>LMR (Tecido alvo)</b>	100 µg/kg (Músculo) 300 µg/kg (Fígado) 600 µg/kg (Rim)
<b>Outras Disposições</b>	Nos peixes de barbatana, o LMR para músculo refere-se a «músculo e pele em proporções naturais». Os LMR para o fígado e rim não se aplicam aos peixes de barbatana.
<b>Classificação terapêutica</b>	Agentes anti-infecciosos/antibióticos

### **Metodologias analíticas para a determinação de tetraciclinas em peixes**

Têm sido realizados alguns estudos para desenvolver e validar metodologias analíticas simples e sensíveis para determinação e quantificação de resíduos de antibióticos em amostras de peixes de aquacultura (16).

Os métodos mais precisos e convencionalmente utilizados são testes imunoenzimáticos (ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), cromatografia líquida de alta pressão com deteção ultravioleta ou com detetor Diode Array (HPLC-UV, -DAD) e a cromatografia líquida com espectroscopia de massa (HPLC-MS) (8,9). Mais recentemente surgiu também a cromatografia líquida de muito alta pressão (UPLC) que é mais eficiente do que a HPLC.

As análises por HPLC de TCs em matrizes sólidas complexas necessitam de extração para que o analito passe da fase sólida para um meio líquido. Este é um passo crítico e muitas vezes a causa das maiores perdas de rendimento da metodologia analítica.

Na Tabela 2 estão referenciados resultados de validação das metodologias utilizadas em estudos de identificação e quantificação de antibióticos em amostras de peixe, nomeadamente, os limites de deteção (LOD) e quantificação (LOQ) e as recuperações. O limite de deteção é definido como a quantidade mínima de analito que pode ser detetada. O limite de quantificação é a quantidade mais baixa de analito numa amostra que pode ser quantificada com exatidão e precisão aceitáveis (17). Todos os limites de quantificação encontrados são inferiores aos LMRs das TCs legalmente estabelecidos nos países onde foram recolhidas as amostras. Este é um ponto de partida essencial para a análise pretendida. Há, no entanto, um estudo onde os limites de deteção e quantificação são elevados para a clorotetraciclina: 16 e 52 µg/Kg, respetivamente.

A exatidão é um parâmetro essencial para a validação de um método, representando o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados num determinado ensaio e um valor de referência aceite como verdadeiro. Por esta razão, devem-se obter valores de recuperação próximos de 100%.

Analisando os resultados descritos na Tabela 2, é possível verificar que os métodos de quantificação que utilizam a técnica de UHPLC apresentam melhores recuperações e LOQs mais baixos, independentemente da molécula analisada. A segurança dos produtos de aquacultura é muito importante. É assim obrigatório que as amostras de peixe sejam analisadas antes da comercialização e que esta seja uma prática recorrente, para garantir a segurança alimentar (8).

Tabela 2 – Metodologias analíticas utilizadas na determinação de tetraciclina em peixes e marisco.

Fármaco	Técnica de extração	Equipamento	Limite de deteção (LOD)	Limite de quantificação (LOQ)	Recuperações	Referência Bibliográfica
Clorotetraciclina	Extração líquida MeOH:H <sub>2</sub> O (70:30) c/ Na <sub>2</sub> EDTA	HPLC MS/MS	16 µg/Kg	52 µg/Kg	89%	(18)
Clorotetraciclina	Extração líquida ACN c/ EDTA	UHPLC MS/MS	2,11 µg/Kg	3,62 µg/Kg	104%	(10)
Doxiciclina	Extração líquida ACN c/ EDTA	UHPLC MS/MS	1,2 µg/Kg	2,67 µg/Kg	101%	(10)
Oxitetraciclina	Extração líquida ACN c/ EDTA	UHPLC MS/MS	5 µg/Kg	8 µg/Kg	102%	(10)
Oxitetraciclina	Extração líquida c/ Na <sub>2</sub> EDTA	HPLC MS/MS	12 µg/Kg	41 µg/Kg	90%	(18)
Oxitetraciclina	Extração líquido-líquido c/ HCL seguido de ACN	HPLC MS/MS	10,0 µg/Kg	32,3 µg/Kg	85,5 - 88,5 %	(19)
Oxitetraciclina	Extração líquida seguida de SPE	HPLC Ms	0,061 µg/Kg	Nf	88%	20)
Tetraciclina	Extração líquida c/ tampão Mcllvain	ELISA	1,3 µg/Kg	Nf	90,4 - 95,7 %	(8)
Tetraciclina	Extração líquida c/ Na <sub>2</sub> EDTA	HPLC MS/MS	10 µg/Kg	33 µg/Kg	89%	(18)
Tetraciclina	Extração líquida ACN c/ EDTA	UHPLC MS/MS	1,55 µg/Kg	3,74 µg/Kg	102%	(10)

