

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



VIGILÂNCIA DAS RESISTÊNCIAS AOS ANTIMICROBIANOS EM FRANGOS, SUÍNOS E  
CARNE DAS RESPECTIVAS ESPÉCIES EM PORTUGAL

GIULIA STEFANELLI DE LIMA

**ORIENTADOR:**

Doutor Miguel José Sardinha de Oliveira Cardo

**TUTORA:**

Dra. Maria Andrea Pólvara Cara d'Anjo

2021

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



VIGILÂNCIA DAS RESISTÊNCIAS AOS ANTIMICROBIANOS EM FRANGOS, SUÍNOS E  
CARNE DAS RESPECTIVAS ESPÉCIES EM PORTUGAL

GIULIA STEFANELLI DE LIMA

**JÚRI**

**PRESIDENTE:**

Doutora Maria Manuela Castilho Monteiro de  
Oliveira

**VOGAIS:**

Doutor Miguel José Sardinha de Oliveira  
Cardo

Doutor João Bettencourt Barcelos Cota

**ORIENTADOR:**

Doutor Miguel José Sardinha de Oliveira Cardo

**TUTORA:**

Dra. Maria Andrea Pólvora Cara d'Anjo

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Giulia Stefanelli de Lima

Ano de conclusão: 2021

Designação do curso de Mestrado: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica: Produção Animal e Segurança Alimentar

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

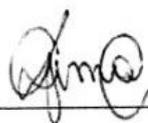
Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto: disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial.

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 17 de Dezembro de 2021.

Assinatura:



*“O ontem não é nosso para recuperar, mas o amanhã é nosso para ganhar ou perder.”*

*Lyndon B. Johnson*

## **Dedicatória**

Quem sou hoje definitivamente que não é a mesma pessoa de ontem. Foram muitos os desafios e aprendizagens que adquiri desde que embarquei nesta jornada. Se devo dedicar este projeto a algo, é à vida. Tão imprevisível quanto o vento. Tão profunda quanto o oceano. Tão intensa quanto o fogo. E com tantas oportunidades quanto a extensão da terra. No fim de um longo percurso descobrimos que “o melhor da vida é viver”. É imensurável o quanto cresci e amadureci nesta jornada. Numa decisão tão súbita, baseada numa curiosidade do que há mais à frente, vieram mil e uma experiências, as quais nunca imaginei viver. Às vezes as oportunidades aparecem, mas outras vezes somos nós que as criamos através da nossa determinação em alcançá-las. Nem sempre vamos entender tudo o que acontece connosco, mas entendo que a vida nos capacita para o passo seguinte. Dá-nos resiliência para conseguirmos permanecer focados. Molda-nos o carácter e aperfeiçoa a nossa sabedoria para as próximas decisões. Muitas vezes precisaremos de ir aos vales para aprender a subir montanhas mais altas. E no fim, somos nós que escolhemos nos levantar e continuar. Eu escolhi das dificuldades, levar os ensinamentos. Escolhi guardar as virtudes da vida, as boas experiências e os bons momentos de alegria ao lado de muitas pessoas queridas que cruzaram o meu percurso. Vejo a vida sendo feita de muitos momentos e a coletânea destes momentos tem feito a minha história. O segredo está em: Não se compare a ninguém. Respeite o seu próprio tempo. Dê valor e gratidão a todos os acontecimentos. E se apenas restares tu, encoraja-te. Dedicá-te a viver e a vida te irá surpreender. Então, encerra-se mais um ciclo e surge uma oportunidade de seguir rumo a novos horizontes.

## **Agradecimentos**

Nesta trajetória foram muitos que passaram por mim e de alguma forma incentivaram-me a continuar. Sejam os amigos mais próximos e os colegas de jornada. Sejam os professores nos quais me inspirei e os mentores com quem convivi. Sejam os animais que acompanhei nas minhas experiências profissionais. Sejam aqueles que reviram o meu estudo e compartilharam os seus conselhos. A todos os que cruzaram o meu caminho, sou grata. Cada um, de certa forma, ajudou-me a regar as sementes que plantei ao iniciar o meu percurso. Acima de tudo, se há alguém a quem devo muita gratidão é à Deus, que através da minha fé me permitiu permanecer nesta trajetória; e à minha família, que independente de onde eu estivesse, sempre os pude sentir por perto. Em especial, à minha mãe e ao meu pai. Desde o início souberam que eu tinha capacidade para enfrentar este desafio, e mesmo quando achei que já não conseguia mais caminhar ou quando não conseguia mais ver a estrada, eles não deixaram de acreditar em mim e de me encorajar a persistir. É com eles que alcanço a linha final.

## Resumo

### VIGILÂNCIA DAS RESISTÊNCIAS AOS ANTIMICROBIANOS EM FRANGOS, SUÍNOS E CARNE DAS RESPECTIVAS ESPÉCIES EM PORTUGAL

No âmbito do programa europeu de vigilância e comunicação de dados sobre resistência aos antimicrobianos em bactérias zoonóticas e comensais, a Direção Geral de Alimentação e Veterinária aplicou o Plano de Vigilância das Resistências aos Antimicrobianos, entre 2014 a 2020, em Portugal. Os resultados deste plano têm revelado índices elevados de resistência aos antimicrobianos em animais de produção e os seus produtos destinados ao consumo. No entanto, os dados de vigilância divulgados não parecem demonstrar o verdadeiro panorama das resistências quando analisados isoladamente, sendo mais bem aplicado quando unificado com os dados de consumo de antimicrobianos e ocorrência de resistência a nível animal e humano. Este estudo tem como base analisar parte dos resultados deste plano, sobretudo nos isolados indicadores de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. nos frangos, suínos e na carne das respetivas espécies. Do mesmo modo, rever a ocorrência de resistência à colistina, às fluoroquinolonas e às cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, por serem os antibióticos incluídos na vigilância animal e categorizados como criticamente importantes com prioridade máxima para a saúde humana e de uso restrito nos animais. Segue com o intuito de comparar a situação de Portugal comparativamente a outros países participantes desta vigilância; discutir as medidas estratégicas de combate à resistência aos antimicrobianos; perceber a relação entre o consumo animal de antibióticos e a ocorrência de resistência; e, por fim, fornecer informações relevantes de modo a aperfeiçoar a vigilância nos animais, promover a segurança alimentar e assegurar uma melhor proteção da saúde pública.

**Palavras-chave:** Vigilância animal; Resistência aos antimicrobianos; *E. coli*; *Salmonella* spp.; *Campylobacter* spp.

## **Abstract**

### **SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN POULTRY/BROILERS, PIGS AND THEIR RESPECTIVE MEAT IN PORTUGAL**

Within the scope of the European Surveillance Program and data reporting on antimicrobial resistance in zoonotic and commensal bacteria, the General Direction of Food and Veterinary Medicine implemented the Surveillance Plan for Antimicrobial Resistance, between 2014 and 2020, in Portugal. Its results have revealed important levels of antibiotic resistance in farm animals and their products for human consumption. However, the surveillance data released do not seem to demonstrate the real panorama of resistances when analyzed alone, being better understood when unified with data on antimicrobial consumption and occurrence of resistance at animal and human level. This study is based on analyzing part of the results of the plan, especially on the isolated indicators of *E. coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in chickens, pigs and meat of the respective species. Likewise, review the occurrence of resistance to colistin, fluoroquinolones and 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> generation cephalosporin, as they are antibiotics included into animal surveillance program, also categorized as critically important with top priority to human health and are restricted on animal use. This study follows with the aim of comparing the Portugal situation with other participating countries in this surveillance program; to discuss strategic measures to fight antimicrobial resistance; to understand the relationship between animal consumption of antimicrobials and its influence to the occurrence of resistance; and finally, to provide relevant information in order to improve animal surveillance, promote food safety and ensure public health protection.

**Key-words:** Animal surveillance; Antimicrobial drug resistance; *E. coli*; *Salmonella* spp.; *Campylobacter* spp.

## Índice

Lista de figuras .....	x
Lista de gráficos .....	xi
Lista de tabelas .....	xii
Lista de anexos .....	xiii
Lista de abreviaturas.....	xiv
Lista de símbolos .....	xvi
PARTE I      Descrição das Atividades Desenvolvidas Durante o Estágio .....	1
1      Apresentação.....	1
2      Local de estágio .....	1
3      Atividades desenvolvidas .....	1
PARTE II      Revisão Bibliográfica .....	3
1      Introdução.....	3
2      Objetivos.....	5
3      Base evolutiva da microbiologia aplicada ao estudo do desenvolvimento da resistência aos antimicrobianos.....	5
3.1           Estruturas da célula bacteriana que contribuem para a resistência aos antimicrobianos .....	5
3.2           Da evolução microbiana à resistência aos antimicrobianos.....	7
3.3           Mecanismos de resistência aos antimicrobianos .....	8
4      O impacto da RAM na saúde pública e na segurança dos alimentos .....	12
4.1           Relação multisectorial.....	12
4.2           “Do prado ao prato” – a RAM na cadeia alimentar .....	13
4.3           Medicamentos de importância na saúde humana e na saúde animal .....	15
5      A perspetiva da “Uma só saúde” no combate a RAM a nível global, europeu e nacional .....	18
5.1           Abordagem global.....	18
5.2           Entidades europeias na monitorização da RAM.....	19
5.3           Portugal no combate às Resistências aos Antimicrobianos.....	21

6	Plano de Vigilância das Resistências aos Antimicrobianos em animais de produção e alimentos de origem animal .....	22
PARTE III	Análise do Plano de Vigilância das Resistência aos Antimicrobianos .....	25
1	Materiais e métodos .....	25
2	Resultados e Discussão.....	26
3	Conclusão.....	60
Referências	.....	61
Anexo I:	Plano de Vigilância das Resistências aos Antimicrobianos .....	69
Anexo II:	Painel de substâncias antimicrobianas .....	73
Anexo III:	Lista de antimicrobianos, categorizados por classes e por importância de resistência (WHO CIA list, 2018).....	74

## Lista de figuras

Figura 1: Elementos genéticos móveis e diferentes meios de transferência horizontal de genes bacterianos (Adaptado de Krause and Hendrick 2011) .....	9
---	---

## Lista de gráficos

Gráfico 1: Variação percentual de ocorrência de resistência à cefotaxime e ceftazidime em isolados indicadores de <i>E. coli</i> de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno .....	36
Gráfico 2: Variação percentual de ocorrência de resistência ao ácido nalidíxico em isolados indicadores de <i>E. coli</i> de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno.....	38
Gráfico 3: Variação percentual de ocorrência de resistência à ciprofloxacina em isolados indicadores de <i>E. coli</i> de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno.....	38
Gráfico 4: Variação percentual de ocorrência de resistência à colistina em isolados indicadores de <i>E. coli</i> de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno .....	39
Gráfico 5: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados indicadores de <i>E. coli</i> em amostras de conteúdo cecal de frango em Portugal e nos Estados Membros da UE.....	42
Gráfico 6: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de <i>Salmonella</i> spp. em amostras de conteúdo cecal de frango em Portugal e nos Estados Membros da UE.....	44
Gráfico 7: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de <i>Campylobacter jejuni</i> em amostras de conteúdo cecal de frango em Portugal e nos Estados Membros da UE.....	46
Gráfico 8: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de <i>Campylobacter coli</i> em amostras de carne de frango em Portugal e Estados Membros da UE ..	48
Gráfico 9: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados indicadores de <i>E. coli</i> em amostras de conteúdo cecal de suíno em Portugal e nos Estados Membros da UE .....	50
Gráfico 10: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de <i>Salmonella</i> spp. em amostras de conteúdo cecal de suíno em Portugal e nos Estados Membros da UE.....	52

## Lista de tabelas

Tabela 1: Critérios e fatores de priorização da lista de CIA da OMS (WHO, 2018).....	16
Tabela 2: Critérios da lista de agentes antimicrobianos de importância veterinária da OIE, 2018 .....	17
Tabela 3: Número de isolados por ano de vigilância e agente microbiano em amostras de frango.....	25
Tabela 4: Número de isolados por ano de vigilância e agente microbiano em amostras de suíno .....	25
Tabela 5: Ocorrência de resistência em isolados indicadores de <i>E. coli</i> em amostras de conteúdo cecal de frango .....	30
Tabela 6: Ocorrência de resistência em isolados indicadores de <i>E. coli</i> em amostras de conteúdo cecal de suíno .....	31
Tabela 7: Ocorrência de resistência em isolados de <i>Salmonella</i> spp. em amostras de conteúdo cecal de frango .....	32
Tabela 8: Ocorrência de resistência em isolados de <i>Salmonella</i> spp. em amostras de carcaças de suíno .....	33
Tabela 9: Ocorrência de resistência em isolados de <i>Campylobacter jejuni</i> em amostras de conteúdo cecal de frango.....	34
Tabela 10: Ocorrência de resistência em isolados de <i>Campylobacter coli</i> em amostras de carne de frango. ....	35
Tabela 11: Painel de substâncias antimicrobianas para cada agente microbiano monitorado no PVRAM.....	73
Tabela 12: Categorização, por classes e importância de resistência, dos antimicrobianos incluídos no PVRAM, baseado na lista da OMS de 2018 .....	74

## **Lista de anexos**

Anexo I: Plano de Vigilância das Resistências aos Antimicrobianos

Anexo II: Painel de substâncias antimicrobianas

Anexo III: Lista de antimicrobianos, categorizados por classes e por importância de resistência (WHO CIA list, 2018)

## Lista de abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AMEG - The Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group

AmpC - Enzimas  $\beta$ -lactamases AmpC

APA - Agência Portuguesa do Ambiente

ARG - Genes de resistência aos antibióticos

CE - Comissão Europeia

CIA - Antimicrobianos criticamente importantes

CIM - Concentrações inibitórias mínimas

CP - Enzimas carbapenemases

DGAV - Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária

DGS - Direcção-Geral da Saúde

DTA - Doenças transmitidas por alimentos

ECOFFs - Valores de ponto de corte epidemiológicos

EDCD - Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças

EFSA - Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

EM - Estados-Membros

EMA - Agência Europeia de Medicamentos

ESBL - Enzimas  $\beta$ -lactamases de largo espectro

ESVAC - European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption

EUCAST - Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana

FAO - Organização para Alimentação e Agricultura

HACCP - Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos

HP-CIA - Antimicrobianos criticamente importantes e de prioridade máxima

INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

JACRA - Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis

LPS - Lipopolissacáridos

MDR - Resistência a múltiplos medicamentos

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

OIE - Organização Mundial da Saúde Animal

OMS - Organização Mundial de Saúde

PANRUAA - Plano de Ação Nacional para Redução do Uso de Antibióticos nos Animais

PCU - Substância ativa vendida por unidade corrigida de população

PIB - Produto Interno Bruto

PNCRAM - Plano Nacional de Combate à Resistência aos Antimicrobianos

PNMCA - Plano de Vigilância das Resistências aos Antimicrobianos

PT - Portugal

PVRAM - Plano de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos

RAM - Resistência aos antimicrobianos

RONAFA - EFSA-EMA ad hoc working group on the Reduction Of the Need for Antimicrobials in Food-producing Animals

RU - Reino Unido

TSA - Teste de suscetibilidade a antimicrobianos

UE - União Europeia

VCIA - Antimicrobianos veterinários criticamente importantes

VHIA - Antimicrobianos veterinários altamente importantes

VIA - Antimicrobianos veterinários importantes

## Lista de símbolos

mg – miligrama

% – percentagem

$\beta$  – beta

↑ – aumento

↓ – redução

= – igual

## **PARTE I      Descrição das Atividades Desenvolvidas Durante o Estágio**

### **1    Apresentação**

No âmbito do combate à resistência aos antimicrobianos, têm sido desenvolvidos planos de ação que integram a saúde humana, a saúde animal e o ambiente, abrangendo o conceito “Uma só saúde”. As entidades de referência são a Organização Mundial de Saúde (OMS), Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) e Organização para Alimentação e Agricultura (FAO). Em Portugal (PT), as entidades signatárias responsáveis pela aplicação da respetiva legislação são a Direção-Geral da Saúde (DGS), Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e a Agência Portuguesa do Ambiente (APA). Neste contexto, é implementado o Plano de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos (PVRAM) em agentes zoonóticos e indicadores comensais em amostras de animais de produção e carnes, no qual a DGAV é responsável por aplicar, elaborar e coordenar os planos de monitorização da resistência aos antimicrobianos no setor animal, assim como aplicar medidas de mitigação e controlo, com base nos resultados dos planos de vigilância. A execução laboratorial do plano conta com a colaboração do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) que é o Laboratório Nacional de Referência.

### **2    Local de estágio**

O estágio teve lugar na Direção de Serviços de Segurança Alimentar da Divisão de Saúde Pública da Direção Geral de Alimentação e Veterinária.

### **3    Atividades desenvolvidas**

O objetivo principal do estágio realizado foi o de acompanhar os procedimentos gerais e específicos do PVRAM nos respetivos departamentos e entidades envolvidas. No início do estágio, foi feita revisão da base legal nacional e europeia, bem como das normas internacionais que orientam a execução do plano, e foi estudado o papel das autoridades competentes envolvidas. No decorrer do estágio, foi acompanhado o procedimento de recolha de amostras no âmbito do PVRAM, o método de processamento das amostras efetuado pelo

Laboratório Nacional de Referência e a análise da base de dados relativa à execução do plano e ainda, a colaboração na realização do relatório anual.

## PARTE II Revisão Bibliográfica

### 1 Introdução

De entre as infeções que podem ser transmitidas pelos animais aos humanos, através do contacto direto com animais infetados ou pelo consumo de produtos alimentares provenientes de animais portadores de doença, mas por vezes assintomáticos, as zoonoses de origem alimentar são uma ameaça significativa à saúde pública, sendo confirmados anualmente mais de 330.000 casos na União Europeia (UE). Entre as bactérias patogénicas mais comumente transmitidas por alimentos destacam-se o *Campylobacter* spp., a *Salmonella* spp. e a *Escherichia coli*. Referente aos patótipos da *E. coli* com maior relevância para a segurança alimentar, destacam-se a enteropatogénica (EPEC), a produtora de toxinas Shiga (STEC), a verotoxinogénica (VTEC), a enterohemorrágica (EHEC), a enteroagregativa (EAEC), a enterotoxinogénica (ETEC), a enteroinvasiva (EIEC) e a difusamente aderente (DAEC). É muito frequente encontrarmos estas bactérias nos intestinos de animais de produção saudável, o que contribui para o risco de contaminação do alimento por bactérias comensais ou patogénicas, necessitando de medidas eficazes de prevenção e controlo ao longo da cadeia alimentar (EFSA 2014). A administração de antibióticos na produção animal quando é identificada alguma doença no animal é considerada uma medida de tratamento terapêutico, no entanto, algumas bactérias ao serem expostas a um antimicrobiano conseguem resistir, seja por mutação genética ou por adquirirem genes de resistência aos antimicrobianos.

A resistência encontrada nestas bactérias tem causado impacto na saúde pública, na segurança dos alimentos e na economia. Quando os microrganismos patogénicos ou comensais se tornam resistentes aos agentes antimicrobianos podem representar um sério risco para a saúde humana, resultando em falhas ou perda de opções de tratamento, aumento da probabilidade ou gravidade da doença, prolongamento do tempo de hospitalização e morte (FAO/WHO 2015). Somente na UE, a resistência aos antimicrobianos (RAM) é responsável por cerca de 25.000 mortes anuais, causando custos extras com assistência médica e perda de produtividade devido ao absentismo, que representam cerca de 1500 milhões de euros (WHO 2015). Além disso, alguns destes antimicrobianos são de última geração e/ou específicos para tratamentos de doenças infecciosas em humanos. Entre as classes antimicrobianas de maior importância destacam-se as cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, as (fluoro) quinolonas e as polimixinas, categorizados pela Organização Mundial de Saúde

como antimicrobianos criticamente importantes e de prioridade máxima (HP-CIA) (WHO 2018).

Na UE apenas é permitido o uso de antimicrobianos em animais de produção para o tratamento de infeções bacterianas. Contudo, o seu uso inadequado ou indiscriminado tem-se refletido numa emergência sanitária global, na medida em que potencialmente aumenta a resistência de bactérias zoonóticas a um ou mais antimicrobianos, comprometendo assim o tratamento efetivo de doenças infecciosas, tanto nos humanos como nos animais (Torrence and Isaacson 2003; EFSA 2014).

Desde o século passado que existe a preocupação de assegurar o controlo destas doenças infecciosas e zoonóticas. Em 1997, Kaferstein et al. já demonstravam este entendimento ao afirmarem que “as doenças não conhecem limites e as fronteiras são poros para estas doenças”. Na perspetiva de uma abordagem global para controlar a RAM, os setores envolvidos nesta ameaça, ou seja, a saúde humana, a saúde animal e o meio ambiente, e, respetivamente, as três autoridades globais, a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) e a Organização para Alimentação e Agricultura (FAO), adotaram uma abordagem de controlo unificada conhecida por “Uma só saúde” (WHO 2015).

Anualmente, a Comissão Europeia envolve entidades como a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), o Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças (ECDC) e a Agência Europeia do Medicamento (EMA) para recolher e reportar os dados dos planos nacionais de vigilância da resistência aos antimicrobianos em bactérias zoonóticas que afetam os humanos, os animais e os alimentos nos Estados-Membros (EM) da UE (EC 2017). Para isso, programas nacionais específicos de vigilância e monitorização do consumo de antimicrobianos e o desenvolvimento de resistência antimicrobiana foram estabelecidos em todos os EM. (Guardabassi et al. 2008).

Os sistemas de monitorização e vigilância são essenciais para identificar os problemas relacionados com as RAM e direcionar as políticas de controlo e prevenção. De acordo com o Instituto Nacional de Estatística, nos últimos anos, os suínos e os frangos são as espécies animais mais produzidas para consumo em PT (INE 2020). Dados que revelam a importância de manter medidas sanitárias de controlo na produção destes animais, de forma a garantir um elevado nível de proteção do consumidor.

A nível nacional, as entidades intervenientes no combate às RAM são a Direção-Geral da Saúde (DGS), Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e Agência Portuguesa do Ambiente (APA) (DGS 2019). Na perspetiva nacional do combate às RAM e no âmbito do conceito “Uma só saúde”, a DGAV implementou o Plano de Vigilância às Resistências aos Antimicrobianos (PVRAM) em agentes zoonóticos e indicadores comensais em animais de produção e em carnes, mantendo uma monitorização anual desde 2014, com o objetivo de

avaliar a RAM nos animais de produção e seus produtos, identificando as tendências de resistência nos animais, nas bactérias e nos antibióticos envolvidos no plano (Decisão de Execução (UE) nº 2013/652/UE, substituída pela Decisão de Execução (UE) nº 2020/1729).

## **2 Objetivos**

Este estudo tem como base analisar parte dos resultados do plano de vigilância das resistências aos antimicrobianos em Portugal, sobretudo nos isolados indicadores de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. nos frangos, suínos e na carne das respetivas espécies. Do mesmo modo, rever a ocorrência de resistência à colistina, às fluoroquinolonas e às cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, por serem os antibióticos incluídos na vigilância animal e categorizados como criticamente importantes com prioridade máxima para a saúde humana e de uso restrito nos animais. Segue com o intuito de comparar a situação de Portugal comparativamente a outros países participantes desta vigilância; discutir as medidas estratégicas de combate à resistência aos antimicrobianos; perceber a relação entre o consumo animal de antibióticos e a ocorrência de resistência; mensurar o impacto causado pelas ocorrências de resistências aos antimicrobianos na cadeia dos alimentos provenientes de animais de produção; e, por fim, fornecer informações relevantes de modo a aperfeiçoar a vigilância nos animais, promover a segurança alimentar e assegurar uma melhor proteção da saúde pública.

## **3 Base evolutiva da microbiologia aplicada ao estudo do desenvolvimento da resistência aos antimicrobianos**

### **3.1 Estruturas da célula bacteriana que contribuem para a resistência aos antimicrobianos**

Na célula bacteriana encontram-se certas propriedades que eliminam a sensibilidade da bactéria a certos antimicrobianos, como alguns aspetos estruturais da bactéria e a codificação de genes de resistência a um determinado antimicrobiano (Quinn et al. 2011; Schwarz et al. 2018). O genoma bacteriano é composto por um único cromossoma circular e plasmídeos. O cromossoma, estrutura que consiste numa hélice de ácido desoxirribonucleico (ADN) de dupla fita, armazena as informações genéticas e expressa algumas características

exclusivas do organismo. Os plasmídeos, pequenos pedaços circulares de ADN extracromossômico localizados no citoplasma, codificam grande parte das características da bactéria que são capazes de replicação autónoma. Vários plasmídeos diferentes podem estar presentes na mesma célula bacteriana e a coexistência estável destes pode resultar numa nova recombinação de genes, levando ao surgimento de novas estruturas resistentes a antibióticos (Uzunian and Birner 2004; Quinn et al. 2011). Os plasmídeos são classificados de acordo com o seu modo de existência, propagação e função. De entre os mais relevantes as RAM, incluem os plasmídeos conjugativos e os plasmídeos R. Os plasmídeos conjugativos carregam genes que permitem a transferência de ADN de uma célula para outra. Os plasmídeos R carregam genes de resistência a alguns antibióticos, como a ampicilina e tetraciclina. No entanto, os plasmídeos de conjugação destaca-se devido suas características de *pili* sexual e participação no mecanismo de conjugação (Willey et al. 2020).

Outras estruturas de importância na RAM são: as fímbrias; os filamentos rígidos de natureza proteica e não associados à locomoção e; as bombas de fluxo, estruturas ligadas à membrana. Há duas classes de fímbrias: as fímbrias comuns, que promovem a aderência das bactérias às células hospedeiras e as *pili* sexuais, que podem ser como canais de transferência de ADN entre duas bactérias durante o processo de conjugação (Junqueira and Carneiro 1997). No que respeita às bombas de fluxo, as bactérias podem expressar diferentes variedades. Estas permitem expelir moléculas resultantes do metabolismo do hospedeiro e outros compostos, tais como antibióticos. Também podem exportar determinantes de virulência, como toxinas (EC 2017).

As bactérias podem apresentar dois tipos de estrutura da membrana externa que interferem no desenvolvimento da RAM. As conhecidas como Gram-positivas são mais suscetíveis aos antibióticos por apresentarem uma parede celular simples, composta principalmente por peptidoglicanos. Já as Gram-negativas apresentam uma parede celular com uma estrutura mais complexa, consistindo numa membrana citoplasmática, espaço periplasmático, uma camada fina de peptidoglicanos e uma membrana externa de bicamada lipídica contendo moléculas de lipopolissacáridos (LPS). Esta composição torna as bactérias Gram-negativas mais resistentes. Além disso, esta membrana externa também contém moléculas proteicas, denominadas porinas, que atuam como canais, permitindo a troca de diversas substâncias. Todas estas características contribuem para a ampla disseminação da resistência aos antibióticos entre as estirpes bacterianas (Prescott et al. 2005).

### **3.2 Da evolução microbiana à resistência aos antimicrobianos**

A capacidade do hospedeiro resistir a uma infecção depende da patogenicidade do agente e da resposta imunológica, isto é, da capacidade de reconhecer e atuar no microrganismo invasor a fim de o neutralizar ou destruir (Prescott et al. 2005). Outro fator do estado imunológico do hospedeiro que interfere na capacidade de contrair doença é que a microbiota comensal pode competir e até impedir o crescimento de microrganismos patogênicos. No entanto, se o hospedeiro estiver no decurso de uma terapia antimicrobiana prolongada, esta pode afetar a microbiota comensal e a capacidade de resposta fica comprometida. Esta competição permite a sobrevivência e a proliferação de organismos resistentes aos medicamentos utilizados, podendo resultar na colonização por estirpes bacterianas resistentes e capazes de causar distúrbios na imunidade do organismo, deixando-o mais propenso a infecções e doenças (Hirsh and Zee 2003; Quinn et al. 2011; Hubálek and Rudolf 2011).

O objetivo dos antibióticos é controlar a infecção bacteriana nos humanos e nos animais (Guardabassi et al. 2008). Os agentes bacteriostáticos inibem o crescimento de bactérias, permitindo que as defesas imunológicas do hospedeiro eliminem a infecção. No entanto, se este tipo de agente terapêutico não for mantido em concentrações efetivas nos tecidos, isso possibilita a sobrevivência bacteriana, favorecendo a resistência da bactéria face ao agente antimicrobiano. Em contraste, os agentes bactericidas, por se ligarem irreversivelmente às estruturas alvo, causam danos irreparáveis e morte celular bacteriana. Em altas concentrações, alguns agentes bacteriostáticos podem ser bactericidas. Outra característica é a especificidade do agente antimicrobiano, ou seja, alguns são ativos contra uma gama estreita de espécies bacterianas, enquanto outros, de largo espectro, são ativos contra muitas espécies. Para melhores resultados, pode utilizar-se a terapia antibacteriana combinada, associando mais de um antimicrobiano para o tratamento da doença. No entanto, se um medicamento bacteriostático for combinado com um medicamento bactericida, pode ocorrer um efeito antagonista, caracterizado pela eficácia reduzida da terapia antibacteriana combinada quando comparada com a eficácia de cada medicamento isoladamente (Quinn et al. 2011).

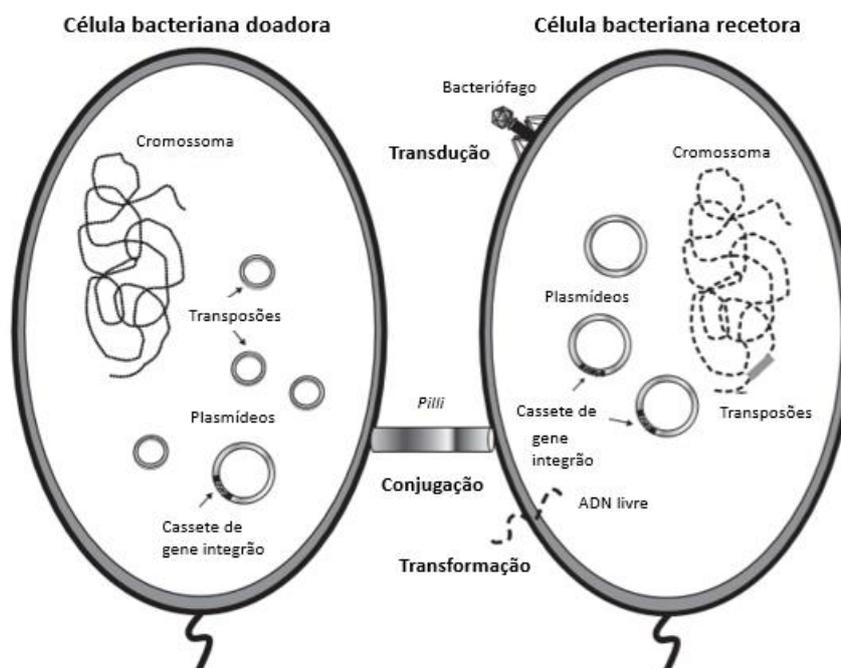
A exposição aos antimicrobianos tende a reduzir a colonização das bactérias suscetíveis e a selecionar as bactérias resistentes, isto é, o desenvolvimento da resistência antimicrobiana em bactérias comensais ou patogênicas é uma consequência natural do uso de antimicrobianos (Watson 2004; Guardabassi et al. 2008; Schwarz et al. 2018). O uso indiscriminado de antibiótico elimina as bactérias sensíveis e favorece as resistentes que proliferam e promovem a adaptação da espécie ao ambiente (Uzunian and Birner 2004). O

agente antibacteriano ideal é aquele que atua essencialmente na bactéria, interferindo no crescimento celular e interagindo com uma estrutura vital ou bloqueando uma via metabólica sem afetar o metabolismo do hospedeiro. São exemplos de atuação dos agentes antimicrobianos o comprometimento da membrana celular ou a inibição da síntese da parede celular, de ácidos nucleicos ou das proteínas. Aqueles com estruturas moleculares relacionadas, geralmente com um modo de ação ou um alvo semelhante, são agrupados em classes antimicrobianas e podem estar sujeitos ao mesmo mecanismo de resistência (Junqueira and Carneiro 1997; Quinn et al. 2011; FAO/WHO 2015).

### **3.3 Mecanismos de resistência aos antimicrobianos**

O desenvolvimento de RAM varia de acordo com o mecanismo de resistência, o gene de resistência, os agentes antimicrobianos, as bactérias envolvidas e a localização do gene de resistência. Outros fatores que também influenciam neste processo são a aquisição ou o desenvolvimento de genes de resistência, por meio de elementos genéticos móveis, tais como plasmídeo, transposões e cassete de genes integrão (Hirsh and Zee 2003; Quinn et al. 2011; Schwarz et al. 2018). Os transposões são um segmento de ADN capaz de se realocar ou se transpor para diferentes posições dentro do cromossoma ou do plasmídeo, e as cassetes de genes integrão são caracterizados pela combinação de um integrão, num local específico de inserção cromossômico para genes (Quinn et al. 2011; Krause and Hendrick 2011).

No processo de divisão celular existe partilha de propriedades genéticas e, inclusivamente, dos plasmídeos. A variação genética pode ainda ocorrer por mutação, na qual ocorre uma mudança na sequência nucleotídica de um gene, ou por recombinação, caracterizada pela troca de genes entre as bactérias, integrando duas sequências de ADN diferentes. Nesta segunda possibilidade, a informação genética de uma célula é introduzida no genoma de uma outra célula, gerando variabilidade e características potenciais de seleção natural, por meio de elementos genéticos móveis contendo genes de resistência aos antibióticos (ARG). Este novo material genético pode ser introduzido através da transferência horizontal de genes, pelos mecanismos de transformação, transdução ou conjugação (Figura 1) (Junqueira and Carneiro 1997; Hirsh and Zee 2003; Quinn et al. 2011; Willey et al. 2020).



**Figura 1: Elementos genéticos móveis e diferentes meios de transferência horizontal de genes bacterianos (Adaptado de Krause and Hendrick 2011)**

O processo de transformação pode ocorrer espontaneamente na natureza em alguns géneros bacterianos, ou pode ocorrer de forma experimental quando se adicionam, a uma cultura de bactérias, segmentos de ADN extraídos de outras bactérias. Esses fragmentos de ADN livre integram-se no genoma bacteriano recetor, incorporam-se nos cromossomas e condicionam novas características genéticas (Junqueira and Carneiro 1997; Uzunian and Birner 2004; Quinn et al. 2011).

A transdução é um processo pelo qual o ADN é transferido por bacteriófagos. Quando os bacteriófagos são formados no interior de uma bactéria, um segmento de ADN da bactéria pode ser incorporado juntamente com o ADN do bacteriófago. Posteriormente, o bacteriófago, que contém o ADN adquirido do cromossoma bacteriano, pode transferir esta informação genética para as células recetoras e gerar assim uma nova população de bactérias. (Junqueira and Carneiro 1997; Uzunian and Birner 2004; Krause and Hendrick 2011).

Na conjugação, a transferência de um segmento de ADN ocorre através das *pilli* sexuais quando as bactérias estão em contacto próximo. Este processo depende da presença de um plasmídeo conjugativo, e de entre os mais estudados, destaca-se o fator F, que conforme o plasmídeo F é transferido, este pode incorporar-se no cromossoma da bactéria recetora, por exemplo, no caso do mecanismo de conjugação HfrxF-, conferindo uma variedade de propriedades genéticas à célula hospedeira, a qual, ao dividir-se, origina uma população bacteriana com novas características. A transferência de plasmídeo por conjugação tem um importante significado no que diz respeito aos genes que codificam a

resistência aos antibióticos, uma vez que, através deste processo, um plasmídeo que contenha um gene de resistência a antibióticos numa célula bacteriana pode converter toda a nova população bacteriana em resistentes (Uzunian and Birner 2004; Quinn et al. 2011; Willey et al. 2020).

Os tipos de conjugação mais relevantes para a RAM foram descritos por Willey et al. (2020), de entre eles destacam-se os  $F^+ \times F^-$  (1),  $Hfr \times F^-$  (2),  $F' \times F^-$  (3). O tipo (1) ocorre quando o *pili* sexual de uma célula bacteriana, que contenha o fator  $F^+$  separado do cromossoma, faz contacto com a célula recetora  $F^-$ . Ao fazer a transferência, o fator  $F$  é replicado até se tornar uma fita dupla localizada ao lado do cromossoma da célula recetora. O tipo (2), engloba células com estirpes  $Hfr$ , que contêm o fator  $F$  integrado em seus cromossoma. À medida que o fator  $F$  começa a se mover para o receptor a conexão entre as células geralmente é interrompida antes que esse processo seja concluído. Assim, um fator  $F$  completo raramente é transferido, e o destinatário permanece  $F^-$ . Depois que o cromossoma doador replicado entra na célula receptora, ele pode ser degradado ou incorporado ao genoma  $F$  por recombinação. O tipo (3), parte de uma célula contendo um plasmídeo  $F'$ , onde retém todos os seus genes, embora alguns deles estejam no plasmídeo. Ele se integra apenas com um receptor  $F^-$ , e a conjugação  $F' \times F^-$  é semelhante a uma conjugação  $F^+ \times F^-$ . Os genes plasmídicos no cromossoma não são transferidos, mas os genes cromossomais no plasmídeo  $F'$  são transferidos.

O tempo para desenvolver a resistência varia de acordo com as bactérias, com a pressão seletiva imposta pelo uso de agentes antimicrobianos, com os meios de transferibilidade dos genes de resistência, por mutações e pelo desenvolvimento de novos genes de resistência ou aquisição horizontal de genes de resistência através dos processos já mencionados anteriormente. Além da estrutura externa de uma célula bacteriana e os biofilmes que podem as envolver, fornecendo uma barreira física à entrada de muitos antibióticos, existem outros mecanismos que são responsáveis pela resistência bacteriana aos antibióticos, sendo diferenciados em três tipos (Guardabassi et al. 2008; Quinn et al. 2011; Schwarz et al. 2018):

- Inativação enzimática, por desintegração hidrolítica ou modificação química dos antimicrobianos, ou seja, as bactérias podem produzir enzimas que destroem ou inativam o antimicrobiano, como  $\beta$ -lactamases, ou que reduzem a permeabilidade das células bacterianas, alterando a produção de porinas;
- Redução da acumulação de antimicrobianos intracelulares, por diminuição do influxo via transportadores multidrogas ou pelo aumento do efluxo de antimicrobianos através de exportadores específicos, isto é, podem eliminar o antibiótico intracelular através da ação de uma variedade de bombas de fluxo ligadas à membrana;

- Modificação dos locais alvo do antimicrobiano na célula, por mutação ou substituição de estruturas alvo sensíveis por estruturas resistentes, tais como a alteração do LPS ou a modificação dos elementos genéticos móveis.

A RAM pode ser ainda definida como intrínseca ou extrínseca. A resistência intrínseca, também conhecida como inata ou primária, é codificada no cromossoma bacteriano, sendo uma propriedade estrutural ou funcional associada ao gênero ou à espécie da bactéria, como a complexidade da parede celular, mecanismos de fluxo ou inativação enzimática de um antibiótico. São exemplos disso a resistência da bactéria a um agente antimicrobiano específico ou classe de agentes, pela falta ou inacessibilidade de estruturas alvo para a atuação de certos agentes antimicrobianos no organismo, como a incapacidade de alguns antimicrobianos penetrarem na membrana externa; a presença de sistemas de exportação, por exemplo, o sistema AcrAB-TolC em *Salmonella* Typhimurium, e o sistema CmeABC em *C. jejuni*, responsável pela resistência de alto nível às fluoroquinolonas e, por último, pela produção de enzimas inativadoras específicas em determinadas bactérias, por exemplo, a produção de AmpC  $\beta$ -lactamase nas *E. coli*. A resistência extrínseca ou adquirida é uma propriedade específica da estirpe bacteriana devida a alterações genéticas no genoma bacteriano. Estas podem ser consequência de uma mutação num gene residente ou da transferência horizontal de material genético que codifica genes de resistência via plasmídeos, bacteriófagos portadores de genes de resistência ou transposões que contêm sequências de integrões, por exemplo, a aquisição de genes associados à produção de enzimas  $\beta$ -lactamases de espectro alargado (ESBL),  $\beta$ -lactamases AmpC (AmpC) e carbapenemases (CP) que degradam antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, conferindo resistência às cefalosporinas, ou aquisição de genes como o gene *qnr*, o qual confere resistência às fluoroquinolonas, ou gene *mcr*, o qual confere resistência às polimixinas (Quinn et al. 2011; Schwarz et al. 2018).

A resistência a um agente antimicrobiano pode ser selecionada por outro agente, seguindo mecanismos de seleção cruzada e co-seleção. A seleção ou resistência cruzada refere-se à presença de um único gene de resistência ou mutação que confere resistência a dois ou mais agentes antimicrobianos, geralmente pertencentes à mesma classe antimicrobiana. Por exemplo, o uso de antimicrobianos em animais, como a enrofloxacin, que têm a capacidade de selecionar cruzadamente a resistência a medicamentos estruturalmente relacionados, usados na medicina humana, como a ciprofloxacina (fluoroquinolonas). A co-seleção ou co-resistência é devida à coexistência de genes ou mutações distintas na mesma estirpe bacteriana, cada um conferindo resistência a uma classe antimicrobiana diferente. Por exemplo, a tetraciclina, antibiótico comumente usado na produção suína, provavelmente co-selecionará a resistência aos glicopeptídeos, uma vez que os genes que conferem resistência à tetraciclina geralmente estão localizados nos plasmídeos que transportam o gene de resistência aos glicopeptídeos (Guardabassi et al. 2008).

Visto que antibióticos possuem características semelhantes, a resistência a um antibiótico específico pode alastrar-se a toda uma classe relacionada. Tal ocorre através do transporte de genes de resistência pelos elementos genéticos móveis, permitindo que as bactérias se tornem resistentes a múltiplos antimicrobianos (MDR), até mesmo de classes diferentes. Portanto, o mesmo gene ou mecanismo de resistência pode estar limitado a certas espécies ou géneros bacterianos ou ser encontrado em diversas bactérias. Além disso, a resistência a um agente antibacteriano pode resultar em resistência cruzada face a outros agentes da mesma classe. Estas variações resultam em bactérias multirresistentes, como o *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA), e representam uma grande preocupação para a saúde pública, principalmente no ambiente hospitalar onde a pressão seletiva destes patógenos é alta, em consequência do aumento da pressão seletiva imposta pelo uso generalizado de agentes antimicrobianos desde a década de 1950 e do declínio da pesquisa de novos antibióticos após a década de 70, o que provavelmente contribuiu para o desenvolvimento e disseminação da resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos. Com poucos agentes antibacterianos efetivos em desenvolvimento é necessária uma abordagem global e holística para enfrentar o desafio da resistência aos múltiplos antimicrobianos (Quinn et al. 2011; WHO 2015; Schwarz et al. 2018).

## **4 O impacto da RAM na saúde pública e na segurança dos alimentos**

### **4.1 Relação multisectorial**

Os microrganismos resistentes a antimicrobianos tornaram-se um problema global na saúde pública e na segurança dos alimentos, por reduzirem a eficácia de antibióticos comuns a diversos setores e provocarem um impacto em toda a sociedade. Com o crescimento da população e a expansão do comércio nacional e internacional, houve uma maior procura por produtos alimentares frescos, refrigerados e processados. No entanto, se as regras de higiene e a inspeção sanitária, que visam obter produtos alimentares seguros e saudáveis, não estiverem bem estabelecidas, podem resultar em falhas significativas de biossegurança e higiene ao longo da cadeia alimentar. São cada vez mais e preocupantes, na medicina humana, as doenças causadas por agentes patogénicos transmitidos ao homem pelo consumo de alimentos e água. Entre elas, destaca-se as bactérias zoonóticas resistentes, tais como *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp., que podem ser transferidas de animais para os humanos através do consumo de alimentos de origem animal, como a carne e o leite (Torrence and Isaacson 2003; Quinn et al. 2011; Krause and Hendrick 2011; FAO/WHO 2015).

O surgimento de resistência a um ou mais antibióticos é resultante da pressão seletiva decorrente do seu uso inadequado ou indiscriminado na pecuária e na medicina humana. No entanto, os resíduos de antibióticos no meio ambiente também podem contribuir para a seleção de bactérias resistentes a antibióticos e para a disseminação de ARGs, principalmente em países em vias de desenvolvimento, devido ao acesso limitado a água potável, à infraestrutura sanitária precária e à má gestão do lixo sólido. Esta exposição da população às bactérias com genes de resistência ou a resíduos de antibióticos pode afetar a microbiota do trato gastrointestinal humano e resultar em alterações nos padrões de resistência microbiana, causando um maior risco para a saúde humana devido às falhas ou às perdas de opções de tratamento, refletindo-se numa maior probabilidade e gravidade das doenças infecciosas. Além disso, as RAM têm um impacto na economia global, devido às perdas económicas relacionadas com a produtividade reduzida nos humanos e nos animais doentes e, conseqüentemente, os custos de tratamento (Torrence and Isaacson 2003; Quinn et al. 2011; Krause and Hendrick 2011; EFSA 2014; WHO 2015).