Nf – Não facultado

## Ocorrência de tetraciclinas

Existem poucos estudos sobre contaminação de antibióticos em amostras de peixe de aquacultura. A maioria dos estudos nesta área é realizada em diferentes matrizes: águas ou sedimentos de aquaculturas.

Na Tabela 3 apresentam-se os dados recolhidos em diversos estudos para as três TCs autorizadas em medicina veterinária (tetraciclina, oxitetraciclina e clorotetraciclina).

Num estudo realizado em sistemas de aquacultura no Irão foi detetada a presença de TC em amostras de truta (8). Foram selecionados 138 sistemas de aquacultura de produção de trutas de quatro regiões do país (norte, centro, oeste e noroeste). De cada um dos locais de produção foram recolhidos três peixes, pelo que cada amostra é constituída por porções musculares de três trutas. Em média, nas quatro estações, a frequência de contaminação por TC foi de 63,1%. Ou seja, o antibiótico foi detetado em 87 de um total de 138 amostras. Foi detetada uma frequência de contaminação de 67,7% nas culturas de produção da zona norte do país. A maioria das amostras continham concentrações de TC entre 1,3 µg/Kg e 10 µg/Kg. No entanto, foram detetadas concentrações até 101,4 µg/Kg. Os resíduos encontrados nas amostras não excederam o limite máximo de resíduos de antibiótico instituído naquele país. O *Institute of standards and Industrial Research of Iran* definiu como LMR para a TC o valor de 200 µg/Kg (8). No entanto, este valor é superior ao LMR permitido na UE.

Num estudo efetuado em amostras de dourada (*Spaurus aurata*) recolhidas em mercados locais de Espanha e da Grécia foi analisada a presença de clorotetraciclina, e oxitetraciclina (18). A oxitetraciclina é um dos antibióticos mais usados na aquacultura, sendo utilizado por doze dos treze países com maiores produções de aquacultura (3). Foram analisadas nove amostras do músculo do peixe tendo apenas sido detetada a oxitetraciclina. Os resíduos deste antibiótico estavam presentes em quatro amostras, sendo que apenas uma delas estava acima do LOQ do método utilizado, com uma concentração de 60 µg/Kg, valor inferior ao LMR (21). As outras três amostras apresentaram-se em concentrações inferiores ao valor do limite de quantificação. A concentração média de oxitetraciclina deste estudo foi calculada assumindo metade do valor do LOQ, para estas três amostras.

Tabela 3 – Ocorrência de tetraciclinas em peixes e marisco de aquacultura.

Fármaco	Espécie alvo	Número de amostras	País	Frequência de contaminação	Intervalo de concentrações detetadas	Média das concentrações	Ano do estudo	Referências bibliográficas
Clorotetraciclina	Dourada ( <i>Spaurus aurata</i> )	9	Grécia e Espanha	Nd	Nd	Nd	2010	(18)
Oxitetraciclina	Dourada ( <i>Spaurus aurata</i> )	9	Grécia e Espanha	44%	nd - 60 µg/Kg	31 µg/Kg	2010	(18)
Oxitetraciclina	Camarão – larva	Nf	China	Nf	Nf	32.1 µg/Kg	2014	(21)
Oxitetraciclina	Bagre africano ( <i>Clarias gariepinus</i> )	40	Nigéria	39,4%	22,5–553,2 µg/Kg	257,2 µg/Kg	2013	(19)
Tetraciclina	Truta	138	Irão	63,1%	1,43 – 101,4 µg/Kg	1,3-10 µg/Kg	2012	(8)

Nd – Não detetado; Nf – Não facultado

A oxitetraciclina foi também detetada numa produção de camarão no sul da China (21). Neste trabalho foram estudadas as concentrações de oxitetraciclina em duas espécies de camarão em diferentes fases de crescimento. Verificou-se uma diferença significativa entre a fase adulta e a fase larvar: a maior concentração detetada (32,1 µg/Kg) verificou-se no músculo da larva do camarão, não tendo sido detetada a sua presença no camarão adulto. Isto pode dever-se ao facto de ter sido restringida a utilização de antibióticos na criação de camarões na fase adulta.

Um estudo realizado em sistemas de aquacultura no continente africano, na terceira maior cidade da Nigéria, o Ibadã, reuniu resultados mais preocupantes. Foram detetados resíduos de oxitetraciclina em 39,4% das amostras de tecido muscular de Bagre africano (*Clarias gariepinus*), sendo que o valor médio da concentração de oxitetraciclina na totalidade das amostras foi de 257,2 µg/Kg.

Numa perspetiva da globalização da economia mundial, a importação e exportação da produção de sistemas de aquacultura para diversos consumidores finais amplamente distribuídos suscita outras problemáticas. “Atualmente, a UE importa 68% do pescado que consome. Embora apenas 10% do pescado consumido na UE seja criado nas suas águas” (22). Analisando os resultados relativos às amostras de resíduos de antibióticos em sistemas de aquacultura de Espanha, Grécia, Irão e Nigéria apresentados na Tabela 3, verifica-se que as amostras positivas detetadas no Irão (101,4 µg/Kg), embora em conformidade com a LMR do país, apresentam-se acima dos valores permitidos na UE, cuja concentração máxima de resíduos de tetraciclina em amostras de músculo de peixe é de 100 µg/Kg. Os resultados recolhidos dos sistemas de aquacultura da Nigéria são muito superiores aos limites máximos de resíduos locais (200 µg/Kg) e da UE, tendo sido detetadas concentrações de oxitetraciclina até 553,2 µg/Kg.

Os dados sobre a presença de tetraciclina em peixes são escassos. Em grande parte dos países da UE e da América do Norte o uso de antibióticos é rigorosamente regulamentado e a sua utilização é controlada por profissionais de veterinária. No entanto, 90% da produção de aquacultura ocorre em países insuficientemente regulamentados (12).

A realidade da economia de importações e exportações vem reiterar a importância de um controlo regular antes de os produtos serem colocados no mercado.

## Toxicidade das tetraciclinas em aquacultura

A utilização de antibióticos na aquacultura representa uma das principais vias de entrada destes fármacos no meio ambiente (23). Os potenciais efeitos tóxicos de uma exposição contínua a estes fármacos nos ambientes aquáticos não estão ainda totalmente identificados, no entanto, estão descritos fenómenos alérgicos, de bio-acumulação, contaminação química e emergência de resistências bacterianas (24).

### Efeitos no meio ambiente

Dados relatados na literatura sugerem que as concentrações de resíduos de antibióticos no solo não são muito elevadas e apresentam toxicidade relativamente baixa (20). No entanto, não são conhecidos quais os possíveis efeitos, a longo prazo, da exposição crónica a baixas concentrações destes resíduos.

A oxitetraciclina é um dos antibióticos mais usados em sistemas de aquacultura, sendo muito pouco absorvida no trato intestinal, provoca a excreção lenta de grandes quantidades do antibiótico. Estima-se que 70% a 80% das TCs estejam intactas nas fezes, o que também contribui para a sua persistência nos sedimentos (25).