Assim, embora muitas infeções causadas por agentes patogénicos resistentes sejam transmitidas de humano para humano, muitas outras doenças entéricas zoonóticas são capazes de causar morbidade e mortalidade significativas na população humana. Esta interação entre os seres humanos, os animais de produção e o meio ambiente demonstra a importância da unificação dos setores envolvidos para o desenvolvimento de políticas e programas de monitorização, deteção, notificação e prevenção em pontos relevantes da cadeia de produção de alimentos (WHO 2015).

## **4.2 “Do prado ao prato” – a RAM na cadeia alimentar**

Surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) espalham-se rapidamente devido à disponibilidade imediata de produtos alimentares frescos e refrigerados, que muitas vezes são transportados por grandes distâncias, nacional e internacionalmente (Holmes 2016). Grande parte do foco da segurança dos alimentos diz respeito às DTA causadas pelo consumo de alimento ou águas contaminadas por microrganismos patogénicos, tais como bactérias e/ou suas toxinas, vírus e parasitas (EFSA 2014). Entre estes, destacam-se na cadeia alimentar algumas bactérias zoonóticas, como a *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus aureus*, pois, para além de poderem causar infeção e doença, também podem transmitir genes de resistência à bactérias da microbiota dos seres humanos (WHO 2018).

A produção de alimentos seguros para consumo é baseada no conceito de que os riscos que podem estar presentes nos alimentos devem ser prevenidos, eliminados ou

reduzidos a níveis aceitáveis, o que também inclui os resíduos de antimicrobianos contidos nos alimentos, os quais são reconhecidos como um perigo com potencial para causar um efeito adverso à saúde e ao bem-estar humano. Desta forma, para garantir um elevado nível de proteção dos consumidores, é fundamental que a utilização de medicamentos veterinários em animais de produção seja feita de maneira prudente e assegurada por controlo fiscais (Watson 2004).

Uma das principais legislações relativa aos controlos oficiais e outras atividades oficiais que visam assegurar a aplicação da legislação em matéria de géneros alimentícios e alimentos para animais e das regras sobre saúde e bem-estar animal, fitossanidade e produtos fitofarmacêuticos na UE, é o Regulamento (UE) nº 2017/625 do Parlamento Europeu e do Conselho. No entanto, no que diz respeito ao controlo de resíduos de substâncias com efeito farmacológico nos alimentos de origem animal, a conformidade com os termos da lei é melhor realizada através do uso do Código de Boas Práticas Agrícolas e do sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP), uma ferramenta para a gestão da segurança dos alimentos em áreas da cadeia alimentar (Watson 2004; Regulamento (UE) nº 2017/625).

A disseminação global das bactérias resistentes aos antimicrobianos ou dos genes de resistência é facilitada pelo comércio globalizado, através do trânsito de pessoas e comércio de animais vivos e de produtos alimentares (Amaro et al. 2020; Quinn et al. 2011). A transmissão da resistência pode ocorrer por contacto direto e/ou indireto, pela cadeia alimentar, água ou através do estrume aplicado na agricultura (Amaro et al. 2020). Na maioria dos países, existem acordos internacionais em vigor para garantir que os padrões de biossegurança e segurança dos alimentos sejam aplicados a todos os produtos alimentares comercializados (Krause and Hendrick 2011).

Dado o atual sistema global de produção de alimentos e a dependência de métodos intensivos de agricultura, muitos medicamentos veterinários são usados a fim de aumentar a eficiência de produção. No que diz respeito a adição de antibióticos na alimentação animal, mesmo em baixos níveis, é uma prática considerada ilegal em diversos países, nomeadamente nos Estados Membros da UE, por ser um dos fatores que contribui para o aumento da resistência aos medicamentos. Por isso, os antibióticos devem ser administrados em dose terapêutica para tratamento de infeções específicas, preferencialmente após um diagnóstico bacteriológico e um teste de suscetibilidade aos antibióticos (Prescott et al. 2005; Amaro et al. 2020). Para o uso terapêutico, desde que os medicamentos veterinários sejam utilizados nas condições certas, na menor dose efetiva e no intervalo de segurança adequado, existe pouco risco para os consumidores de produtos de origem animal (Watson 2004). Entretanto, a transmissão zoonótica e a transferência horizontal de genes de resistência entre bactérias animais e humanas tem sido documentada. Vários programas de monitorização na

UE concluíram existir uma associação entre o uso de antimicrobianos e a prevalência de bactérias resistentes aos antimicrobianos em animais e produtos alimentares. A introdução de fluoroquinolonas na produção animal foi seguida pelo aparecimento de resistência às fluoroquinolonas em bactérias isoladas de animais de produção e, posteriormente, em bactérias zoonóticas isoladas de infecções humanas. Além disso, estudos tem documentado um aumento na ocorrência de *Campylobacter* spp. resistente a fluoroquinolonas em animais e humanos, sendo as aves o principal reservatório para a sua transmissão. Outros exemplos da transmissão alimentar da resistência antimicrobiana de animais para humanos são as infecções por *Salmonella* spp. resistente a antimicrobianos nos países desenvolvidos, sendo adquirida pelo consumo de produtos alimentares de suínos, aves e bovinos. Estas espécies também podem transmitir *E. coli* e enterococos resistentes (Krause and Hendrick 2011; Quinn et al. 2011; Schwarz et al. 2018).

Portanto, o uso prudente de agentes antimicrobianos na produção de animais, além de se refletir na eficácia continuada dos agentes antimicrobianos no controlo de infeções bacterianas, também diminui o risco de transferência de bactérias resistentes e genes de resistência entre os animais e ao longo da cadeia dos alimentos (Schwarz et al. 2018). No entanto, mesmo respeitando as doses estabelecidas, a duração dos tratamentos e os intervalos de segurança, o uso contínuo de antimicrobianos vai sempre refletir-se em novas estirpes de microrganismos resistentes a antibióticos, contribuindo com novos agentes patogénicos emergentes de origem alimentar no futuro. Com base neste entendimento, as entidades de saúde animal e humana têm vindo a desenvolver princípios criteriosos para o uso prudente de antibióticos em animais, restringindo o uso de alguns antibióticos à medicina humana ou veterinária (Watson 2004).

### **4.3 Medicamentos de importância na saúde humana e na saúde animal**

Os agentes antimicrobianos usados para tratar doenças causadas por bactérias zoonóticas são considerados de maior importância, pois necessitam de uma melhor gestão no seu uso não humano e estratégias para redução do risco de exposição dos humanos às bactérias resistentes e aos resíduos de antibióticos no meio ambiente ou provenientes de produtos de origem animal. A OMS, OIE e FAO têm avaliado o impacto do uso de agentes antimicrobianos nos setores da saúde humana, animal e meio ambiente, destacando como sendo uma preocupação para a saúde pública o facto de alguns antimicrobianos usados em animais para fins de promoção do crescimento, fins profiláticos, metafiláticos ou terapêuticos, serem os mesmos ou de tipos relacionados com os de uso na medicina humana, resultando em consequências adversas para a saúde humana, como a ocorrência de bactérias

resistentes em animais, produtos alimentares ou meio ambiente, e expondo a saúde humana a essas bactérias, ou ainda, aos agentes patogênicos resistentes aos antimicrobianos de importância crucial para a saúde humana (WHO 2018).

Tendo em consideração as resistências resultantes do uso não humano de antimicrobianos, a OMS, em colaboração com a FAO e a OIE, desenvolveu uma lista de antimicrobianos de importância crítica para a medicina humana, e a OIE também identificou e listou os agentes antimicrobianos de extrema importância para a medicina veterinária. A conjugação das duas listas permitiu um equilíbrio entre a saúde e bem-estar animal e a saúde humana, resultando numa lista que leva em consideração controlar as consequências para a saúde pública associadas ao uso de agentes antimicrobianos em animais para produção de alimentos. Apesar de ser uma orientação mundial, as listas podem variar de país para país, sendo revistas regularmente desde 2005 (WHO 2018).

A lista da OMS para os antimicrobianos criticamente importantes (CIA) para a medicina humana inclui todos os antimicrobianos usados na medicina humana e, com base em dois critérios e três fatores de priorização, classifica-os como sendo de “Importância crítica”, “Altamente importante” ou “Importante” para a medicina humana. Do mesmo modo, a lista de agentes antimicrobianos de importância veterinária da OIE inclui os agentes antimicrobianos usados na medicina veterinária e, com base em dois critérios, classifica-os em “Antimicrobianos veterinários criticamente importantes” (VCIA), “Antimicrobianos veterinários altamente importantes” (VHIA) ou “Antimicrobianos veterinários importantes” (VIA) (WHO 2018; OIE 2018).

Do conjunto dos antimicrobianos listados no anexo III, destacam-se, na medicina humana, os HP-CIA, ou seja, as classes de antimicrobianos que atendem aos dois critérios e aos três fatores de priorização da OMS (Tabela 1), e na medicina veterinária os VCIA, ou seja, as classes de antimicrobianos que atendem aos dois critérios da lista da OIE de 2018 (Tabela 2) (WHO 2018).

**Tabela 1: Critérios e fatores de priorização da lista de CIA da OMS (WHO, 2018)**

C1	Critério 1	A classe antimicrobiana é a única ou uma das terapias limitadas disponíveis para tratar infecções bacterianas graves em pessoas.
C2	Critério 2	A classe antimicrobiana é usada para tratar infecções em pessoas causadas por: (1) bactérias que podem ser transmitidas aos seres humanos a partir de fontes não humanas; ou (2) bactérias que podem adquirir genes de resistência de fontes não humanas.
P1	Fator de priorização 1	Grande número de pessoas na comunidade ou em determinadas populações de alto risco (por exemplo, pacientes com infecções graves em estabelecimentos de saúde) que são afetadas por doenças para as quais há escolhas antimicrobianas muito limitadas.

P2	Fator de priorização 2	Alta frequência de uso da classe antimicrobiana para qualquer indicação na medicina humana ou em certos grupos de alto risco (por exemplo, pacientes com infecções graves em estabelecimentos de saúde), pois o uso pode favorecer a seleção de resistência.
P3	Fator de priorização 3	A classe antimicrobiana é usada para tratar infecções em pessoas para as quais já existem evidências extensas de transmissão de bactérias resistentes (por exemplo, <i>Salmonella</i> spp. e <i>Campylobacter</i> spp.) ou genes de resistência (altos para <i>E. coli</i> e <i>Enterococcus</i> spp.) de fontes não humanas.

**Tabela 2: Critérios da lista de agentes antimicrobianos de importância veterinária da OIE, 2018**

Critério 1	Este critério foi atendido quando a maioria dos entrevistados identificou a importância da classe antimicrobiana na sua resposta ao questionário.
Taxa de resposta ao questionário referente aos agentes antimicrobianos importantes para o uso veterinário	
Critério 2	Este critério foi atendido quando os compostos dentro da classe foram identificados como sendo essenciais contra infecções específicas e na falta de alternativas terapêuticas suficientes.
Tratamento de doenças animais graves e a disponibilidade de agentes antimicrobianos alternativos	

As classes de antimicrobianos pertencentes à classificação de 2018 dos HP-CIA da OMS são as fluoroquinolonas, as cefalosporinas de terceira geração ou mais alta, os macrólidos e cetólidos, os glicopeptídeos e as polimixinas. Em comparação, as classes de antimicrobianos pertencentes à classificação VCIA de 2018 são os aminoglicosídeos, os anfenicóis, as cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, os macrólidos, as penicilinas, as fluoroquinolonas, as sulfonamidas e as tetraciclinas (WHO 2018; OIE 2018).

A seleção das classes pertencentes a HP-CIA pode ser justificada pelo uso na medicina humana, por exemplo, o caso de as fluoroquinolonas e as cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração serem uma das poucas terapias disponíveis para infecções graves por *Salmonella* spp. e *E. coli*, particularmente no uso de cefalosporinas em crianças; os macrólidos serem uma das poucas terapias disponíveis para infecções graves por *Campylobacter* spp., principalmente em crianças, para as quais as fluoroquinolonas não são recomendadas; os glicopeptídeos serem uma das poucas terapias disponíveis para infecções enterocócicas graves; e, as polimixinas intravenosas serem uma das poucas terapias disponíveis para tratar infecções multirresistentes graves por *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* em casos hospitalares de muitos países, especialmente em pacientes gravemente doentes e em terapia intensiva (WHO 2018).

Relativamente ao uso em animais produtores de alimentos, a seleção tem como base os resultados dos planos de vigilância das resistências aos antimicrobianos, nos quais se inclui a ocorrência de resistência de (WHO 2018):

- *Salmonella* spp. e *E. coli* a fluoroquinolonas e cefalosporinas;

- *Campylobacter* spp. a macrolídeos, especialmente *C. jejuni* em aves de capoeira;
- *Enterococcus* spp a glicopeptídeos, pelo histórico de uso do antibiótico avoparcina como promotor de crescimento, resultando em enterococos resistentes à vancomicina;
- *E. coli* às polimixinas, resistência mediada por plasmídeo.

## **5 A perspectiva da “Uma só saúde” no combate a RAM a nível global, europeu e nacional**

### **5.1 Abordagem global**

Na perspectiva de uma abordagem unificada e na tentativa de reduzir o risco de RAM na população mundial, o âmbito tripartido de colaboração e de ação multissetorial das autoridades nacionais, regionais e internacionais impulsiona-as a trabalharem juntas para regular o uso de antimicrobianos e a indústria de produção de alimentos em todos os níveis, desde o produtor até ao consumidor (Krause and Hendrick 2011; WHO 2015).

A OMS é uma organização de saúde internacional humana no sistema da Organização das Nações Unidas. Os seus valores refletem princípios de direitos humanos, universalidade e equidade, visando um mundo em que todos os povos atinjam o nível mais alto de proteção da saúde. A sua missão tem como base promover a saúde, manter o mundo seguro e servir os vulneráveis (WHO [acedido em 2020 jul 7]).

A FAO é uma agência especializada das Nações Unidas que lidera os esforços internacionais para erradicar a fome no mundo. Tem como objetivo alcançar a segurança alimentar de todos e garantir que as pessoas tenham acesso regular a alimentos de boa qualidade suficientes para terem uma vida ativa e saudável (FAO [acedido em 2020 de jul 7]).

A OIE é a organização mundial para a saúde animal com a missão de garantir a transparência do estatuto global das doenças animais; recolher, analisar e disseminar informações científicas veterinárias; incentivar a solidariedade internacional no controlo de doenças animais; proteger o comércio mundial através de regras sanitárias para o comércio internacional de animais e produtos de origem animal; melhorar o regime jurídico e os recursos dos Serviços Veterinários nacionais; providenciar a melhor garantia de segurança dos alimentos de origem animal e promover o bem-estar dos animais através de uma abordagem científica (OIE [acedido em 2020 jul 7]).

O Plano de Ação Global das Resistências aos Antimicrobianos foi desenvolvido pela OMS, em colaboração com a FAO e a OIE, e tem uma abordagem baseada no conceito “Uma

só Saúde”, envolvendo diversos setores relacionados direta ou indiretamente com os medicamentos antimicrobianos e a gestão das resistências aos mesmos. O plano tem como objetivo central garantir o tratamento e a prevenção de doenças infecciosas com medicamentos eficazes, seguros e de boa qualidade, usados de maneira responsável e acessíveis a todos os que precisam deles. Para isso, o plano conta com cinco objetivos estratégicos (WHO 2015):

- I. Melhorar a consciencialização e a compreensão das resistências aos antimicrobianos através de uma comunicação, educação e formação eficaz;
- II. Fortalecer a base de conhecimentos e evidências por meio de vigilância e pesquisa;
- III. Reduzir a incidência de infeção através de medidas eficazes de saneamento, higiene e prevenção de infeções;
- IV. Otimizar o uso de medicamentos antimicrobianos na saúde humana e animal;
- V. Desenvolver o argumento económico do investimento sustentável que tenha em consideração as necessidades de todos os países e aumentar o investimento em novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções.

De forma a atingir estes objetivos, o plano enfatiza a necessidade de implementação de planos de ação nacionais multissetoriais. Todos baseados no plano global, mas devido às diferentes fases de evolução nos Países-Membros, em termos de desenvolvimento e implementação de planos nacionais, o plano também demonstra uma flexibilização de ações prioritárias adaptadas à realidade de cada país. Também a nível regional, como é o caso dos países pertencentes à UE, a qual conta com um mercado único sem fronteiras, permitindo um livre fluxo de pessoas, animais e produtos entre os EM, e, conseqüentemente, um livre fluxo das bactérias e dos genes de resistência (WHO 2015).

## **5.2 Entidades europeias na monitorização da RAM**

A UE foi uma das pioneiras a atuar nas RAM, demonstrando uma precoce preocupação com a influência do uso de antimicrobianos nos animais na saúde humana. Desde o final do século XX, mobilizou-se proactivamente no combate às RAM através da implementação do relatório Swann, no qual recomenda que os agentes antimicrobianos sejam excluídos da alimentação animal quando utilizados como agentes terapêuticos na medicina humana ou animal, ou, ainda, se estiverem associados ao desenvolvimento de resistência cruzada a medicamentos usados na medicina humana. Seguidamente, a UE banuiu o uso de avoparcina na alimentação animal, resultando na proibição total do uso de antimicrobianos como promotores de crescimento na alimentação animal. Tal teve repercussões na estratégia comunitária de 2001, posteriormente reforçada em 2011, com o Plano de Ação baseado no

relatório “O desafio microbiano – a ameaça crescente da resistência antimicrobiana” referente à saúde humana, saúde animal e vegetal, o qual previu a implementação de ações, tais como a recolha de dados, vigilância, pesquisa e consciencialização a nível europeu (Watson 2004; Guardabassi et al. 2008; EC 2017; Schwarz et al. 2018).

O novo Plano de Ação “Uma só Saúde” Europeu contra as Resistências aos Antimicrobianos foi aprovado pela Comissão Europeia (CE) em 2017, com o objetivo central de preservar a possibilidade de um tratamento eficaz nas infeções em humanos e em animais, através de ações para reduzir o aparecimento e a disseminação da RAM e aumentar o desenvolvimento e a disponibilidade de novos antimicrobianos eficazes dentro e fora da UE. Para o efeito, os objetivos chave do plano contam com três pilares (EC 2017):

- I. Fazer da UE uma região de boas práticas – obter melhores evidências por meio da vigilância das RAM e do uso de antimicrobianos; melhorar a coordenação e a implementação das regras da UE para os EM; rever medidas preventivas e de controlo; promover o uso prudente de antimicrobianos; fortalecer a parceria multissetorial no combate as RAM; e reorganizar a disponibilidade de antimicrobianos.
- II. Impulsionar a investigação, o desenvolvimento e a inovação nas RAM – melhorar o conhecimento da deteção das resistências; obter um eficaz controlo e vigilância da infeção com implementação de programas harmonizados de monitorização da utilização dos antimicrobianos e das resistências; eliminar as lacunas de conhecimento do problema no meio ambiente; elucidar a prevenção da disseminação das RAM; fornecer novas terapias e alternativas de tratamento; e desenvolver novas vacinas preventivas, meios diagnósticos e modelos económicos de incentivo à pesquisa.
- III. Moldar uma agenda global – intensificar globalmente a presença da UE; fortalecer as parcerias bilaterais e as suas cooperações interrelacionadas; contribuir para reduzir as RAM em países em desenvolvimento; e promover uma agenda global de investigação.

De modo a adotar medidas adequadas a nível multissetorial, a Comissão conta com a colaboração das agências científicas da UE, nomeadamente a EFSA, o ECDC e a EMA associada ao projeto ESVAC (European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption). As ações de apoio das agências abrangem a prevenção de infeções, por meio de medidas de biossegurança e práticas de controlo na saúde humana e na criação de animais, de forma a reduzir infeções e a necessidade de antimicrobianos (EC 2017). Relativamente às informações científicas, a Comissão conta com a cooperação de interagências, tais como a AMEG (The Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group), a JIACRA (Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis) e a RONAFSA (EFSA-

EMA ad hoc working group on the Reduction of the Need for Antimicrobials in Food-producing Animals).

A UE também demonstra o seu compromisso com cada EM, sendo que nestes existem diferentes realidades nos padrões de uso de antimicrobianos, na ocorrência de resistência e nas políticas nacionais para lidar com a RAM. Com isso, as ações da UE a nível europeu visam promover o uso prudente de antimicrobianos, melhorar o trabalho intersetorial, melhorar a prevenção de infeções e consolidar a vigilância harmonizada do consumo de RAM e do uso de antimicrobianos. Uma dessas ações inclui a participação de autoridades competentes e profissionais de saúde em programas de formação das RAM pela iniciativa da *Better Training for Safer Food*. No entanto, cada EM continua a ser o principal responsável pela definição das suas próprias políticas e planos de ação nacionais de saúde (EC 2017).

### **5.3 Portugal no combate às Resistências aos Antimicrobianos**

A Diretiva 2003/99/CE, relativa à vigilância das zoonoses e dos agentes zoonóticos, teve como objetivo “assegurar a vigilância adequada de zoonoses, dos agentes zoonóticos e das resistências antimicrobianas”. Desde 2008, a resistência aos antibióticos tem sido avaliada em PT através de testes de suscetibilidade em bactérias do género *Campylobacter* spp. e *Salmonella* spp., isoladas de amostras colhidas no âmbito do Plano Nacional de Controlo de *Salmonella* e do Plano de Inspeção dos Géneros Alimentícios. Com a implementação da Decisão de Execução (UE) nº 2013/652/UE, estabeleceram-se normativas específicas para a vigilância e comunicação de dados de forma harmonizada sobre a resistência antimicrobiana.

No âmbito do conceito “Uma só Saúde”, as medidas nacionais atuais de combate à RAM estão baseadas no Plano Nacional de Combate à Resistência aos Antimicrobianos (PNCRAM), o qual foi implementado em 2019 e contou com o compromisso dos Ministérios da Saúde, da Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural e do Ambiente. O PNCRAM é constituído pelo Plano Estratégico; pelo Plano Operacional a desenvolver pelos setores das áreas da saúde humana, animal e ambiente com as respetivas autoridades - a DGS, DGAV e APA; e pelo Plano de Monitorização e Avaliação a desenvolver no âmbito das competências do Grupo de Trabalho. Para alcançar os objetivos globais, e baseado nas linhas estratégicas da OMS, OIE e FAO, o PNCRAM conta com seis objetivos estratégicos (DGS 2019):

- I. Prosseguir a implementação do conceito “Uma só Saúde”;
- II. Melhorar o conhecimento sobre a resistência aos antimicrobianos;
- III. Fortalecer a base de conhecimento e evidência através da vigilância epidemiológica, monitorização ambiental e investigação;

- IV. Reduzir a incidência de infeção;
- V. Otimizar o uso dos antimicrobianos;
- VI. Manter o compromisso e aumentar o investimento em novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções relevantes.