No entanto, a principal responsável pela presença deste antibiótico no meio ambiente é a terapia de imersão, uma via de administração de antibiótico em aquacultura, através da qual o antibiótico é colocado diretamente na água.

A maioria dos antibióticos é absorvida rapidamente nos solos, formando complexos com catiões divalentes, como o cálcio e o magnésio, o que faz com que a sua concentração nos solos seja significativa (9). Alguns estudos com TCs presentes no solo mostraram que estes compostos mesmo estando bem absorvidos em solos de argila, permanece ativa a capacidade antibiótica, o que pode influenciar a emergência de resistências bacterianas (9).

Para além de se difundirem nos sedimentos, as TCs podem ser levadas e arrastadas nas correntes de água até longas distâncias (26). Esta permanência no meio ambiente conduz a uma contínua seleção de bactérias resistentes às TCs (4).

## Emergência de resistências bacterianas

Pela sua importância na manutenção da quantidade e qualidade da produção, as TCs apresentam uma presença constante de administração nos sistemas de aquacultura. Estas apresentam efeito bacteriostático, já que impedem a bactéria de se multiplicar ao inibir a síntese de proteínas. Estes fármacos ligam-se reversivelmente à subunidade 30S do ribossoma bacteriano, bloqueando a ligação do RNAt, já ativado pelo ácido aminado, ao recetor aminoacílico do ribossoma. Isto impede a adição de aminoácidos à cadeia peptídica em formação (27,28).

Uma década após a descoberta das TCs, os estudos realizados indicavam que a maioria das bactérias continuava a mostrar-se suscetível a estes antibióticos. No entanto, o seu uso massificado na medicina veterinária foi acompanhado pelo aparecimento de mais bactérias resistentes ao seu mecanismo de ação (29).

Existem três mecanismos bacterianos de resistência às TCs: proteínas de efluxo, proteínas de proteção ribossómica e inativação enzimática. As proteínas de efluxo limitam a concentração de antibiótico dentro da célula, através da sua expulsão. Existem vinte e sete genes que codificam estas proteínas, sendo que maioria destes genes conferem resistência às TCs com exceção da minociclina. As proteínas citoplasmáticas de proteção ribossómicas impedem que as tetraciclina se liguem à unidade 30S do ribossoma, existindo doze genes codificantes. As bactérias que possuem os genes que codificam estas proteínas apresentam resistência à doxiciclina e minociclina. Ao contrário de muitas outras classes de antibióticos, onde a inativação dos fármacos é predominante, a inativação enzimática das TCs é pouco frequente, tendo sido apenas comprovado o papel de um gene na inativação das TCs (29,30).

No caso da bactéria não ser suscetível ao fármaco, estamos perante uma resistência intrínseca ou natural à bactéria (27).

A resistência bacteriana adquirida deve-se a modificações genéticas adquiridas por mutações pontuais, rearranjos intramoleculares no DNA ou aquisição exógena de DNA entre bactérias.

Este último mecanismo de transferência de genes bacterianos seguida de recombinação genética ocorre por um de três processos:

Transformação: onde há deslocação de DNA livre de uma célula para a outra;

Transdução: em que a transferência do material genético entre as células é mediada por um fago ou bacteriófago (vírus específicos de bactérias);

Conjugação: a célula dadora transfere o material genético por contacto físico com a célula recetora, através de plasmídeos (moléculas de DNA extra-cromossómicas capazes de se replicar independentemente da replicação do cromossoma).

Qualquer um dos três mecanismos promove a disseminação de resistências entre estirpes bacterianas de espécies distintas ou da mesma espécie (31,32). A resistência adquirida é a principal causa de preocupação, já que pode haver transmissão de mecanismos de resistência (4), condicionando a eficácia do antibiótico utilizado no sistema de aquacultura. Num paralelismo de “efeito bola de neve”, o aparecimento de sucessivas resistências apresenta-se como a maior problemática na antibioterapia, conduzindo a um esgotamento da terapêutica disponível.

Em amostras recolhidas em sistemas de aquacultura, onde foi detetada oxitetraciclina, foi também reportado um aumento significativo da frequência de bactérias resistentes à oxitetraciclina, o que sugere uma relação entre as duas variáveis (5,18)

Muito embora apenas um número diminuto de estudos se tenha debruçado sobre a ocorrência de TCs em peixes e mariscos de aquacultura, a elevada frequência de deteção de TCs leva a uma preocupação relativamente à emergência de resistências bacterianas.

O meio aquático surge ainda como uma agravante na problemática das resistências bacterianas, já que é o meio com mais fácil disseminação. Apesar da contaminação pelo antibiótico ser localizada geograficamente, as resistências bacterianas podem facilmente atravessar fronteiras, disseminando-se por todo o planeta.

Numa avaliação de causa-efeito, a reunião de condições favoráveis ao aparecimento de resistências bacterianas aos antibióticos usados nos sistemas de aquacultura interfere com a sustentabilidade piscícola, o meio envolvente e a própria saúde pública.

### Efeitos dos antibióticos no hospedeiro

A flora microbiana de peixes de aquacultura tem um grande número de bactérias resistentes a antibióticos. Num estudo foi demonstrado que numa produção de salmões de aquacultura estavam presentes, na sua flora intestinal, bactérias resistentes à oxitetraciclina (4). Também foi observada a redução da diversidade da flora microbiana intestinal, o que pode facilitar a proliferação de microrganismos oportunistas, já que o

tratamento com antibiótico pode erradicar microrganismos suscetíveis e promover a presença de oportunistas.

### Efeitos Antropológicos

As infeções mais comuns em peixes, que requerem o tratamento com antibiótico são úlceras, diarreia e septicémia. Os microrganismos responsáveis por estas infeções pertencem a famílias de bactérias patogénicas para o Homem o que aumenta a probabilidade de bactérias resistentes infetarem o Homem (32).

A população de risco específica exposta são os trabalhadores de sistemas de aquacultura e populações adjacentes aos locais de produção que estão expostas aos efeitos nefastos dos resíduos de antibióticos e, conseqüentemente, às estirpes resistentes de bactérias (3). Por outro lado, a produção dos sistemas de aquacultura destina-se ao mercado consumidor como produto alimentar do Homem. É no topo da cadeia alimentar que os efeitos das resistências bacterianas aos antibióticos como as TCs, usadas rotineiramente na produção piscícola, se fazem sentir com maior preocupação. Os resíduos encontrados nas amostras de peixe, apesar de respeitarem a legislação imposta, podem por si só manter o efeito antibiótico com repercussões na própria flora intestinal do Homem como consumidor final. Para além disto, a uniformidade dos determinantes da resistência aos antibióticos e dos elementos genéticos entre bactérias aquáticas, patógenos dos peixes e bactérias do ambiente terrestre apoia fortemente o conceito de que o uso de antibióticos na aquacultura influenciará o aparecimento de resistência em bactérias em outros nichos, incluindo resistência em patógenos que podem infetar o Homem e animais (26).

## Conclusão

O crescimento acentuado da produção de peixe em sistemas de aquacultura foi acompanhado pelo aumento da utilização de antibióticos. A massificação da sua utilização tem como fim matar ou inibir o crescimento de microrganismos patogénicos que provocavam a morte de peixes. As TCs são um grupo de antibióticos amplamente utilizados em aquacultura e que, por também serem simultaneamente usadas em larga escala na medicina humana são motivo de preocupação.

O desenvolvimento de métodos instrumentais de análise tem contribuído para a realização de estudos sobre ocorrência, degradação e transporte de TCs. Sendo que na análise de TCs em músculo de peixe, as metodologias analíticas com as quais se obtiveram resultados mais sensíveis são a UHPLC, HPLC e também ELISA. Estas metodologias permitiram obter valores adequados de exactidão (entre 85,5 e 104%) e baixos LODs e LOQs nos testes de validação.