A nível da saúde animal e da segurança dos alimentos, a DGAV contou inicialmente com um Grupo de Trabalho para a Redução da Resistência aos Antimicrobianos, que envolveu áreas funcionais de diversas unidades orgânicas. Este grupo foi constituído por um ou mais representantes das seguintes unidades: Divisão de Gestão e Avaliação de Medicamentos Veterinários; Direção de Serviços de Segurança Alimentar; Direção de Serviços de Nutrição e Alimentação; Direção de Serviços de Proteção Animal; Direção de Serviços de Sanidade Vegetal; e Direção de Serviços de Meios de Defesa Sanitária. Este grupo foi reorganizado através da criação do Grupo de Trabalho de Uma Só Saúde (GT1SS) que integra as diferentes áreas de atuação e gere os temas associados à Uma Só Saúde (DGAV 2021).

O PNCRAM baseia-se também noutros planos complementares como o Plano de Ação Nacional para Redução do Uso de Antibióticos nos Animais (PANRUAA), implementado pela DGAV em 2014, e em colaboração com outros planos e programas, dentre eles o Plano Nacional de Monitorização dos Consumos de Antimicrobianos (PNMCA), no âmbito do projeto ESVAC, e o PVRAM, no âmbito do programa europeu de vigilância e comunicação de dados sobre a resistência aos antimicrobianos em agentes zoonóticos e comensais (DGAV 2013).

O PVRAM tem como base legislativa a Decisão de Execução (UE) nº 2013/652/UE, a qual enfatiza a vigilância em bactérias zoonóticas (*Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*), bactérias comensais indicadoras (*Escherichia coli*) e bactérias resistentes às cefalosporinas de 3.ª geração (*E. coli* produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro alargado), isolados de animais (cecos de bovinos, suínos, frangos e perus) e alimentos (carnes das mesmas espécies animais). Neste âmbito, entre 2014 e 2020, o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) tem colaborado com a DGAV na execução analítica do PVRAM, a fim de avaliar o quanto os animais produtores de alimentos e seus produtos têm sido reservatórios de bactérias resistentes aos antibióticos (Amaro et al. 2020).

## **6 Plano de Vigilância das Resistências aos Antimicrobianos em animais de produção e alimentos de origem animal**

Os programas de vigilância da RAM podem identificar o foco e a dimensão do problema, direcionar medidas preventivas, verificar se a resistência detetada está a aumentar,

a difundir-se ou associada a um surto específico, além de medir a eficácia das intervenções de controlo anteriores e detetar novas tendências emergentes de resistência antimicrobiana nos humanos e animais a nível nacional, regional e internacional. Há um amplo consenso de que a vigilância que ocorre de modo multissetorial sustenta estratégias específicas e holísticas de controlo e de prevenção. De modo a conseguir medir o impacto das RAM na saúde pública, a vigilância deve incluir uma amostragem de determinadas bactérias em humanos, animais e ambiente, permitindo comparar se a ocorrência de resistência a um determinado antimicrobiano ou um perfil de resistência numa bactéria zoonótica específica nos animais é coincidente com a mesma ocorrência nos humanos. Em paralelo com a vigilância deve ser feita uma monitorização do uso de antimicrobianos em ambientes humanos, veterinários e agrícolas, de forma a, por exemplo, se poder verificar a relação do consumo de um determinado antimicrobiano em animais com a ocorrência de resistência do mesmo nos humanos (Schwarz et al. 2018).

De modo unificado, organizações internacionais ligadas à Saúde Pública, Saúde Animal, Alimentação e Agricultura, aprovaram um conjunto de medidas que integram o Plano de Ação Mundial contra a resistência antimicrobiana (Amaro et al. 2020). A OMS e a OIE disponibilizam orientações sobre vigilância integrada e harmonizada da resistência em humanos e animais, de modo a ajudar os países a implementarem os seus próprios programas nacionais de vigilância e contribuir nas atividades de vigilância global. A vigilância internacionalmente harmonizada permite demonstrar como a resistência se desenvolve e se espalha dentro de nichos ecológicos e espécies de bactérias. Para tal, é essencial que a vigilância seja baseada em denominadores específicos, por exemplo, a nível de vigilância nos animais e produtos de origem animal deve estabelecer-se o tipo e o tamanho da amostra de espécies animais, as bactérias comensais e patogénicas isoladas e os agentes antimicrobianos utilizados na produção animal e os de importância na saúde humana (Schwarz et al. 2018). Deve também ser padronizado o método para o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA), como técnicas de diluição em agar ou diluição em microtubos, e os critérios interpretativos, como valores de concentrações inibitórias mínimas (CIM) ou diâmetros da zona de inibição, os quais determinam os valores de ponto de corte epidemiológicos (ECOFFs) e atribuem categorias às bactérias entre “suscetíveis” ou “resistentes” (FAO/WHO 2015). Essas especificações permitem que os dados sejam comparáveis e que entidades nacionais, regionais e internacionais possam recolher e analisar os dados de forma integrada e disponibilizar às partes interessadas (Schwarz et al. 2018).

A nível animal, a ênfase da vigilância é monitorizar o desenvolvimento de resistência nas bactérias zoonóticas na perspetiva da saúde pública e da segurança dos alimentos, ou seja, a vigilância em animais é voltada para bactérias comensais e zoonóticas transmitidas por alimentos que possam estar presentes no trato gastrointestinal de animais de produção.

Especificamente, amostras de ceco no matadouro ou de carnes no retalho, juntamente com as amostras dos programas nacionais de controlo da *Salmonella* spp. A estratégia de amostragem epidemiológica é usada para obter amostras representativas e isolar as principais bactérias que estão diretamente associadas às DTA ou que são indicadores ou potenciais reservatórios de genes de RAM (Schwarz et al. 2018). As autoridades nacionais e regionais podem utilizar as diretrizes estabelecidas pelo Código Sanitário para os Animais Terrestres da OIE, como as publicações de “Harmonização dos programas nacionais de vigilância e monitorização de RAM” e “Metodologias de laboratório para testes de suscetibilidade a antimicrobianos bacterianos”, além de outras orientações da OMS referentes aos programas de monitorização de microrganismos resistentes em produtos de origem animal (FAO/WHO 2015; OIE 2019a; OIE 2019b).

A nível europeu, os programas de vigilância estão baseados na Decisão de Execução (UE) nº 2013/652/UE, a qual determina quais as bactérias abrangidas na vigilância, a origem dos isolados nas populações de animais, as categorias de alimentos, a frequência, dimensão e conceção da amostragem, dois painéis de agentes antimicrobianos para os TSA e os critérios interpretativos, como o ECOFFs e as gamas de concentração, seguindo os métodos descritos pelo Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana (EUCAST) e pelo Clinical and Laboratory Standards Institute. A EFSA disponibiliza relatórios atualizados sobre as especificações técnicas que orientam a vigilância e a comunicação de dados de forma harmonizada, bem como a monitorização da resistência antimicrobiana em bactérias indicadoras comensais e zoonóticas em alimentos e em animais de produção.

Desta forma, o PVRAM visa uma vigilância nacional das resistências aos antimicrobianos em bactérias zoonóticas e indicadores comensais em animais de produção e carnes. Elaborado e coordenado pela DGAV, em colaboração com o INIAV na parte laboratorial, o plano prevê o seu funcionamento entre 2014 e 2020, com o objetivo de monitorizar a RAM nos animais de produção e nos seus produtos, identificando as tendências de resistência nas amostras dos animais, nas bactérias e nos antibióticos envolvidos (as especificações do plano estão presentes no anexo I e II). Esta vigilância tem revelado que em PT se registam índices elevados de resistência aos antimicrobianos, enfatizando a necessidade de rever as atuais medidas preventivas e de desenvolver novas estratégias eficazes de combate a esta situação (Decisão de Execução (UE) nº 2013/652/UE).

## PARTE III Análise do Plano de Vigilância das Resistência aos Antimicrobianos

### 1 Materiais e métodos

A abordagem para a colheita de dados foi efetuada com base no Plano de Vigilância das Resistência aos Antimicrobianos (anexo I). No plano constam o seu enquadramento a nível nacional, a base legal na qual está fundamentado, a conceção da amostragem detalhando os anos abrangidos neste plano, bem como as espécies e os microrganismos envolvidos, além de especificar a origem dos isolados.

Neste trabalho foi feito uma análise dos dados do Plano de Vigilância das Resistência aos Antimicrobianos, aplicado pela DGAV, relativo aos anos de 2014 a 2017. Obteve-se a percentagem de ocorrência de resistência aos antibióticos listados no plano, nomeadamente: ácido nalidíxico, ampicilina, azitromicina, cefotaxima, ceftazidima, ciprofloxacina, cloranfenicol, colistina, eritromicina, estreptomicina, gentamicina, meropenem, sulfametoxazol, tetraciclina, tigeciclina e trimetoprim. Foram também selecionados os resultados de isolados de *Escherichia coli* comensal, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, provenientes de amostras de conteúdo cecal ou de carne, de frangos de corte e de suínos de engorda, colhidas em matadouros ou em talhos.

Tabela 3: Número de isolados por ano de vigilância e agente microbiano em amostras de frango

Nº de isolados	Tipo de amostra	Ano de vigilância	
		2014	2016
<i>E. coli</i>	Conteúdo cecal	201	161
<i>Salmonella</i> spp.	Conteúdo cecal	51	51
<i>Campylobacter jejuni</i>	Conteúdo cecal	240	67
<i>Campylobacter coli</i>	Carne	17	11

Tabela 4: Número de isolados por ano de vigilância e agente microbiano em amostras de suíno

Nº de isolados	Tipo de amostra	Ano de vigilância	
		2015	2017
<i>E. coli</i>	Conteúdo cecal	198	142
<i>Salmonella</i> spp.	Carcaça	48	34

## 2 Resultados e Discussão

O PVRAM foi aplicado de 2014 a 2020, no entanto, apesar de durante o estágio ter sido possível contactar com os resultados de 2018 e 2019, os resultados expostos neste trabalho são apenas de 2014 a 2017, pois estes foram os resultados oficialmente publicados. Assim sendo, esta secção tem como intuito demonstrar parte dos resultados do plano; analisar algumas adaptações efetuadas na implementação da vigilância em curso e na categorização dos antimicrobianos monitorizados; demonstrar as especificações das amostras e antimicrobianos monitorizados; enfatizar a importância de acompanhar as vendas dos antimicrobianos relacionados à vigilância; discutir os resultados do PVRAM referentes à ocorrência de resistência aos antimicrobianos nos isolados microbianos de amostras específicas de frango e suíno com as vendas destes antibióticos ao setor animal; realizar uma análise focada na ocorrência de resistência às (fluoro) quinolonas, cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração e polimixinas; comparar a percentagem de resistência em PT e nos outros EM que participam na monitorização e, mais especificamente, comparar parte dos resultados do plano de PT com o Reino Unido (RU); identificar outros pareceres científicos com relevância nos assuntos abordados neste trabalho; rever as orientações de uso de antimicrobianos em animais de produção e, por fim, indicar possíveis estratégias de combate a RAM e perspectivas futuras.

Tendo em conta a progressão da monitorização harmonizada, foi possível acompanhar o modo de aplicação dos planos nacionais, analisar os respetivos resultados e perceber certos desafios dos EM participantes. A Decisão de Execução (UE) n<sup>o</sup> 2013/652/UE da comissão, relativa à vigilância e comunicação de dados relativos da resistência antimicrobiana em bactérias zoonóticas e comensais, foi revogada pela Decisão de Execução (UE) n<sup>o</sup> 2020/1729 da Comissão, em 17 de novembro de 2020, com o objetivo de assegurar um melhoramento dos sistemas de vigilância nacionais no que respeita ao fornecimento de dados comparáveis sobre a ocorrência de RAM em agentes zoonóticos. Dos pontos modificados constam as bactérias obrigatoriamente abrangidas. As bactérias indicadoras comensais *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* passaram a ser de monitorização voluntária. Os EM devem continuar a comunicar anualmente os resultados à UE e, ainda, incluir uma avaliação sobre as tendências e origens das zoonoses, dos agentes zoonóticos e da resistência antimicrobiana. Também foram divulgadas novas especificações técnicas contendo novas adaptações, principalmente relacionadas com populações de animais destinados à produção de alimentos, as categorias de alimentos a amostrar, a conceção da amostragem, as espécies bacterianas a testar para deteção da RAM e os métodos analíticos a utilizar pelos laboratórios de referências. Estas alterações incluem também a necessidade dos EM utilizarem uma nova

técnica de sequenciação completa do genoma, que embora ainda não seja de carácter obrigatório, a sua utilização é muito incentivada atualmente. Enfatiza também a importância de incluir a vigilância nos postos de controlo fronteiriço dos produtos alimentares importados para a UE. Estas, entre outras novas orientações, passaram a ser aplicadas a partir de 1 de janeiro de 2021 (Decisão de Execução (UE) nº 2020/1729).

Outra situação relevante é que após estes anos de monitorização, houve uma recategorização dos antimicrobianos usados na saúde animal e de importância para a saúde humana. A categorização dos antimicrobianos do primeiro relatório da AMEG, considerava apenas as classes de antibióticos que atendiam ao critério 1 da OMS. No entanto, com base numa avaliação científica realizada pela AMEG entre 2018 e 2019 e aplicada pelo Comité de Medicamentos Veterinários (CVMP) e pelo Comité de Medicamentos Humanos (CHMP), foi elaborada uma nova categorização de antibióticos usados em animais. Enquanto a anterior categorização era baseada em três critérios, a atual leva em consideração quatro critérios principais: (i) a importância da classe antimicrobiana para a medicina humana de acordo com a classificação da OMS; (ii) a probabilidade de transferência de resistência; (iii) se a classe foi autorizada para utilização num medicamento veterinário na UE; e (iv) a disponibilidade de antibióticos alternativos em medicina veterinária com menor risco de RAM para a saúde pública e animal. Com base nisso e nos estudos de monitorização de aminopenicilinas e aminoglicosídeos, a nova categorização estabelece quatro categorias, apresentadas na ordem do maior para o menor risco para a saúde humana, identificadas de A à D. A categoria A (evitar) inclui as classes de antibióticos não autorizados na saúde animal, mas autorizadas na saúde humana na UE. A categoria B (restringir), inclui os HP-CIA da OMS – as (fluoro) quinolonas, cefalosporinas de 3ª, 4ª e 5ª geração e polimixinas, com exceção dos macrólidos e outras classes não autorizadas na saúde animal na UE. A categoria C (cautela), inclui os macrólidos e antibióticos indicados para tratamento tanto na saúde humana como animal e, por fim, a categoria D (prudência) inclui antibióticos que a utilização em animais não predispõe para a resistência aos antibióticos incluídos na categoria A e que existem tratamentos alternativos na medicina humana e veterinária (EMA/CVMP/CHMP 2019).

Relativamente aos tipos de amostras e microrganismos selecionados, a EFSA, ECDC e EMA apresentam diversos artigos nos quais demonstram como ocorre a seleção de indicadores para a vigilância da resistência aos antimicrobianos e do consumo de antimicrobianos em humanos e animais produtores de alimentos (ECDC/EFSA/EMA 2017a). No documento de especificações de amostragem em que se baseia a monitorização obrigatória de *Salmonella* spp., *C. jejuni* e indicador *E. coli* nas principais populações de animais de produção de alimentos, consta o tipo de amostra associadas a cada agente microbiano. Designadamente, os isolados provenientes do indicador *E. coli* e *Campylobacter* spp são por amostragem aleatória representativa de animais saudáveis no matadouro e os

isolados de *Salmonella* spp. são amostrados como parte dos critérios de higiene do processo ou originados de planos nacionais de controlo (EFSA 2019). Portanto, a lista atual é, essencialmente, reflexo dos resultados harmonizados da precedente vigilância do consumo e da ocorrência de resistência aos antimicrobianos. De entre os microrganismos é possível destacar a *E. coli* como representando um entrave ao PIB, sendo responsável por quase metade do impacto económico em estudos anteriores (O'Neill 2014). Outro fator de importância para a monitorização da *E. coli* é a sua ampla distribuição e a capacidade conjugativa em animais e humanos, tornando-a uma propagadora crucial do gene *mcr* (Luo et al. 2020). Um agente microbiano também monitorizado relativamente à ocorrência de resistência é o MRSA.

Relativamente aos antimicrobianos contemplados na vigilância animal é importante incluir aqueles de maior uso nos animais e aqueles de maior importância na saúde humana. No guia sobre o uso de antimicrobianos em animais de 2008, são destacadas as tetraciclinas e macrólidos como as classes de maior uso nos suínos, seguidas pelas penicilinas, combinações de trimetoprim-sulfonamidas e aminoglicosídeos. Este guia já apontava a importância de limitar o uso de antimicrobianos essenciais na medicina humana, como as fluoroquinolonas e as cefalosporinas. De modo geral, as diretrizes para terapia antimicrobiana de infeções comuns em suínos incluíam, como primeira escolha, o trimetoprim, a colistina e penicilina, como segunda escolha, a tetraciclina e ampicilina, e, em último recurso, os macrólidos, cefalosporinas e fluoroquinolonas. Mais especificamente, para o tratamento de *Salmonella* spp. em suínos, os antimicrobianos de eleição incluíam a ampicilina, sulfametazol e tetraciclina. E para o tratamento da *E. coli*, os antimicrobianos de eleição incluíam a penicilina, tetraciclina, gentamicina, eritromicina, enrofloxacina, trimetoprim/sulfonamida, amoxicilina, colistina, sulfametazol e tetraciclina. Relativamente às principais classes de antimicrobianos usados para tratamento de doenças bacterianas comuns na medicina aviária incluiu, como primeira escolha, a sulfonamidas (trimetoprim) e aminopenicilinas, como segunda escolha, as polimixinas (colistina), tetraciclinas, aminoglicosídeos (gentamicina) e macrólidos (eritromicina), e como último recurso, as fluoroquinolonas (enrofloxacina) e cefalosporinas (Guardabassi et al. 2008).

A monitorização das vendas e consumo de antibióticos na saúde humana e animal está fortemente correlacionada com a ocorrência de RAM nos humanos e animais. O relatório integrado da ECDC, EFSA e EMA (2017b), demonstra o quanto, na maioria dos casos, o consumo está associado com a RAM em animais e humanos. Portanto, no espírito da abordagem do prado ao prato, para uma análise mais precisa de onde está de fato a ocorrer a resistência, três perspetivas devem ser analisadas em conjunto: i) o consumo do antimicrobiano nos animais de produção com a ocorrência de resistência nos mesmos animais; ii) o consumo do antimicrobiano nos animais de produção com a ocorrência de

resistência em humanos; iii) a ocorrência de resistência nos animais com a ocorrência de resistência nos humanos.

Ainda na perspectiva de comparar os dados, no relatório de 2014 da EMA com o relatório integrado da ECDC, EFSA e EMA, revela-se a similaridade das quantidades dos antimicrobianos vendidos com os consumidos, em toneladas de substância ativa de antimicrobianos, demonstrando que tanto a venda quanto o consumo em PT foram de 190 toneladas, o equivalente à 201,6 mg/kg. Com base nos relatórios anuais da EMA sobre as vendas de agentes antimicrobianos veterinários, para os animais de produção, seguindo os anos reportados neste trabalho, PT apresentou uma variação nos resultados das vendas por classes de antimicrobianos:

- 2014 – 201,6 mg/PCU, sendo a média 62,1 mg/PCU e esteve classificado em quarta posição das maiores vendas, ficando atrás do Chipre, Espanha e Itália (EMA/ESVAC 2016);
- 2015 – 134,4 mg/PCU, sendo a média 56,7 mg/PCU e esteve classificado em sexta posição das maiores vendas, ficando atrás do Chipre, Espanha, Itália, Hungria, Bélgica e Polónia (EMA/ESVAC 2017).
- 2016 – 208,0 mg/PCU, sendo a média 124,6 mg/PCU e esteve classificado em quarta posição das maiores vendas, ficando atrás do Chipre, Espanha e Itália (EMA/ESVAC 2018).
- 2017 – 134,8 mg/PCU, sendo a média 107,0 mg/PCU e esteve classificado em quinta posição das maiores vendas, ficando atrás do Chipre, Itália, Espanha, Hungria e Polónia (EMA/ESVAC 2019).

Se analisarmos os 4 anos seguidos, apesar de PT mostrar-se sempre acima da média do total do EM incluídos na monitorização, os resultados demonstram uma queda do percentual de vendas. No entanto, ao comparar os anos pares separados dos anos ímpares, observa-se um fator de valores aproximados, mas aumentados. Ou seja, ao comparar o ano de 2014 com o de 2016, observa-se um moderado aumento das vendas em PT e o dobro do aumento relativamente às médias. Tal também acontece se compararmos o ano de 2015 com o de 2017, pois observa-se um leve aumento das vendas em PT e novamente o dobro do aumento relativamente às médias. Se continuarmos a análise temporal com o ano seguinte, em que o relatório de 2018 poderia contrariar a queda da análise temporal com os resultados de 2017, revelando um aumento da percentagem de vendas com 186,6 mg/PCU, sendo a média 103,2 mg/PCU. No entanto, se a análise se mantiver nos anos pares, comparando com 2016, este resultado já demonstra uma queda tanto em PT quanto nas médias dos EM (EMA/ESVAC 2020). No entanto, assim como referido por Marinho et al. (2016), embora PT tenha diminuído a venda de antibióticos, os consumos ainda são elevados.

No que diz respeito aos resultados de ocorrência de resistência extraídos do plano, na Tabela 5, verifica-se um leve a moderado aumento da maioria dos antibióticos testados em isolados indicadores de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de frango.