São ainda escassos os estudos de pesquisa de resíduos de TCs cuja matriz é o músculo de peixe de produção em aquacultura. No entanto, os estudos existentes alertam para valores significativos, existindo já registos preocupantes, nomeadamente no continente Africano. Revelando, um dos estudos, uma média de concentrações de resíduos de oxitetraciclina de 257,2 µg/Kg, um valor superior ao LMR (200 µg/Kg) do país onde a análise foi efetuada.

É ainda importante ressaltar que mesmo os resultados dos estudos que estão dentro dos limites legislados não são inócuos. O facto de existirem resíduos de antibiótico no tecido muscular do peixe e no meio aquático envolvente é por si só um motivo de preocupação.

Concentrações significativas de antibióticos permanecem por longos períodos de tempo no meio aquático, causando a principal pressão seletiva para a emergência de resistências bacterianas.

A presença de bactérias resistentes a antibióticos em alimentos de origem animal é uma potencial ameaça para a saúde, já que os genes que conferem a resistência podem ser transferidos entre bactérias, aquáticas e terrestres, já que ambas as bactérias têm em comum muitos elementos genéticos, sendo algumas destas patogénicas para o Homem.

A globalização da economia mundial torna cada vez mais difícil acompanhar a mobilidade dos produtos de aquacultura no mundo, tornando difícil avaliar quais as populações mais afetadas pelos potenciais produtos contaminados.

Em suma, os resultados dos estudos referenciados permitem alertar para os riscos de contaminação que o uso de antibióticos, em produção de aquacultura, representa, e para eventuais consequências graves que daí podem resultar para a saúde pública.

## Bibliografia

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department [Internet]. [cited 2017 jul 12]. Available from: <http://www.fao.org/fishery/aquaculture/en>
2. Aquacultura online. História da aquicultura [Internet]. [cited 2017 jul 12]. Available from: <http://www.aquiculturaonline.com.br/noticias/entrevistas/historia-da-aquicultura/>
3. Sapkota A, Sapkota AR, Kucharski M, Burke J, McKenzie S, Walker P, et al. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. *Environ Int.* (2008);34(8):1215–26.
4. Romero J, Feijóó CG, Navarrete P. Antibiotics in aquaculture – Use, abuse and alternatives. In: *Health and Environment in Aquaculture.* (2012). p. 160–98.
5. Cabello FC, Godfrey HP, Tomova A, Ivanova L, Dölz H, Millanao A, et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: Its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ Microbiol.* (2013);15(7):1917–42.
6. Tamminen M, Karkman A, Lõhmus A, Muziasari WI, Takasu H, Wada S, et al. Tetracycline Resistance Genes Persist at Aquaculture Farms in the Absence of Selection Pressure. *Environ Sci Technol* [Internet]. (2011) jan 15;45(2):386–91. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es102725n>
7. Haug T, Hals P a. Pharmacokinetics of oxytetracycline in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) in freshwater at low temperature. *Aquaculture.* (2000);186:175–91.
8. Barani A, Fallah AA. Occurrence of tetracyclines, sulfonamides, fluoroquinolones and florfenicol in farmed rainbow trout in Iran. *Food Agric Immunol.* (2015);26(3):420–9.
9. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol Indic.* (2008);8(1):1–13.
10. Freitas A, Leston S, Rosa J, Castilho M da C, Barbosa J, Rema P, et al. Multi-residue and multi-class determination of antibiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Addit Contam Part A.* (2014);31(5):817–26.
11. EMA. Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use, 1–12. [Internet]. 2006. p. 1–12. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/10/WC500003978.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500003978.pdf)
12. Pereira AMPT, Silva LJG, Meisel LM, Pena A. Fluoroquinolones and Tetracycline