**Tabela 5: Ocorrência de resistência em isolados indicadores de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de frango**

	2014	2016	Progressão
<b>Ácido Nalidíxico</b>	88,6%	90,7%	↑
<b>Ampicilina</b>	75,6%	80,1%	↑
<b>Azitromicina</b>	4,0%	8,7%	↑
<b>Cefotaxima</b>	5,5%	6,2%	↑
<b>Ceftazidima</b>	5,5%	5,6%	↑
<b>Cloranfenicol</b>	33,8%	23,0%	↓
<b>Ciprofloxacina</b>	90,5%	94,4%	↑
<b>Colistina</b>	2,5%	5,6%	↑
<b>Gentamicina</b>	10,0%	14,9%	↑
<b>Meropenem</b>	0,0%	0,0%	=
<b>Sulfametoxazol</b>	69,2%	64,6%	↓
<b>Tetraciclina</b>	66,2%	71,4%	↑
<b>Tigeciclina</b>	0,0%	0,0%	=
<b>Trimetoprim</b>	54,2%	56,5%	↑

Ao comparar estes resultados com as vendas no setor animal, percebe-se que entre os anos de 2014 e 2016 houve um aumento, tanto na ocorrência de resistência como na venda de tetraciclina, penicilina, cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração e de gentamicina. Relativamente aos macrólidos, fluoroquinolonas, quinolonas e polimixinas, observa-se uma diminuição das vendas no setor animal, mas verifica-se um aumento da ocorrência de resistência a estes antibióticos na *E. coli* comensal dos frangos. De entre estes, destaca-se a colistina e a azitromicina, as quais tiveram um aumento superior ao dobro da ocorrência anterior. Embora faltem dados para fundamentar, provavelmente este aumento ocorreu devido ao aumento da exposição dos frangos a estes antibióticos, seja pelo consumo ou por uma resistência cruzada.

Na Tabela 6 verifica-se, de modo geral, que houve mais diminuição de ocorrência de resistência aos antibióticos testados do que aumentos em isolados indicadores de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de suíno.

**Tabela 6: Ocorrência de resistência em isolados indicadores de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de suíno**

	2015	2017	Progressão
Ácido Nalidíxico	9,1%	12,0%	↑
Ampicilina	74,7%	59,9%	↓
Azitromicina	14,6%	16,2%	↑
Cefotaxima	5,1%	3,5%	↓
Ceftazidima	5,1%	3,5%	↓
Ciprofloxacina	20,7%	21,1%	↑
Cloranfenicol	52,0%	44,4%	↓
Colistina	2,5%	2,1%	↓
Gentamicina	2,0%	2,8%	↑
Meropenem	0,0%	0,0%	=
Sulfametoxazol	76,8%	68,3%	↓
Tetraciclina	89,4%	89,4%	=
Tigeciclina	0,0%	0,0%	=
Trimetoprim	68,7%	56,3%	↓

Ao analisarmos as vendas nestes anos, observa-se que do mesmo modo que diminuiu as vendas aos anfenicóis e às polimixinas, a resistência ao cloranfenicol e à colistina também diminuiu. Em compensação, assim como aumentaram as vendas de macrólidos e fluoroquinolonas, também aumentaram as ocorrências de resistência à azitromicina e ciprofloxacina, antibióticos não incluídos na lista de vendas, mas pertencentes a estas respetivas classes. Além disso, há dois fatores a realçar ao analisar os dados em conjunto. Apesar de o aumento de vendas de penicilina, cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, sulfonamidas e trimetoprim no setor animal, a percentagem de resistência em *E. coli* comensal nos suínos diminuiu para os antibióticos pertencentes a estas classes. Se este valor de vendas fosse corrigido por espécie, tal poderia ser justificado devido à diminuição de vendas destes antibióticos nos suínos, e, conseqüentemente, provavelmente haveria menos ocorrência de resistência. O outro fator a destacar pela análise destes dados é o da diminuição das vendas de tetraciclina, quinolonas e aminoglicosídeos e do aumento da ocorrência de resistência aos antibióticos pertencentes a estas classes, o que poderá justificar uma real resistência aos antimicrobianos.

Ao comparar os resultados de *E. coli* comensal e *Salmonella* spp. em frango, percebe-se que a percentagem de resistência nas *E. coli* é muito maior do que nas salmonelas. Tal pode ser justificado pelo facto de o controlo da *Salmonella* ter sido um assunto de prioridade

na UE desde 2003. O Regulamento (CE) nº 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho, demonstra esta preocupação no controlo de salmonelas e outros agentes zoonóticos específicos de origem alimentar. Em particular nas aves, o Regulamento (CE) nº 1177/2006 da Comissão Europeia, fornece a base dos programas nacionais de controlo de salmonelas nas aves de capoeira. Este regulamento, enfatiza a preocupação com o uso de medicamentos veterinários na produção destes animais, a fim de proteger a saúde pública contra as possíveis resistências aos antimicrobianos.

Na Tabela 7, é possível analisar o progresso que PT tem tido no programa nacional de controlo às salmonelas, o qual refletiu também com menores percentagens de resistência aos antimicrobianos

**Tabela 7: Ocorrência de resistência em isolados de *Samonella* spp. em amostras de conteúdo cecal de frango**

	2014	2016	Progressão
<b>Ácido Nalidíxico</b>	31,4%	5,9%	↓
<b>Ampicilina</b>	15,7%	23,5%	↑
<b>Azitromicina</b>	2,0%	5,9%	↑
<b>Cefotaxima</b>	2,0%	2,0%	=
<b>Ceftazidima</b>	2,0%	2,0%	=
<b>Cloranfenicol</b>	3,9%	3,9%	=
<b>Ciprofloxacina</b>	51,0%	21,6%	↓
<b>Colistina</b>	5,9%	2,0%	↓
<b>Gentamicina</b>	3,9%	7,8%	↑
<b>Meropenem</b>	0,0%	0,0%	=
<b>Sulfametoxazol</b>	11,8%	17,6%	↑
<b>Tetraciclina</b>	9,8%	19,6%	↑
<b>Tigeciclina</b>	0,0%	0,0%	=
<b>Trimetoprim</b>	7,8%	5,9%	↓

A maioria dos resultados estão abaixo dos 25% de ocorrência de resistência, o que demonstra uma boa progressão da aplicação do programa em curso. Dentre os antibióticos com maior percentagem de resistência em 2014 destaca-se o ácido nalidixíco e a ciprofloxacina. Apesar destes antibióticos não estarem incluídos na lista das vendas, pertencem às classes das (fluoro) quinolonas, as quais estão incluídas na Categoria B da nova categorização da EMA, ou seja, é permitido o uso em animais com restrição. Esta classe diminuiu acentuadamente a percentagem de resistência na monitorização de 2016,

respetivamente de 31,4% para 5,9% e de 51,0% para 21,6%. Em compensação, houve outros antibióticos que aumentaram a sua percentagem de resistência, provavelmente pelo aumento do uso nos frangos, como é o caso da ampicilina, gentamicina, sulfametazol e tetraciclina. Destaca-se ainda na vigilância destes anos, o aumento do resultado da azitromicina superior ao dobro, outro antibiótico não incluído na lista das vendas para animais da EMA, mas considerado um HP-CIA pela OMS.

Na Tabela 8, com exceção da gentamicina que aumentou a ocorrência de resistência de 0% para 2,9%, provavelmente pelo uso alternativo nos suínos, todos os demais antibióticos diminuíram a sua percentagem de resistência entre 2015 e 2017.

**Tabela 8: Ocorrência de resistência em isolados de *Salmonella* spp. em amostras de carcaças de suíno**

	2015	2017	Progressão
<b>Ácido Nalidíxico</b>	4,2%	0,0%	↓
<b>Ampicilina</b>	52,1%	32,4%	↓
<b>Azitromicina</b>	37,5%	11,8%	↓
<b>Cefotaxima</b>	4,2%	2,9%	↓
<b>Ceftazidima</b>	4,2%	2,9%	↓
<b>Ciprofloxacina</b>	8,3%	2,9%	↓
<b>Cloranfenicol</b>	20,8%	20,6%	↓
<b>Colistina</b>	6,3%	0,0%	↓
<b>Gentamicina</b>	0,0%	2,9%	↑
<b>Meropenem</b>	0,0%	0,0%	=
<b>Sulfametoxazol</b>	70,8%	35,3%	↓
<b>Tetraciclina</b>	83,3%	47,1%	↓
<b>Tigeciclina</b>	20,8%	2,9%	↓
<b>Trimetoprim</b>	50,0%	20,6%	↓

Em 2018, Raposo relatou o uso de ampicilina, sulfametoxazol e tetraciclina para tratamento de infeções por *Salmonella*, e demonstra que os níveis mais elevados de resistência em suínos de engorda ocorreram nestes antibióticos e ao cloranfenicol. De facto, os resultados do PVRAM comprovam esta afirmação. Os níveis mais elevados de resistência em 2017 foram nestes mesmos antibióticos e no trimetoprim. No entanto, comparativamente a 2015, com exceção do cloranfenicol que apresentou valores similares entre os anos, os demais antibióticos diminuíram entre 35% a 60% a ocorrência de resistência. Outro ponto a destacar nesta tabela é o cuidado do uso das HP-CIA nos suínos entre estes anos, refletido

na diminuição da ocorrência de resistência, 65% a 100% nos antibióticos pertencentes a estas classes de antimicrobianos.

Ainda na Tabela 8, o resultado que mais se destaca é o obtido para tigeciclina que foi de 20,8% em 2015. O relatório de 2013 da AMEG refere que os mecanismos de resistência à Tetraciclina frequentemente causam MIC levemente elevados à tigeciclina, tendo concluído que a diminuição do uso de tetraciclinas e fluoroquinolonas em animais pode ajudar a diminuir a transmissão da resistência à tigeciclina nos humanos (EMA 2013b). Na vigilância de 2017, o resultado da tigeciclina diminuiu acentuadamente para 2,9%.

O resultado de meropenem a 0% em todas as testagens explícitas em PT entre 2014 e 2017 é um ótimo indicador de percepção da existência de resistência cruzada. Por este antibiótico pertencer à classe dos carbapenêmicos, um beta-lactâmico indicado no tratamento de bactérias que transportam beta-lactamases, estudos relatam a possibilidade de resistência induzida pelo uso de outras classes de antibióticos beta-lactâmicos, como as cefalosporinas e as penicilinas (Jacoby 2009). Atualmente, este antibiótico está categorizado pela EMA como categoria A e de uso restrito à saúde humana (EMA/CVMP/CHMP 2019).

Na Tabela 9, verifica-se que a maioria dos resultados se mantiveram similares ou com uma leve diminuição da percentagem de ocorrência de resistência nos isolados de *Campylobacter jejuni* entre 2014 e 2016.

**Tabela 9: Ocorrência de resistência em isolados de *Campylobacter jejuni* em amostras de conteúdo cecal de frango.**

	2014	2016	Progressão
<b>Ácido Nalidíxico</b>	96,3%	88,1%	↓
<b>Ciprofloxacina</b>	95,4%	95,5%	↑
<b>Eritromicina</b>	11,7%	10,4%	↓
<b>Estreptomicina</b>	1,7%	1,5%	↓
<b>Gentamicina</b>	0,0%	0,0%	=
<b>Tetraciclina</b>	84,6%	82,1%	↓

A alta percentagem da tetraciclina possivelmente está relacionada com o seu uso no tratamento de frangos. As percentagens de ciprofloxacina e eritromicina, apesar de serem antibióticos caracterizados pela OMS como HP-CIA (WHO 2018), podem estar relacionadas com a sua utilização sob restrição e cautela nos animais. Destaca-se a percentagem elevada do ácido nalidíxico, provavelmente relacionada com uma resistência cruzada a antibióticos de mesma classe ou com os mesmos mecanismos de resistência. A resistência do *Campylobacter* às fluoroquinolonas é frequentemente referida em estudos científicos.

Exemplo disso é o estudo de Frasso et al. (2015), o qual confere um alto nível de resistência, evidenciado pelo CIM, e identifica diversas estirpes de *Campylobacter* resistentes às fluoroquinolonas em frangos de criação orgânica. Outra informação relevante neste estudo, é o envolvimento de outros mecanismos de resistência nos mesmos isolados de *Campylobacter*, nos quais estirpes sensíveis à enrofloxacinina se tornaram resistentes a esse antimicrobiano.

Na Tabela 10, verificam-se níveis de resistência a 100% para o ácido nalidixico e ciprofloxacina de forma persistente (2014 e 2016), no entanto, devido à amostra reduzida a nível nacional (n=17 e n=11), este valor pode não representar a ocorrência real de resistência, visto também não estar claro se este resultado é de uma inspeção veterinária sobre um determinado lote animal ou de uma amostra estratificada durante todo o período analisado.

**Tabela 10: Ocorrência de resistência em isolados de *Campylobacter coli* em amostras de carne de frango.**

	2014	2016	Progressão
<b>Ácido Nalidíxico</b>	100,0%	100,0%	=
<b>Ciprofloxacina</b>	100,0%	100,0%	=
<b>Eritromicina</b>	41,2%	45,5%	↑
<b>Estreptomicina</b>	5,9%	0,0%	↓
<b>Gentamicina</b>	0,0%	0,0%	=
<b>Tetraciclina</b>	88,2%	90,9%	↑

Um resultado a realçar é o da eritromicina que apresentou uma percentagem acima dos 40%. Este é um antibiótico pertencente à classe dos macrólidos, de categoria C da AMEG e caracterizado pela OMS como um HP-CIA. O seu resultado deve ser tido em consideração se tivermos em conta que os macrólidos foram muito utilizados no tratamento de doenças comuns em animais de produção. Atualmente, a eritromicina está categorizada como VCIA na lista de antimicrobianos de importância veterinária da OIE, ou seja, medicamentos de extrema importância na saúde animal (OIE 2018). No entanto, na saúde humana os macrólidos (eritromicina, azitromicina) são considerados os medicamentos de escolha para o tratamento de infeções complicadas por *Campylobacter* em humanos e em pacientes de risco (EMEA/CVMP/SAGAM 2007).

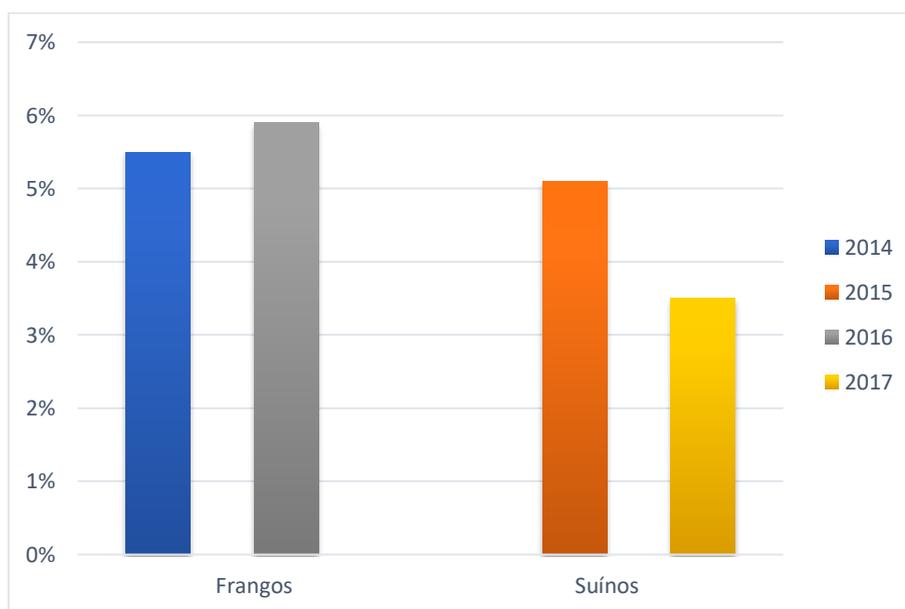
De modo geral, em suínos e frangos a ocorrência de resistência à gentamicina apresentou valores baixos ou inexistentes. Já a ocorrência de resistência a ampicilina, cloranfenicol, sulfametoxazol, tetraciclina e trimetoprim demonstraram-se maioritariamente elevados, alguns possivelmente por serem antimicrobianos de grande exposição na produção

animal. Nos relatórios da EMA estas classes de antimicrobianos apresentam os valores mais elevados de venda em PT, nomeadamente as tetraciclina, penicilinas (ampicilina), macrólidos (azitromicina) e os sulfonamidas (sulfametazol, trimetoprim). Na comparação dos valores de uso dos principais antimicrobianos na produção de frangos e de suínos, os valores de maior utilização coincidem com os valores de maior ocorrência de resistência. No entanto, verifica-se a existência de classes que não apresentam elevados valores de venda, mas apresentaram valores elevados de ocorrência de resistência, o que merece muita atenção durante a monitorização, nomeadamente no que respeita aos anfenicóis.

Ao analisar apenas os resultados dos antibióticos incluídos nas classes dos HP-CIA da OMS e na lista da AMEG como uso restrito nos animais, verifica-se que foi notável a ocorrência de resistência em isolados indicadores de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de frangos e suínos em PT.

No Gráfico 1, verifica-se que a percentagem de resistência da *E. coli* comensal às cefalosporinas de 3ª, 4ª e 5ª geração (cefotaxime e ceftazidime), tanto nos frangos como nos suínos, se mantiveram sob valores baixos. Nos frangos, observa-se um leve aumento entre 2014 e 2016, já nos suínos, houve uma leve diminuição entre 2015 e 2017. Apesar da baixa percentagem, é, sem dúvida, um valor a ter em consideração.

**Gráfico 1: Variação percentual de ocorrência de resistência à cefotaxime e ceftazidime em isolados indicadores de *E. coli* de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno**



Niero et al. (2018) demonstram que mesmo com uma baixa percentagem de prevalência de resistência é possível haver uma diversidade de genes de resistência em cefalosporinas de terceira geração em *E. coli* nos frangos. Apesar de os dados terem sido

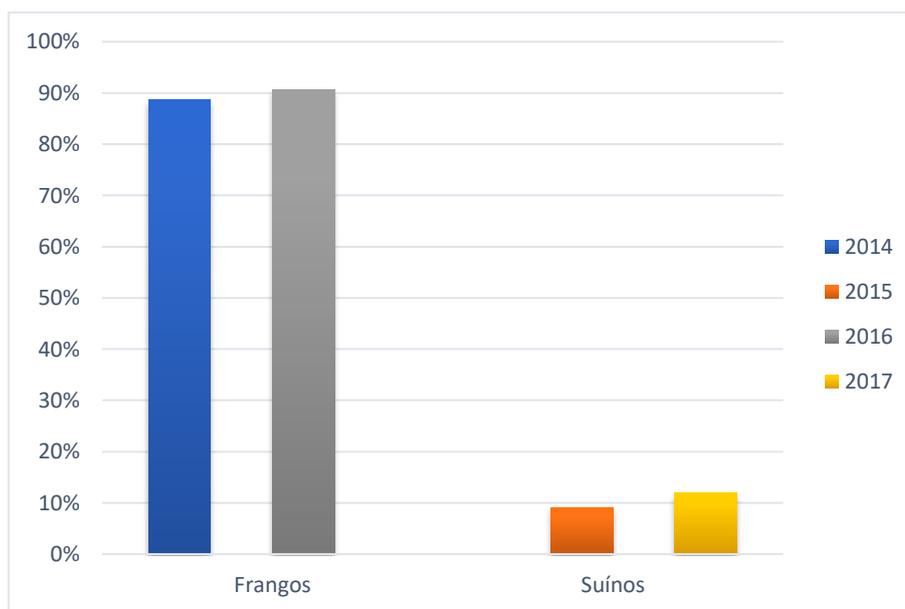
recolhidos antes da descontinuação do uso de cefalosporinas de terceira geração na produção de frangos, o estudo demonstra a co-resistência da *E. coli* a diversos antimicrobianos, sendo a grande parte dos isolados resistente à maioria dos antimicrobianos utilizados no tratamento da colibacilose em aves. O estudo de Koga et al. (2019) também demonstra a diversidade de genes ligados aos beta-lactâmicos (*bla*). Este estudo ainda correlaciona os isolados de *E. coli*, contendo estes genes, tanto em humanos como em animais de produção, sobretudo nos frangos.

Estas afirmações da co-resistência estão em linha com a revisão da CVMP, a qual faz referência à possibilidade de resistência às cefalosporinas mesmo em sistemas de produção avícola em que nenhuma cefalosporina está autorizada para uso. Uma das justificações é que as bactérias comensais, tais como a *E. coli* e a *Salmonella*, podem ser portadoras de genes de resistência que codificam enzimas do tipo ESBL ou AmpC. Como já referido na revisão bibliográfica, estes genes podem ser transportados por elementos genéticos móveis. Assim, observa-se que nas cefalosporinas o surgimento de resistência mediada por genes está frequentemente associado à resistência a outros agentes antimicrobianos. Consequência disso é o aumento da prevalência de multirresistência e a diminuição do número de alternativas eficazes de tratamento (CVMP 2009).

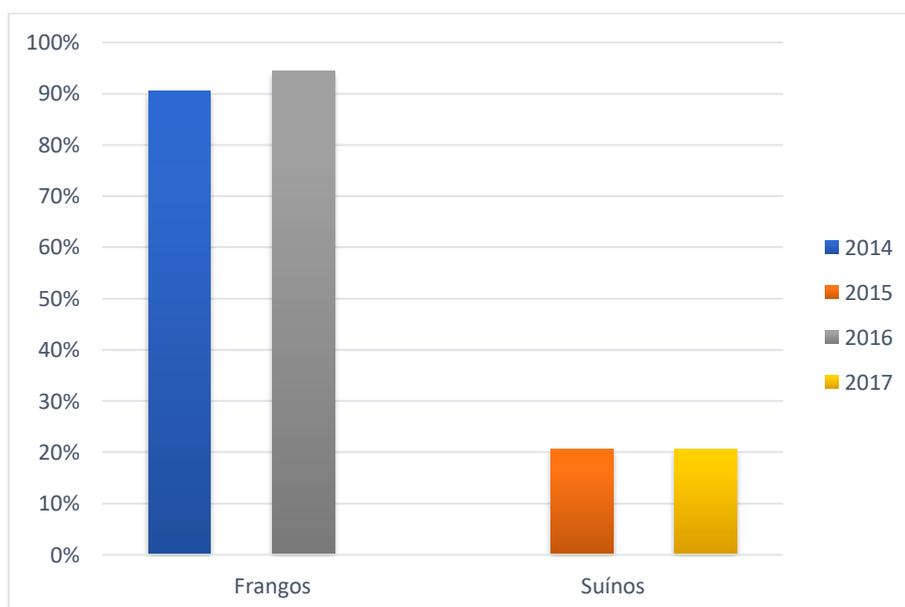
Outro estudo dedicado às co-resistências nas cefalosporinas é o de Mulvey et al. (2009). Este estudo conclui que os isolados de *E. coli* resistentes à cefoxitina foram também resistentes a outros antimicrobianos da classe beta-lactâmicos, possivelmente por uma exposição anterior a estes antimicrobianos. Uma preocupação existente é que apenas um único evento de transferência pode resultar em estirpes resistentes a muitos outros antimicrobianos usados para tratar infecções em humanos e animais, como por exemplo os beta-lactâmicos, sulfonamidas, tetraciclinas e cloranfenicol.