- Antibiotics in a Portuguese Aquaculture System and Aquatic Surroundings: Occurrence and Environmental Impact. *J Toxicol Environ Heal Part A.* (2015);78(15):959–75.
13. Regulamento (CEE) n°2377/90/CE. (1990);
  14. European Commission 37/2010/EC. *Jornal Oficial da União Europeia L 342/59 REGULAMENTO (CE) N. J Of Eur.* (2009);
  15. CVMP. Committee For Veterinary Medicinal Products:Oxytetracycline, Tetracycline, Chlortetracycline:Summary Report (3). Ref EMEA/MRL/023/95. (1995);(3):5–6.
  16. Schneider MJ, Darwish AM, Freeman DW. Simultaneous multiresidue determination of tetracyclines and fluoroquinolones in catfish muscle using high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal Chim Acta.* (2007);586(1–2 SPEC. ISS.):269–74.
  17. Ich. ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology. *Int Conf Harmon.* 2005;1994 (november 1996):17.
  18. Cháfer-Pericás C, Maquieira Á, Puchades R, Company B, Miralles J, Moreno A. Multiresidue determination of antibiotics in aquaculture fish samples by HPLC-MS/MS. *Aquac Res.* (2010);41(9):217–26.
  19. Olatoye IO, Basiru A. Antibiotic Usage and Oxytetracycline Residue in African Catfish (*Clarias gariepinus* in Ibadan, Nigeria). *World J Fish Mar Sci.* (2013);5(3):302–9.
  20. Lalumera GM, Calamari D, Galli P, Castiglioni S, Crosa G, Fanelli R. Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy. *Chemosphere.* (2004);54(5):661–8.
  21. Chen H, Liu S, Xu XR, Liu SS, Zhou GJ, Sun KF, et al. Antibiotics in typical marine aquaculture farms surrounding Hailing Island, South China: Occurrence, bioaccumulation and human dietary exposure. *Mar Pollut Bull.* (2015);90(1–2):181–7.
  22. Comissão Europeia. Cultivado na UE- Conhecer a aquicultura na Europa [Internet]. *Assuntos Marítimos e Pescas.* [cited 2017 jul 13]. p. 1–20. Available from: [https://ec.europa.eu/fisheries/inseparable/pt/farmed-eu#quicktabs-farming\\_in\\_the\\_eu\\_pt=0](https://ec.europa.eu/fisheries/inseparable/pt/farmed-eu#quicktabs-farming_in_the_eu_pt=0)
  23. Regitano JB, Leal RMP. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal Brasileira. *Rev Bras Cienc do Solo.* (2010);34(3):601–16.
  24. Grigorakis K, Rigos G. Aquaculture effects on environmental and public welfare - The case of Mediterranean mariculture. *Chemosphere.* (2011);85(6):899–919.
  25. Ribeiro R V., Reis EMF, Reis CMF, Freitas Almeida AC, Rodrigues DP. Incidence and

- antimicrobial resistance of enteropathogens isolated from an integrated aquaculture system. *Lett Appl Microbiol.* (2010);51(6):611–8.
26. Cabello FC. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: A growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol.* (2006);8(7):1137–44.
  27. J.Garret, W.Osswals SG. *Terapeutica medicamentosa e suas bases farmacológicas* volumell.
  28. Bertram G. Katzung, Susan B. Masters AJT. *Basic & Clinical Pharmacology*. In: 12th ed.
  29. Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics : Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* (2001);65(2):232–260.
  30. Balsalobre LC, Matté MH, Balsalobre LC. Faculdade de Saúde Pública Resistência a tetraciclina em isolados clínicos e ambientais de *Escherichia coli* , *Klebsiella pneumoniae* e *Aeromonas spp* .: identificação e mapeamento do ambiente genético de genes tet Resistência a tetraciclina em isolados cl. (2014).
  31. Sousa JC de. *Antibióticos Antibacterianos*. 1ª Edição. Farmácias PFPAN de, editor. Porto; (2001).
  32. Serrano PH. Responsible use of antibiotics in aquaculture. *Journal of Chemical Information and Modeling.*(2013). Vol. 53. 1689-1699 p.