Nos Gráfico 2 e Gráfico 3, verifica-se que a percentagem de ocorrência de resistência na *E. coli* comensal às fluoroquinolonas foi relativamente moderada nos suínos e elevada nos frangos. Apesar de a ciprofloxacina ainda ser utilizada na produção animal, com estes resultados de resistência contínua, o uso tem sido cada vez mais limitado. A preocupação não está apenas relacionada com o consumo e com a consequente resistência ao próprio antibiótico, está também relacionada com o consumo associado à resistência a outros antimicrobianos da mesma classe ou antimicrobianos com os mesmos mecanismos de resistência. Isso é possível observar no estudo de Dias (2009) sobre os mecanismos de resistência aos antibióticos beta-lactâmicos. O estudo demonstra que 104 isolados no total de 126 apresentaram resistência a três ou mais classes de antibióticos. Nestes, os dois perfis de multirresistência predominantes incluíam a resistência aos aminoglicosídeos (gentamicina), quinolonas (ácido nalidíxico; ciprofloxacina) e inibidores de dihidrofolato redutase (trimetoprim; sulfametoxazol).

**Gráfico 2: Variação percentual de ocorrência de resistência ao ácido nalidíxico em isolados indicadores de *E. coli* de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno**



**Gráfico 3: Variação percentual de ocorrência de resistência à ciprofloxacina em isolados indicadores de *E. coli* de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno**

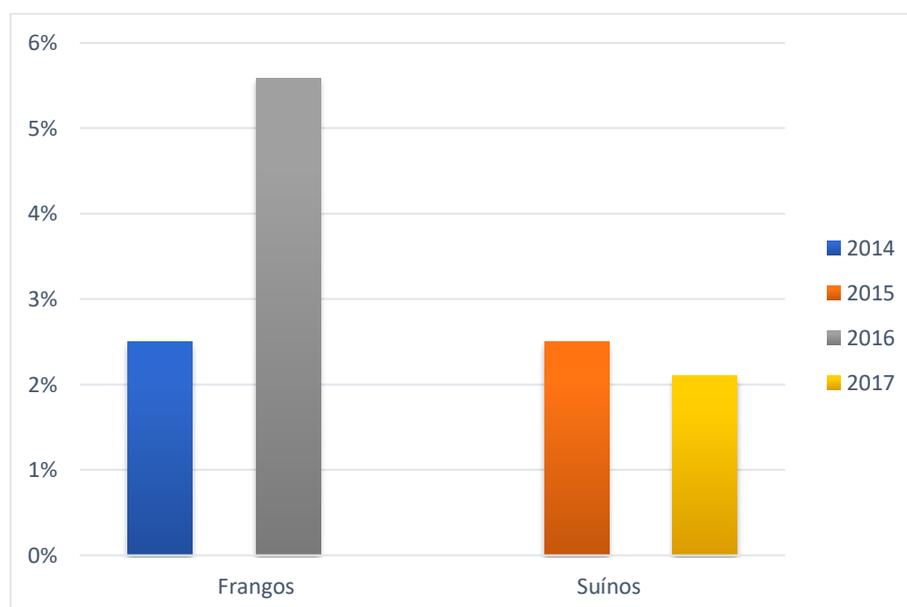


O Comitê Permanente de Medicamentos Veterinários também refere alguma preocupação com as (fluoro) quinolonas, pelo facto de estes antimicrobianos serem de grande importância para a saúde humana e de serem antimicrobianos críticos e eficientes na saúde animal, sendo muitas vezes a única alternativa disponível em situações específicas e doenças graves. Se estas classes perderem a sua eficácia ou deixarem de estar disponíveis para o tratamento de doenças animais, a terapia antimicrobiana de algumas doenças será

complicada e pode resultar em problemas de bem-estar animal e problemas de saúde pública, além de perdas económicas (EMEA/CVMP/SAGAM 2007).

No Gráfico 4, verifica-se a ocorrência de resistência à colistina nos frangos com uma percentagem de ocorrência de resistência inferior aos 10%, no entanto, destaca-se destes resultados o aumento superior ao dobro entre 2014 e 2016. Nos suínos os resultados mantiveram-se entre os 2% a 3%. Apesar da baixa percentagem, para efeitos de redução do risco de resistência, a AMEG considera que se deve diminuir as vendas de colistina e optar pelo seu uso como segunda linha de tratamento nos animais. Neste sentido, reclassificou a colistina na Categoria 2 do sistema de classificação AMEG, que inclui medicamentos reservados para o tratamento de infeções em animais para os quais não existem tratamentos alternativos eficazes (EMA 2016a).

**Gráfico 4: Variação percentual de ocorrência de resistência à colistina em isolados indicadores de *E. coli* de amostras de conteúdo cecal de frango e suíno**



A monitorização da resistência tem permitido que as várias instituições responsáveis nos EM analisem a progressão e adaptem a implementação. Os pareceres da EMA de 2013 e 2016 sobre o uso de colistina nos animais, o desenvolvimento de resistência e o possível impacto na saúde humana e animal, podem comprovar a contribuição dos planos de monitorização para o conhecimento e tomada de decisões. Nas conclusões de 2013, já era do conhecimento geral que a colistina é um antibiótico de importância terapêutica em medicina veterinária, especialmente para o tratamento de doenças entéricas. Inclusivamente, foi considerado o quinto antimicrobiano mais usado na produção animal em 19 países europeus. Na altura, não existiam evidências da propagação da resistência à colistina dos animais para

humanos ou vice-versa. Até então, também não tinha sido relatada a transferência de resistência através de elementos genéticos móveis entre animais e humanos (EMA 2013a). Estas situações foram confirmadas após a identificação de bactérias contendo o gene de resistência antimicrobiana mediado pelo uso de colistina (*mcr-1*), bem como foi confirmado o modo de disseminação da resistência através da transmissão de genes cromossômicos (transmissão vertical) ou elementos genéticos móveis, sobretudo os plasmídeos (transmissão horizontal), tendo sido possível correlacionar a RAM entre animais, alimentos, humanos e meio ambiente (EMA 2013b).

O artigo de Liu et al. (2016) reforça a correlação da RAM entre animais e humanos. Este estudo demonstra uma alta prevalência do gene *mcr-1* em isolados de *E. coli* de animais em contraste com a proporção baixa de isolados positivos para *mcr-1* nos humanos. Esta diferença de proporção conduz à hipótese de que a resistência à colistina tenha sido originada em animais e, posteriormente, difundida para os humanos (Liu et al. 2016). O estudo de Luo et al. (2020) também destaca a *E. coli* como a espécie mais prevalente entre os isolados positivos para *mcr*, tanto em isolados de animais como em isolados humanos. Uma preocupação de Grami (2016), é que os genes que fornecem resistência a cefalosporinas de largo espectro (*bla* CTX-M-1) e colistina (*mcr-1*) demonstraram estar intimamente ligados aos mesmos plasmídeos.

O uso de polimixinas e (fluoro) quinolonas já foi mais frequente nos animais, e possivelmente este foi um dos fatores que influenciaram estes resultados de resistência. Com base nos resultados da vigilância da resistência aos antimicrobianos, as instituições internacionais têm recomendado novas medidas de controlo. A OMS, em 2017, publicou orientações para o uso de antimicrobianos medicamente importantes em animais de produção (WHO 2017). Em 2019, a AMEG também preconizou restringir o uso destes antibióticos na produção animal ao categorizar as cefalosporinas de terceira e quarta geração, as polimixinas e as fluoroquinolonas como Categoria B, ou seja, antibióticos de uso restrito na saúde animal (EMA/CVMP/CHMP 2019).

Relativamente aos dados de vendas de CIA em PT, referentes aos anos analisados neste trabalho, observa-se uma diminuição das vendas das polimixinas e das fluoroquinolonas. No entanto, as cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração apresentaram um aumento no ano de 2017:

- 2014 – 0,4 mg/PCU de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração de cefalosporinas; 11,3 mg/PCU de fluoroquinolonas; e 17,5 mg/PCU de polimixinas (EMA/ESVAC 2016);
- 2015 – 0,4 mg/PCU de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração de cefalosporinas; 7,9 mg/PCU de fluoroquinolonas; e 12,1 mg/PCU de polimixinas (EMA/ESVAC 2017);
- 2016 – 0,1 mg/PCU de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração de cefalosporinas; 8,9 mg/PCU de fluoroquinolonas; e 13,5 mg/PCU de polimixinas (EMA/ESVAC 2018);

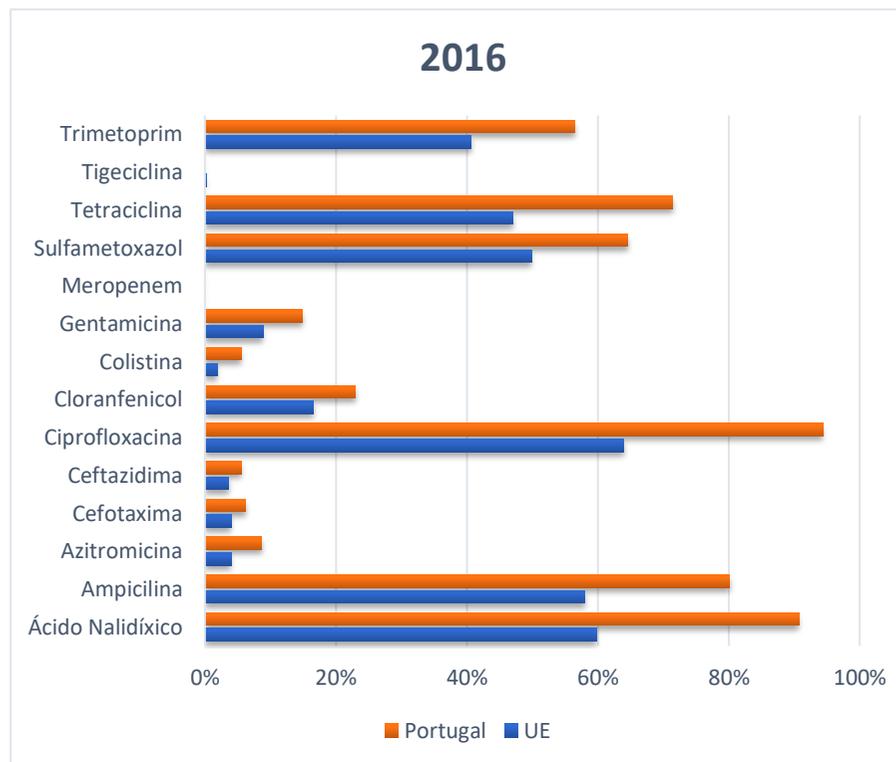
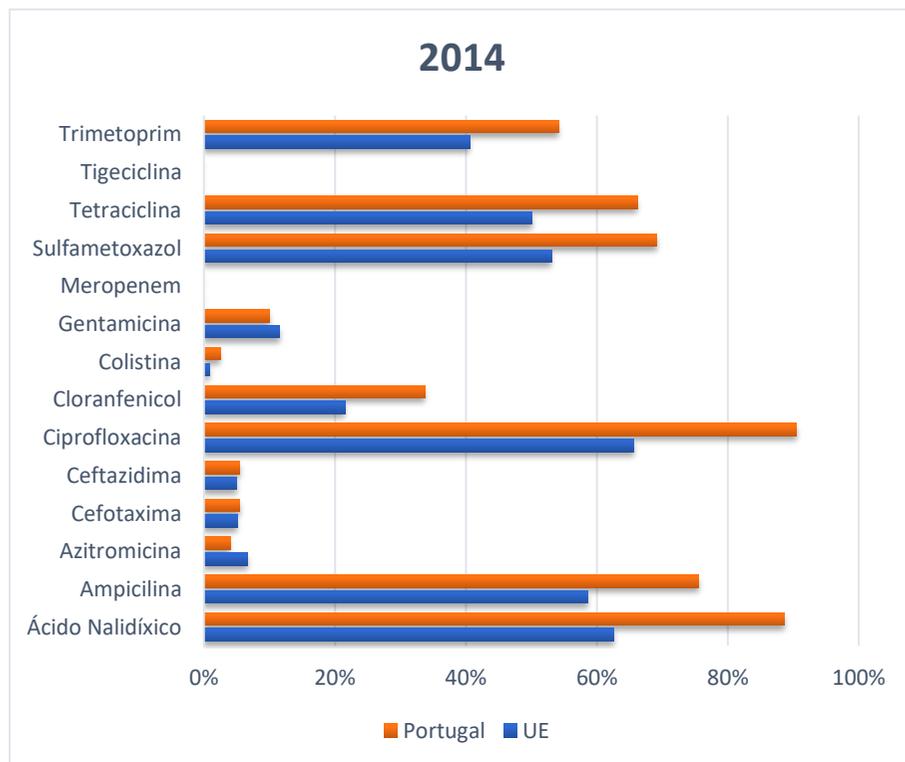
- 2017 – 0,6 mg/PCU de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração de cefalosporinas; 3,6 mg/PCU de fluoroquinolonas; e 10,9 mg/PCU de polimixinas (EMA/ESVAC 2019).

De um modo geral, os resultados demonstram que PT tem conseguido diminuir o uso de antibióticos em animais. Da mesma forma, o relatório da ESVAC de outubro de 2020, demonstra que as vendas de antibióticos para uso animal na Europa também diminuíram mais de 34% entre 2011 e 2018. Sobretudo em alguns HP-CIA, as vendas reduziram em torno de 24% em relação às cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, 70% para as polimixinas, 4% para as fluoroquinolonas e 74% para outras quinolonas.

Em comparação com a média total dos resultados dos EM da UE, a ocorrência de resistência aos antimicrobianos listada no plano em isolados provenientes de amostras de frangos e suínos em PT é variável. De modo geral, entre os anos de 2014 a 2017, os países nórdicos apresentaram na sua maioria valores muito baixos comparativamente aos outros países da Europa. Alguns países do leste europeu destacaram-se com maior percentagem de resistência. Mas os países que apresentaram maior ocorrência de resistência foram Chipre e Espanha.

No Gráfico 5, verifica-se que PT esteve acima da média na maioria dos antimicrobianos testados. Contudo, após uma análise mais detalhada entre os dois anos, percebe-se que no ano de 2016 PT apresentou maiores taxas de resistência comparativamente aos outros EM. Ressalta-se que, de entre os 27 EM analisados em 2016, PT foi o país com maior resistência dos isolados indicador de *E. coli* em frangos à ciprofloxacina e ao ácido nalidíxico. Além disso, PT aparece em ambos os anos como o terceiro país com maior resistência à colistina. Apenas esteve à frente a Alemanha e a Itália em 2014, e o Chipre e a Roménia, com o mesmo valor, em 2016. A maioria dos EM não apresentaram resistência.

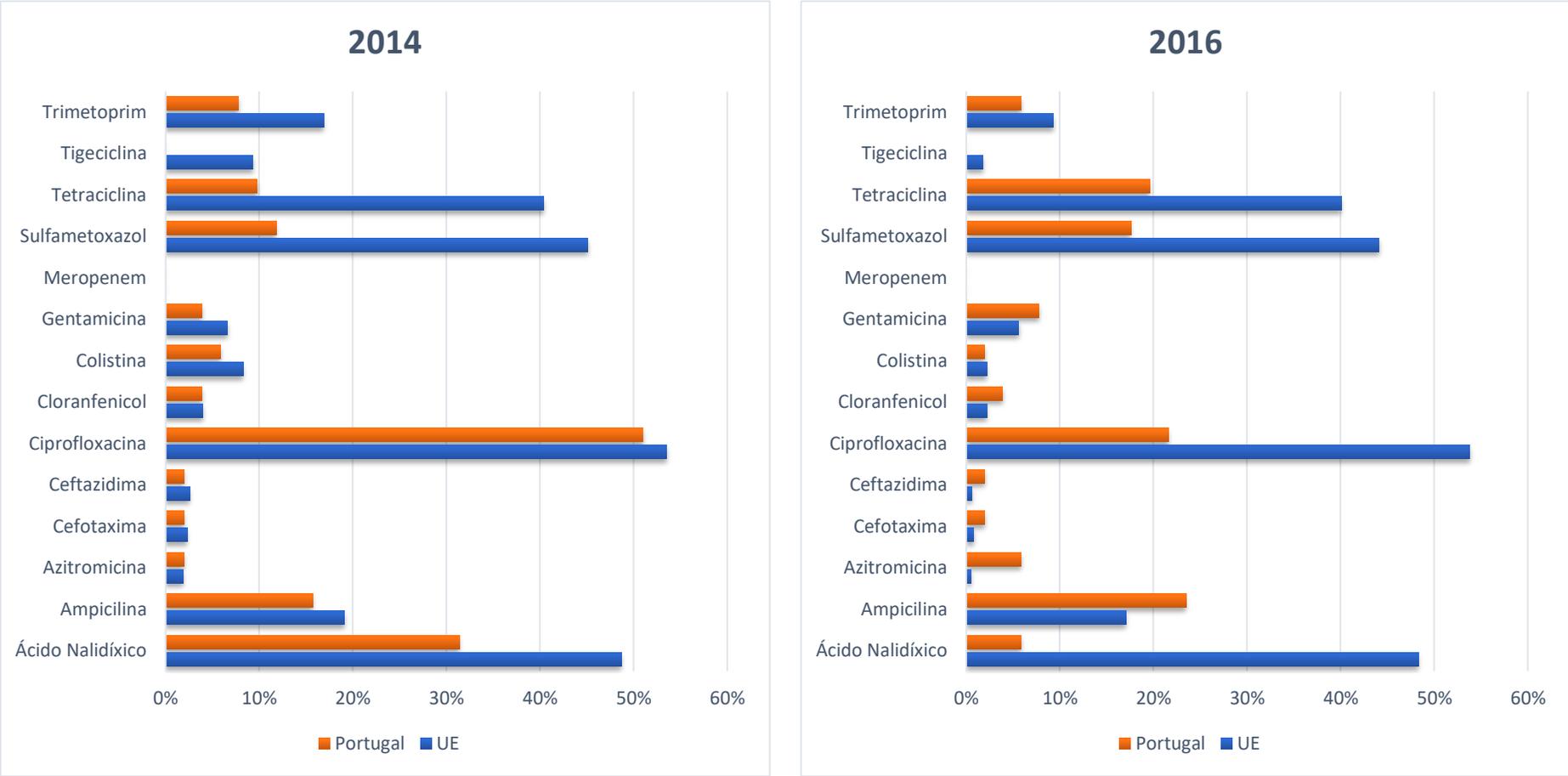
**Gráfico 5: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados indicadores de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de frango em Portugal e nos Estados Membros da UE**



De acordo com Apostolakos e Piccirillo (2018), na maioria dos países europeus, as taxas de resistência à colistina para *E. coli* e *Salmonella* e a prevalência de *mcr* em frangos, tem sido baixa, sobretudo nos países nórdicos, nos quais a colistina não é utilizada em animais de produção (por exemplo, na Noruega) ou então é usada em quantidades mínimas (por exemplo, Dinamarca). Os poucos resultados com altas taxas podem estar relacionados com um maior consumo. A orientação é que o uso de colistina em animais seja apenas efetuada nas situações de *E. coli* suscetível e não invasiva, e que os EM reduzam 65% das vendas de colistina (EMA 2016). A ocorrência de resistência à tigeciclina apresentada no gráfico é referente à Bulgária e à Hungria em 2014, e ao Chipre, França e Polónia em 2016. Outro resultado que se destaca é a percentagem de resistência à tetraciclina em PT, com valores de 71,4% em 2016, sendo a média 47,1%. PT é assim classificado como o terceiro país com maior resistência, estando apenas em situação mais favorável que o Chipre com 92,9% e a Polónia com 72,8%. No entanto, ao compararmos as vendas de tetraciclinas para o consumo animal, sendo a média de 30 países, incluindo países não-UE, 21,2 mg/PCU, observamos PT com 83,9 mg/PCU, Chipre com 180,7 mg/PCU e Polónia com 41,5 mg/PCU. A Espanha e a Itália apresentaram valores de 117,5 mg/PCU e 94,5 mg/PCU, respetivamente (EMA/ESVAC 2018).

No Gráfico 6, observa-se uma situação semelhante ao gráfico anterior. No ano de 2016, PT apresentou maiores taxas de resistência em isolados de *Salmonella* spp. comparativamente aos outros EM, com exceção do ácido nalidíxico e ciprofloxacina, que diminuíram a sua percentagem relativamente a 2014. Outros resultados que se destacaram foram a ocorrência de resistência à cefotaxima e ceftazidima, que em ambos os anos apresentaram o mesmo valor (2,0%). Isso demonstra que PT manteve os valores de resistência inalterados, enquanto a maioria dos países da UE reduziram a sua percentagem. Dentre os 22 EM analisados em 2014, PT esteve classificado em sétimo e oitavo país com maior resistência a cefotaxima e ceftazidima, respetivamente, e em 2016 esteve classificado em terceiro e segundo, apresentando resultados mais desfavoráveis apenas a Itália (com 12% em ambos os antimicrobianos) e a Malta (com 2,5% à cefotaxima).

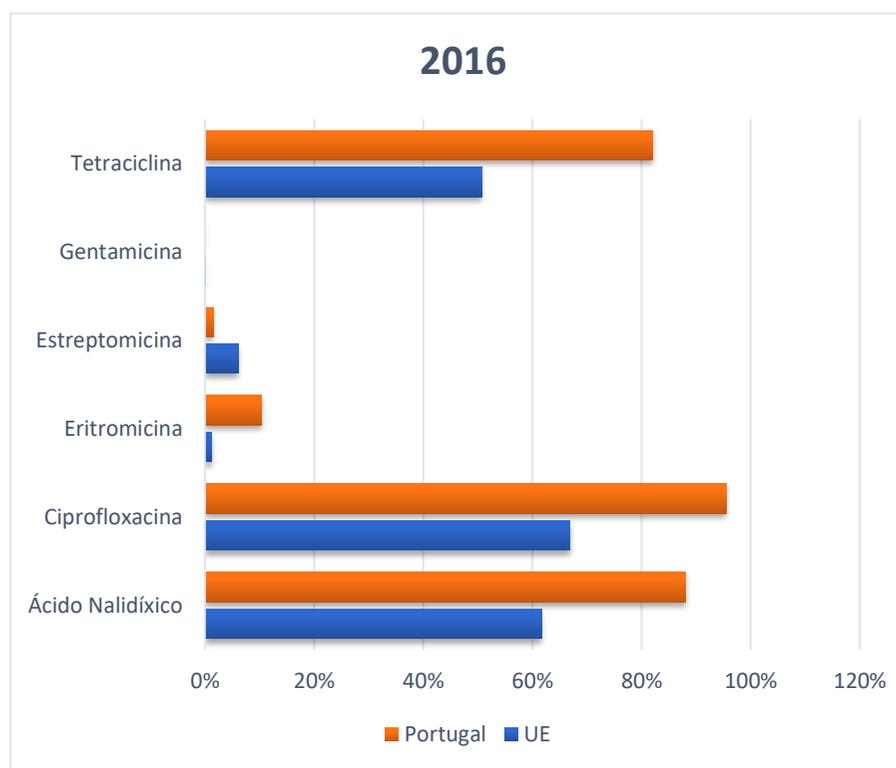
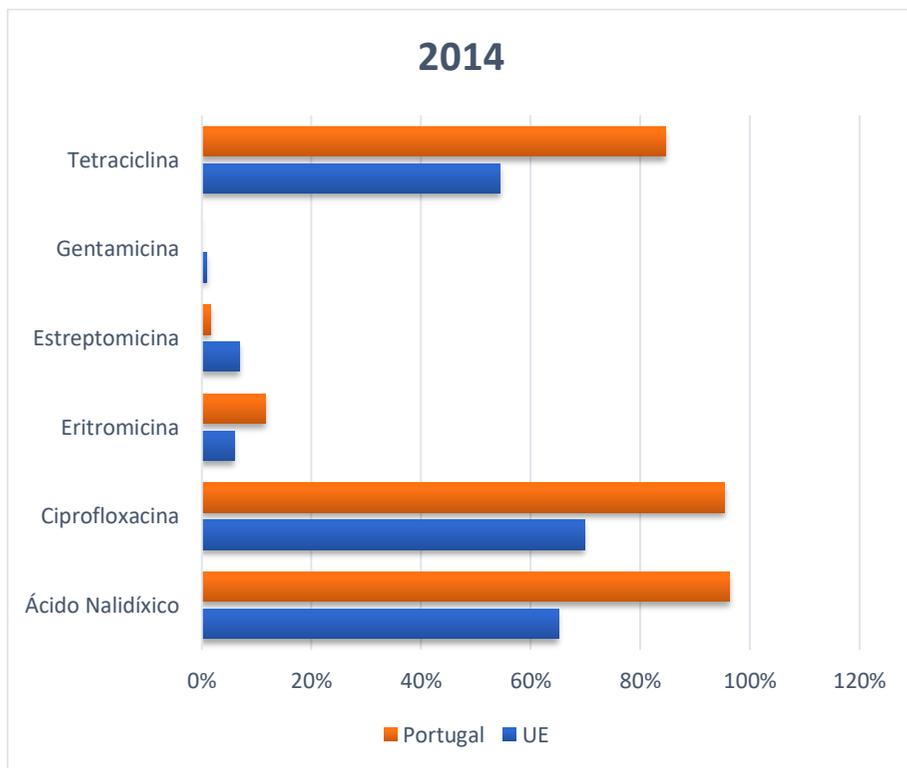
**Gráfico 6: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de *Salmonella* spp. em amostras de conteúdo cecal de frango em Portugal e nos Estados Membros da UE**



Outra observação relevante é que a maioria dos EM não apresentaram resistência à azitromicina em 2016. PT apresentou um aumento superior ao dobro, passando de sexta para segunda posição dentre os países com maior resistência. Apenas a Alemanha apresentou resultados mais desfavoráveis. Os outros países que também apresentaram resistência à azitromicina, em 2016, foram a Grécia (3,7%), a Eslováquia (1,9%), a Polónia (1,2%) e a Hungria (0,6%). Outro resultado que se destaca é a ocorrência de resistência à tigeciclina em isolados de *Salmonella* spp. em frango. Neste caso, PT não apresentou resistência, no entanto, de entre 22 EM, 14 países apresentaram resistência em 2014 e 9 países em 2016, sendo que em ambos os anos a Hungria apresentou os maiores valores de resistência. Todavia, em 2013, veio a AMEG esclarecer que a tigeciclina não está autorizada para uso em animais, nem qualquer outra glicilciclina, sendo que no mesmo relatório a AMEG relatou que a resistência à tigeciclina é selecionada principalmente pelo seu próprio uso ou por outros antimicrobianos, como as fluoroquinolonas e tetraciclinas (EMA 2013b).

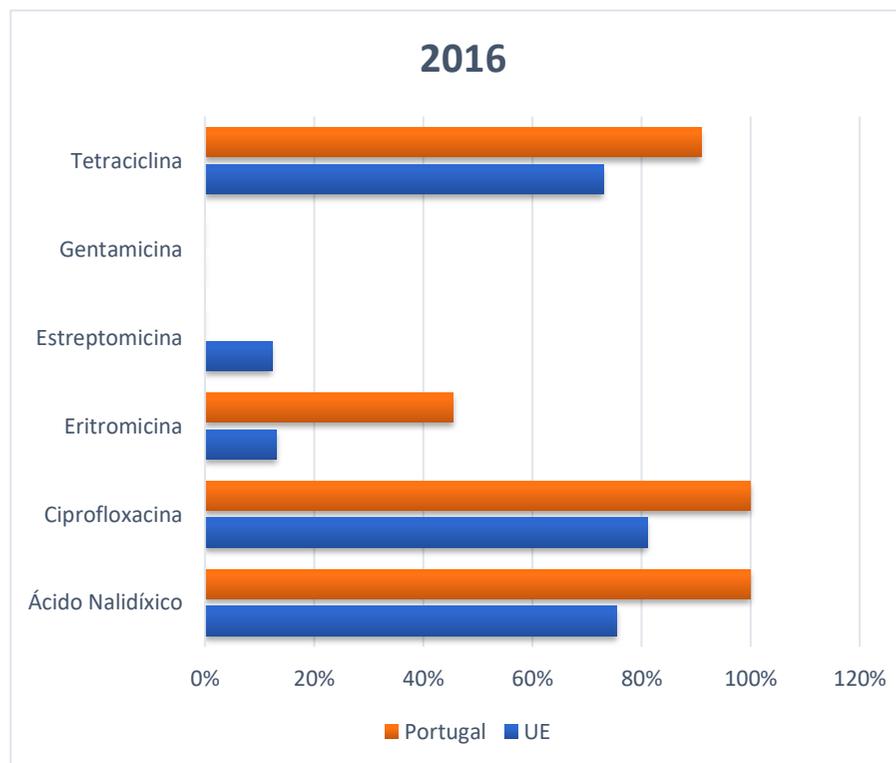
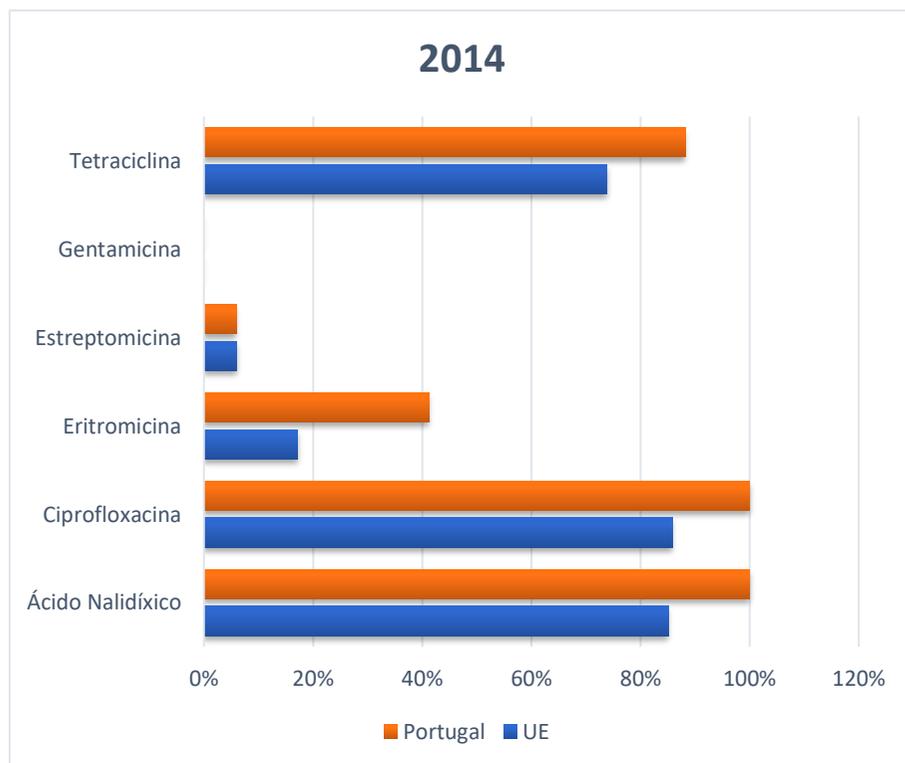
O Gráfico 7, **Erro! Fonte de referência não encontrada.** demonstra que PT apresentou percentagens acima da média em relação aos demais EM nos antimicrobianos ácido nalidíxico, ciprofloxacina, eritromicina e tetraciclina. Ao analisar mais detalhadamente, verifica-se que em ambos os anos PT foi o país com a segunda maior ocorrência de resistência de *Campylobacter jejuni* à ciprofloxacina em frangos. Apenas a Letónia apresentou resultados mais elevados. Em 2014, PT apresentou-se em terceira posição com valores mais elevados de resistência ao ácido nalidíxico e à tetraciclina, tendo apenas a Letónia e a Espanha apresentado valores mais elevados. Em 2016, a maioria dos EM não apresentaram resistência à eritromicina. No entanto, de entre 24 EM, PT foi o país com o segundo valor mais elevado de resistência (10,4%), apenas a Bulgária apresentou valores mais desfavoráveis (10,9%). Os demais países que apresentaram resistência foram a Itália (8,1%), Eslováquia (4,7%), Espanha (0,6%), República Checa (0,6%), Reino Unido (0,6%) e Roménia (0,3%). O estudo de Dramé et al. (2020), através de amostras de diversos setores da cadeia de abastecimento de frangos do Canadá, evidencia a forte ligação do *Campylobacter* spp. a resistência às tetraciclinas e às quinolonas. Estas classes foram incluídas nos perfis de resistência predominantes deste estudo. Apesar da baixa percentagem, o estudo também demonstrou resistência do *Campylobacter* spp. aos macrólidos e cetólidos. A maioria dos EM não apresentaram resistência à gentamicina, inclusivamente PT.

**Gráfico 7: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de *Campylobacter jejuni* em amostras de conteúdo cecal de frango em Portugal e nos Estados Membros da UE**



O Gráfico 8 ilustra, como já mencionado anteriormente, que PT participou com o menor número de isolados em ambos os anos, não sendo possível descrever se foram obtidos com base numa amostragem dirigida ou de controlo aleatório. Por outro lado, também não foram muitos os países que participaram nesta avaliação do *Campylobacter coli* em carne de frangos. A justificação para esta situação prende-se com o facto de, nas diretrizes do plano de vigilância harmonizado, a execução de testes de sensibilidade aos antimicrobianos em isolados de *C. coli* não ser obrigatória, e se o EM optar por efetuar a vigilância, os isolados devem ter origem em amostras cecais. No entanto, alguns países optaram por participar com amostras de carne. Além de PT, participaram neste estudo, em 2014, a Alemanha e a Áustria, com 72 e 45 isolados, respetivamente. E, em 2016, participaram a Alemanha, o Luxemburgo e a Croácia, com 60, 39 e 12 isolados, respetivamente. Em ambos os anos, os valores mais elevados de resistência incluíram a ciprofloxacina, o ácido nalidíxico e a tetraciclina. Em nenhum dos anos foi detetada resistência à gentamicina. O estudo de Skarp et al. (2016), com análises de anos anteriores ao deste trabalho, já demonstrava a resistência à tetraciclina com tendências semelhantes à ciprofloxacina. Na altura, os valores da resistência aos macrólidos eram mais baixos, provavelmente devido ao seu uso limitado na produção avícola já que eram considerados medicamentos de escolha para o tratamento de infeções humanas por *Campylobacter* spp.. O estudo de Garcia-Migura et al. (2014) também enfatiza a importância da monitorização da resistência do *C. jejuni* e *C. coli* às fluoroquinolonas e macrólidos na prática agrícola e demonstra que o consumo de fluoroquinolonas em frangos está correlacionado com a resistência. Além disso, evidencia que na Europa, com exceção da Dinamarca, os dados de resistência obtidos de *C. coli* e *C. jejuni* em isolados de frango mostraram um nível de resistência à ciprofloxacina muito maior do que os isolados de suíno e bovino, sugerindo um maior consumo desses antimicrobianos na produção avícola.

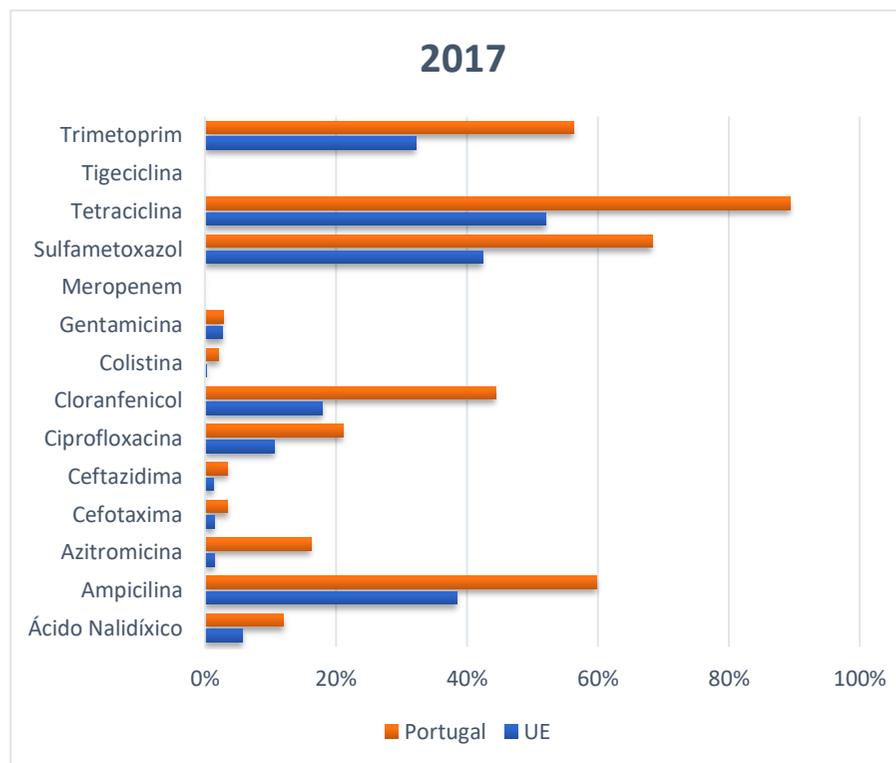
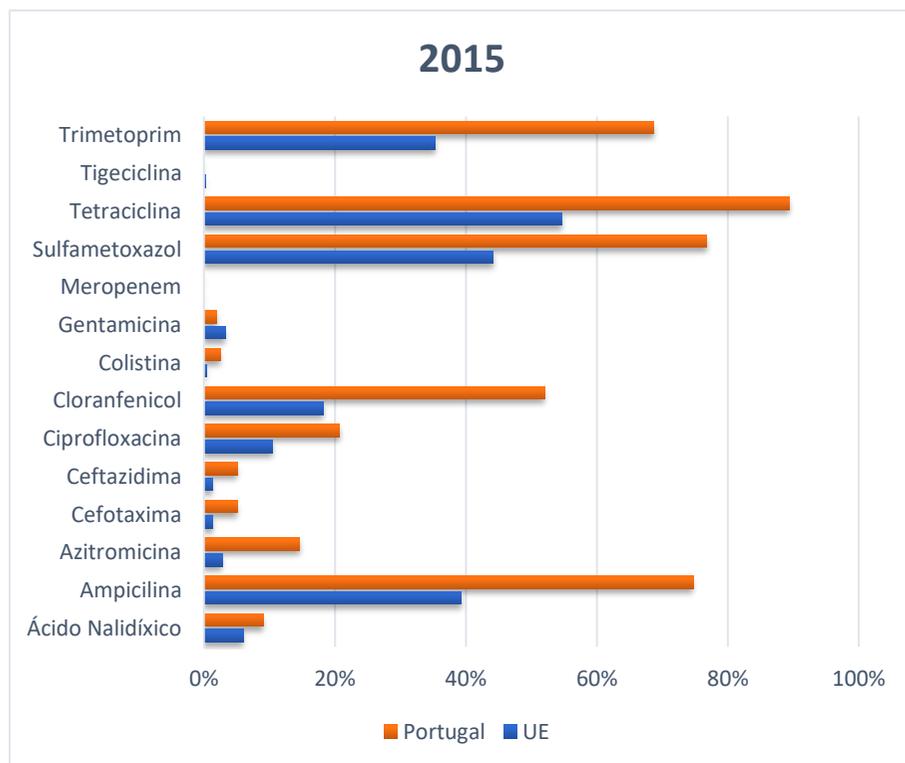
**Gráfico 8: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de *Campylobacter coli* em amostras de carne de frango em Portugal e Estados Membros da UE**



Os frangos têm sido identificados como uma das principais fontes de infecção humana por *Campylobacter*. Atualmente, os principais antimicrobianos usados para o tratamento destas infecções são as fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, e macrolídeos, como a eritromicina. Apesar de o Gráfico 8 ser referente a uma monitorização não obrigatória, a vigilância do *Campylobacter* spp em frango, incluindo na produção primária, no matadouro e no retalho, é de extrema importância para a saúde pública, já que todas estas etapas influenciam na transmissão do agente. A contaminação e o resultado de isolados resistentes em amostras de carne é maioritariamente resultante da colonização bacteriana e de tratamentos durante a produção primária. Em países que valorizam mais a biossegurança e os programas de monitorização na cadeia de produção avícola, como a Finlândia, Noruega e Suécia, ou ainda, que não permitem o uso de fluoroquinolonas em frangos, poucos isolados de *Campylobacter* resistentes são encontrados nestes animais e em humanos (Skarp et al. 2016).

No Gráfico 9, verifica-se que, em comparação com os outros EM, em ambos os anos PT apresentou altos níveis de resistência a diversos antimicrobianos. Em 2017, apesar de ter diminuído os valores de resistência, as médias também diminuíram e PT manteve-se em posições semelhantes na maioria dos antimicrobianos testados. De entre os 28 EM participantes do programa, em 2017, PT passou de segunda para primeira posição dos países com maior resistência à azitromicina e tetraciclina. Em 2015, apenas esteve em situação mais favorável que o Chipre. Em ambos os anos, dos 9 países com valores de resistência à colistina, PT esteve novamente em segunda posição (2,5%) em 2015, melhor apenas que a Espanha (2,9%), e em primeira posição (2,1%) em 2017. PT esteve ainda na terceira posição na resistência à ampicilina, cloranfenicol, sulfametazol e trimetoprim. Quanto à resistência às cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, destaca-se que em 2015, PT esteve na terceira posição em relação a ambos os antibióticos, estando numa situação mais favorável do que o Chipre e a Grécia. Em 2017, nos dados relativos à resistência à cefotaxima, PT esteve novamente em terceira posição depois da Bélgica e da Eslovénia, e quanto à ceftazidima, esteve em segunda posição depois da Bélgica. Como consequência destes resultados, pode surgir a necessidade de PT melhorar os sistemas de biossegurança na produção de suínos, o que por sua vez poderá reduzir a necessidade de utilização de antimicrobianos na produção animal. A resistência à tigeciclina registada no gráfico é referente apenas ao Chipre, Malta e Noruega em 2015 e à Bélgica em 2017.

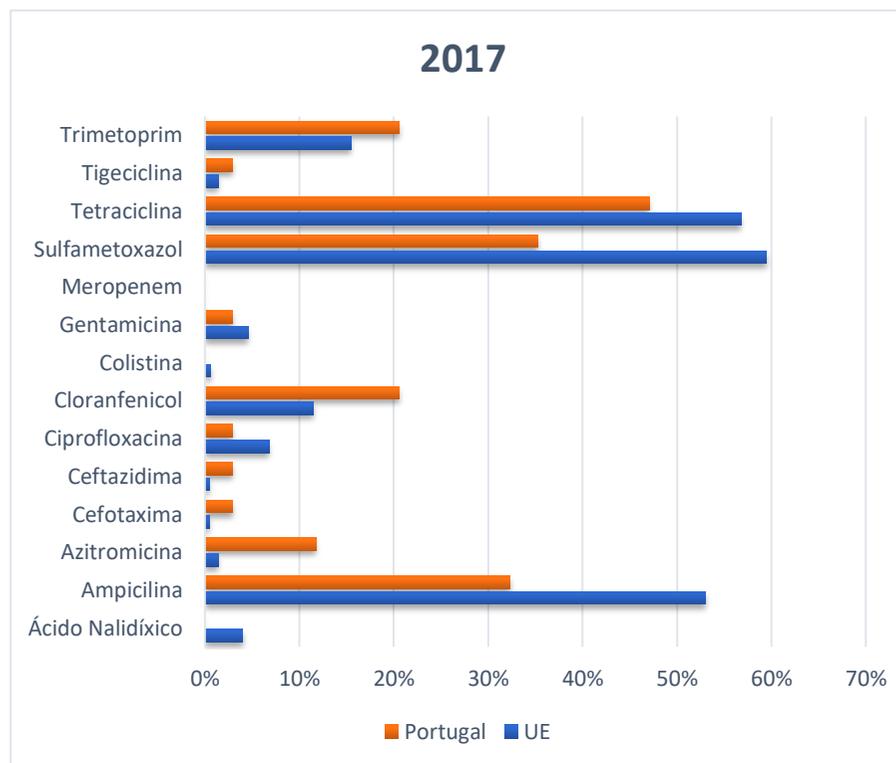
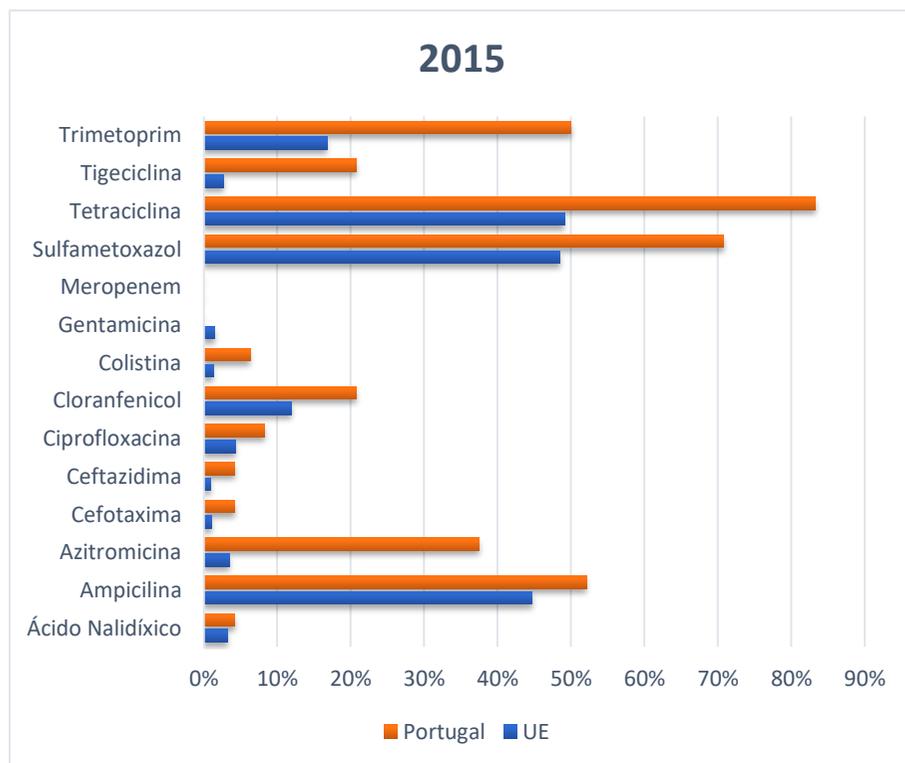
**Gráfico 9: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados indicadores de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de suíno em Portugal e nos Estados Membros da UE**



A alta prevalência de resistência verificado no gráfico 9 não é justificável apenas por um aumento de consumo e resistência ao mesmo antibiótico usado, provavelmente houve falhas no sistema de biossegurança no setor primário e o consumo de certos antimicrobianos favoreceu a resistência a outros. O estudo de Mencía-Ares et al. (2021), considera a *E. coli* comensal, um bioindicador agrícola, permitindo correlacionar o desenvolvimento da RAM com o tipo sistema de produção, o histórico de morbidades, o uso de antimicrobianos e as medidas de biossegurança e higiene aplicadas. Os resultados deste estudo evidenciaram que as explorações de sistema intensivo em Espanha foram associadas com uma maior ocorrência de resistência a sulfonamidas, quinolonas e fencóis. Além disso, verificou a resistência à ciprofloxacina associada ao consumo de fencóis e a resistência à cloranfenicol associada a um alto consumo de quinolonas. Por outro lado, explorações com melhores protocolos de limpeza e desinfecção representaram resistências ligeiramente menores ao sulfametoxazol. Explorações com melhores medidas de biossegurança para alimentação, água e fornecimento de equipamentos foram ligeiramente associadas a uma menor resistência à gentamicina. A resistência à tetraciclina foi associada ao uso empírico no manejo das morbidades na produção animal (Mencía-Ares et al. 2021). A Finlândia é um dos países de referência no que respeita à boa aplicação das medidas de biossegurança e higiene e a sua associação a uma menor ocorrência de RAM. O estudo de Sahlström et al. (2014) descreve o alto nível de biossegurança existente na suinocultura na Finlândia. Ao avaliarmos os resultados da EFSA e ECDC, verificamos que os níveis de resistência foram baixos. Além disso, os maiores resultados de resistência estão correlacionados com as classes antimicrobianas com maiores vendas da ESVAC.

Ao analisar os dados que fundamentam o Gráfico 10, verifica-se que PT esteve entre os EM com maiores níveis de RAM em isolados de *Salmonella* spp de suínos. É de se enfatizar que muitos países não apresentaram resistência a diversos antimicrobianos. No ano de 2015, dos 17 países analisados, apenas 6 países apresentaram resistência à colistina, e PT ficou em primeira posição juntamente com Malta (6,3%). Já no ano de 2017, apenas Alemanha e Espanha apresentaram resistência. Uma situação semelhante ocorre relativamente à resistência à tigeciclina, que de entre os 4 países com resistência, PT ficou em primeira posição com um valor muito superior aos outros (20,8%), sendo seguido pela Espanha (3,9%), Alemanha (3,9%) e Bélgica (1,6%). Já no ano de 2017, PT diminuiu acentuadamente a sua ocorrência (2,9%) relativamente aos 6 países que apresentaram resistência, e esteve em melhor situação que a Irlanda (3,7%), França (3,4%) e Alemanha (3,2%).

**Gráfico 10: Variação percentual de ocorrência de resistência em isolados de *Salmonella* spp. em amostras de conteúdo cecal de suíno em Portugal e nos Estados Membros da UE**



Outro valor a destacar dos resultados da monitorização é o da resistência à tetraciclina (83,3%) em 2015, em que PT apenas teve resultados mais favoráveis que o Chipre e a Letónia, o que pode ser explicado pelo baixo número de amostras, respetivamente quatro e duas, o que permitiu que os valores de PT sobressaíssem. A mesma situação ocorre com o sulfametazol, em que o Chipre e a Letónia estiveram novamente pior que PT face aos poucos isolados analisados, sobressaindo com maior resistência a Hungria (75%) e PT (70,8%). Relativamente ao trimetoprim, apenas o Chipre (75%) esteve pior que PT (50%). Em ambos os anos analisados, PT foi o país com maior resistência à azitromicina, sendo que apresentaram valores de resistência apenas 6 países em 2015 e 4 países em 2017. Apenas 5 países apresentaram resistência às cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> geração, sendo PT o segundo país com maior percentagem, em 2015 esteve pior apenas a República Checa, e em 2017 esteve pior apenas a Alemanha. Referente às fluoroquinolonas, em ambos os anos, PT apresentou valores baixos de resistência, sendo que em 2017 esteve abaixo da média relativamente à ciprofloxacina e não apresentou resistência ao ácido nalidíxico. A mesma situação ocorreu relativamente à gentamicina, em que PT, em 2017, se manteve abaixo das médias e, em 2015, não apresentou resistência.

É de ressaltar que PT apresentou altos níveis de resistência, enquanto vários outros países não apresentaram resistência. O Regulamento (CE) n.º 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativo ao controlo de salmonelas e outros agentes zoonóticos específicos de origem alimentar, já demonstrava a preocupação da UE com estes agentes. Apesar de enfatizar a salmonelose proveniente das aves, também evidenciou a importância de abranger o controlo das *Salmonella* spp. nas outras espécies. Esta legislação regulamentou as medidas apropriadas para controlar as salmonelas nas diversas fases da cadeia alimentar. Vários outros regulamentos, posteriores a este, vieram reforçar a necessidade de controlo nas outras espécies, como é o caso do Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão Europeia, relativo a critérios microbiológicos, que é o regulamento base para as amostragens nos suínos.

Como resultado da aplicação destes regulamentos, considera-se que os programas de controlo podem contribuir para reduzir a prevalência das salmonelas na produção animal e nos produtos derivados. O facto de muitos EM não terem apresentado resistência pode estar relacionado com os resultados das medidas tomadas ao longo dos anos para a redução da prevalência dos agentes zoonóticos nos géneros alimentícios, tendo a maioria dos EM adaptado os programas de controlo com resultados bastante positivos. Relativamente aos resultados de PT, as possíveis falhas na biossegurança das explorações animais nestes anos avaliados, associado a isolados com múltiplas resistências, podem explicar os altos valores encontrados. O estudo de Correia-Gomes et al. (2012), relata que em PT, os fatores de risco para os serotipos de *Salmonella* nas explorações de suínos reprodutores, incluem fatores

ambientais ou um padrão contagioso, principalmente no serotipo Typhimurium. O estudo de Campos et al. (2019) refere de que forma os produtos alimentares de origem animal estão relacionados aos achados de resistência aos antimicrobianos nos humanos. Neste estudo, a carne de porco, foi sobretudo, uma das fontes mais frequentes de salmonelose humana, especialmente por isolados resistentes, ou mesmo multirresistentes, de *Salmonella* não tifoide. Esta ocorrência foi associada ao uso de antimicrobianos na cadeia de produção de suínos. Com base na alta incidência de RAM, juntamente com o crescente consumo de carne de suíno e do comércio global destes produtos alimentares, o estudo também enfatiza a importância do controlo e monitorização contínuos de *Salmonella* spp. e da implementação de medidas de biossegurança mais eficazes.

Na generalidade, comparando com os outros EM participantes do programa de monitorização, percebe-se que PT esteve acima da média na percentagem de ocorrência de resistência na maioria dos antimicrobianos testados nos isolados de *E. coli* e *Campylobacter* spp. Paralelamente, PT apresentou uma baixa ocorrência de resistência à maioria dos antimicrobianos testados nos isolados de *Salmonella* spp. em frangos de ambos os anos (2014 e 2016). Em suínos, no ano de 2017 houve alguns antimicrobianos com resistência abaixo da média. Em ambas as espécies, PT destacou-se na ocorrência de resistência dos isolados de *E. coli* e *Salmonella* spp. à colistina. No que diz respeito à resistência à gentamicina, PT apresentou baixos resultados na maioria dos isolados dos três agentes microbianos, pese embora, comparando com os outros EM se verifique também que não existe um consumo elevado deste antibiótico na produção animal. Com base nos anos avaliados, a resistência à tigeclina em PT não parece ser muito preocupante, porque, apesar de a maioria dos isolados serem suscetíveis a este antibiótico e da alta incidência em 2015 nas resistências nas *Salmonella* spp. em carcaças de suínos, os valores reduziram acentuadamente no ano seguinte.

Segundo Schrijver et al. (2018), há três tipos de sistemas de vigilância que incluem a produção primária e os produtos de origem animal: i. sistemas de vigilância da EU; ii. sistemas de vigilância financiados pela indústria; e iii. sistemas oficiais de vigilância nacionais. Através da análise destes sistemas verifica-se uma notória heterogeneidade na vigilância nacional em países europeus, principalmente na caracterização dos genes de RAM. Para uma melhor aplicação dos planos nacionais, estes autores referem a necessidade de harmonização, baseada em regulamentos e aplicados nacionalmente em coordenação pelas autoridades de saúde pública, por isso, o PVRAM foi instaurado após a publicação da Decisão de Execução (UE) nº 2013/652/UE, de 12 de novembro de 2013. Schrijver et al. (2018) consideram ainda que os planos devem ter orientações claras sobre os tipos de amostra, métodos de amostragem, testes de suscetibilidade e valores padrões de corte. Além disso, a maioria dos antibióticos de interesse humano devem ser incluídos na vigilância animal, permitindo

resultados comparáveis com os sistemas de vigilância em humanos. E é relevante reduzir o atraso entre a análise dos dados e a publicação, permitindo uma precoce identificação de novos padrões de resistência.

Fazendo uma comparação direta do sistema implementado em PT com o programa de vigilância do RU sobre o uso de antibióticos e a resistência aos antibióticos durante os anos de 2013 a 2017, relativamente à quantidade de antibióticos vendidos para uso em animais destinados à produção de alimentos podemos concluir que, em 2016, enquanto PT se manteve entre 200-250 mg/PCU, o RU esteve entre os 0-50 mg/PCU. De entre os HP-CIA utilizados em animais, no RU destaca-se uma maior venda de quinolonas, enquanto em PT destaca-se uma maior venda de poliximinas (VMD 2019).

Relativamente à ocorrência de resistência em isolados de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de frango no RU, de entre as resistências encontradas, a percentagem de resistência nos anos de 2014 e 2016 foram em torno de 65%-75% à ampicilina, de 5%-15% ao cloranfenicol, de 0%-5% à ciprofloxacina, de 5%-20% à gentamicina, de 20%-25% ao ácido nalidixico, de 45%-60% à Tetraciclina e de 40%-50% ao trimetoprim, valores menores comparando com os encontrados em PT em quase todos os antibióticos testados, exceto no que toca à gentamicina, uma vez que apresentou valores semelhantes. De entre os antibióticos com maiores valores de ocorrência de resistência em PT, destaca-se a ciprofloxacina, com uma média de 92%, e o ácido nalidixico, com uma média de 89% (VMD 2019).

Relativamente à ocorrência de resistência em isolados de *Salmonella* spp. em amostras de frangos no RU, nas resistências encontradas, a percentagem de resistência nos anos de 2014 e 2016 foram de cerca de 0%-10% à ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina, gentamicina e ácido nalidixico, e de 0%-20% à tetraciclina e trimetoprim. Valores muito diferentes dos encontrados em PT, os quais foram maiores à ampicilina e à ciprofloxacina e menores à cloranfenicol e ao trimetoprim. A gentamicina apresentou valores menores de ocorrência de resistência em PT em 2014 e maiores em 2016. O ácido nalidixico apresentou valores maiores de ocorrência de resistência em PT em 2014 e semelhantes ao RU em 2016. A tetraciclina apresentou valores menores de ocorrência de resistência em PT em 2014 e semelhantes ao RU em 2016 (VMD 2019).

Relativamente à ocorrência de resistência em isolados de *Campylobacter jejuni* em amostras de conteúdo cecal de frango no RU, a percentagem de resistência nos anos de 2014 e 2016 foram de cerca de 40%-45% à ciprofloxacina, de 0%-5% à eritromicina e de 55%-60% à tetraciclina, valores menores comparando com os valores encontrados em PT, os quais foram, em média, de 92% à ciprofloxacina, de 11% à eritromicina e de 83% à tetraciclina (VMD 2019).

No que respeita à ocorrência de resistência em isolados de *E. coli* em amostras de conteúdo cecal de suíno no RU, a percentagem de resistência nos anos de 2015 e 2017 foram de cerca de 30%-40% à ampicilina, de 20%-30% à cloranfenicol, de 60%-70% à tetraciclina, de 35%-50% à trimetoprim e menos de 10% à ciprofloxacina, gentamicina e ácido nalidíxico. São valores inferiores comparando com os valores encontrados em PT relativamente a quase todos os antibióticos testados, exceto à gentamicina que apresentou valores aproximados (VMD 2019).

As orientações da Comissão Europeia de 2015 (Comunicado da Comissão 2015/C 299/04), sobre a utilização prudente de agentes antimicrobianos na medicina veterinária, apresentam uma abordagem geral e depois especificam por espécie. Para os suínos, apontam que a utilização de antimicrobianos mais frequente está relacionada principalmente com a diarreia na fase do desmame, infeções intestinais e doenças respiratórias. Outros fatores associados incluem a baixa imunidade provocada pelo stress do transporte, o agrupamento de animais provenientes de explorações diferentes, instalações com sistemas de ventilação inapropriados, métodos de alimentação inadequados e medidas de biossegurança insuficientes. Este guia de orientação também preconiza que numa situação de surto de infeção na exploração deve proceder-se a uma análise aprofundada do ocorrido de forma a adotar medidas que visam limitar a propagação e evitar a recorrência da infeção. Em relação às aves de capoeira, as orientações enfatizam o uso proibido das cefalosporinas de 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> gerações, em face do risco de propagação da RAM aos seres humanos devido às estirpes bacterianas produtoras de beta-lactamases de largo espetro (ESBL) e/ou de beta-lactamases AmpC. Além disso, sublinha que as quinolonas e fluoroquinolonas devem ser reservadas para o tratamento de patologias que tenham apresentado uma resposta insuficiente ao tratamento e, sempre que possível, só devem ser utilizadas após a realização de testes de suscetibilidade. Por fim, é aconselhável a não utilização de agentes antimicrobianos específicos para o controlo de salmonela, mas incluir medidas de biossegurança destinadas a prevenir a infeção por salmonelas.

Uma perspetiva por vezes subestimada é a atual existência crescente de infeções difíceis de tratar, que resultam em maior morbidade e mortalidade por doenças infecciosas que antigamente eram facilmente controladas, mas que atualmente representam um desafio para a medicina moderna, e do aumento dos casos de infeções pan-resistentes, quadros clínicos para os quais não há tratamento eficaz disponível (Owens 2008).

Considerando que os microrganismos têm um grande potencial para sofrer mutações, enfatizando a sua capacidade de capturar e partilhar genes entre as populações bacterianas de modo a proporcionar uma seleção natural e tornar os medicamentos ineficazes, provavelmente a RAM seja uma consequência inevitável, todavia, é possível controlar e retardar a sua progressão através da vigilância e medidas de mitigação (Waglechner and

Wright 2017). Ações de incentivo à utilização de terapias alternativas, de desenvolvimento de novos medicamentos, de adoção de programas ou protocolos de terapêutica antimicrobiana e de controle de infecção, também são ações que podem contribuir para monitorizar o uso de antimicrobianos, além de otimizar os tratamentos, os resultados e os custos (Owens 2008). Estas estratégias diversificadas e interconjugadas podem contribuir para a redução da resistência antimicrobiana e, conseqüentemente, para a diminuição do impacto que a mesma causa na economia mundial. Como referido por diversas entidades e estudos científicos, estas medidas não dependem apenas de uma vertente, mas sim de uma ação global que abranja regulamentação e monitorização no uso de antimicrobianos entre humanos, animais e meio ambiente.

Após todo o estudo percebe-se que a RAM é inevitável e não existe uma solução única, no entanto, é possível minimizar esta crise global através da implementação de estratégias holísticas e específicas, partindo do entendimento de que existe uma influência multifatorial que a impulsiona, incluindo os mecanismos de resistência, espécie do microrganismo, o antimicrobiano específico, bem como o ambiente e o contexto. Para gerir os novos desafios dessa problemática crescente, sublinha-se a importância de manter os sistemas de vigilância em constante atualização, da harmonização a nível global da recolha e reporte de informação sobre resistência e consumo dos antimicrobianos, de modo a monitorizar o seu impacto e analisar os conseqüentes riscos para a saúde pública e segurança alimentar, para que assim seja possível promover medidas direcionadas de controlo e prevenção de doenças transmitidas por alimentos, de transferência de genes de resistência e disseminação das bactérias resistentes. Para isso, abordagens multissetoriais devem ser simultaneamente implementadas, tanto a nível nacional como internacional, a fim de assegurar o contínuo acesso às terapias antimicrobianas eficazes e minimizar a emergência de resistência a novos agentes (Holmes 2016).

Está assumido que o aumento do uso de antibióticos, está inevitavelmente associado ao aumento da resistência aos antibióticos, contudo, não é o uso de um antibiótico que resulta em resistência, mas o seu uso indevido (Davies 2004). Está comprovado que a diminuição da utilização de antimicrobianos deverá ter um impacto benéfico na ocorrência de RAM. No entanto, ao levar em consideração os mecanismos de resistência, o uso prudente e racional deve incluir todas as classes de antimicrobianos consumidos. Segundo a EMA, a redução do uso de colistina não deve ser compensada com o aumento do uso de outros tipos de antimicrobianos, mas deve ser alcançada por meio de outras medidas, nomeadamente de utilização das melhores práticas de biossegurança (EMA 2016a).

Assim como refere Skarp et al. (2016), a aplicação eficaz de medidas de biossegurança e higiene contribuem para o controlo da disseminação de RAM. Medidas eficazes de biossegurança podem ser encontradas no estudo de Campos et al. (2019),

incluindo melhoria das medidas de biossegurança nas explorações, tais como de fornecimento de ração não contaminada, isolamento de novos animais adquiridos, altos padrões de higiene, verificações veterinárias regulares, vacinação, entre outras, além de evitar a contaminação cruzada associada ao transporte, armazenagem, abate, equipamentos e trabalhadores (Campos et al. 2019).

O isolamento de animais doentes seguida da realização de testes de suscetibilidade é uma prática que deve substituir à medicação em massa nas explorações, evitando-se assim a ocorrência e disseminação de resistência às populações bacterianas expostas (CVMP 2009). Assim, a antibioterapia deve basear-se nos resultados de exames laboratoriais e os medicamentos devem ser administrados na dose terapêutica recomendada e pelo período prescrito (Quinn et al. 2011).

Sabendo-se que o uso de medicamentos na produção animal pode deixar resíduos nos alimentos para humanos, a menor dose efetiva deve ser aprovada para evitar resíduos que possam causar um impacto negativo na saúde humana (Torrence and Isaacson 2003). Do mesmo modo, deve haver um maior controlo dos intervalos de segurança de medicamentos após o tratamento destes animais e os agentes antimicrobianos não devem ser usados para promover o crescimento nem substituir medidas de higiene, desinfeção e vacinação para prevenção e controlo de doenças infecciosas (Torrence and Isaacson 2003; Quinn et al. 2011).

Embora existam vacinas que conferem proteção contra infeções bacterianas, devem ser realizados, no setor de saúde humana e animal, mais investimentos que reduzam a necessidade de antimicrobianos, como vacinas adicionais e outras estratégias de controlo de doenças não antimicrobianas (Quinn et al. 2011; Schwarz et al. 2018).

As melhorias nos meios de investigação e diagnóstico para analisar o genoma bacteriano permitem um melhor entendimento dos genes de resistência antimicrobiana, bem como da sua disseminação no ambiente, em pessoas e em animais. Portanto, além de ajudar a compreender o que está a impulsionar o desenvolvimento e a disseminação da resistência antimicrobiana, tal permitirá direcionar a gestão desta situação (Schwarz et al. 2018).

A resistência aos antibacterianos é generalizada e as medidas de controlo num país podem tornar-se ineficazes devido à importação de bactérias resistentes nos alimentos ou os ARG nas bactérias comensais de animais ou seres humanos, provenientes de países nos quais os controlos são menos rigorosos (EC 2017). Para restringir esta disseminação, os planos globais e regionais, tal como o Plano de Ação Global e o Plano de Ação Europeu, precisam tomar medidas harmonizadas de controlo e prevenção nos países a nível global (WHO 2015; EC 2017).

Monitorizar apenas a ocorrência de resistência não é suficiente. A EFSA e a ECDC consideram que deve monitorizar-se em simultâneo o uso e a resistência aos antimicrobianos

na saúde humana e animal. Desta forma, podem obter-se dados mais concretos e elucidar as tendências atuais da RAM (ECDC/EFSA/EMA 2017b). Com este objetivo, a EMA e a EFSA, juntamente com a RONAFA, analisaram as medidas tomadas na UE para reduzir o uso de agentes antimicrobianos em animais destinados à produção de alimentos e os impactos na segurança alimentar resultantes da RAM. As estratégias envolvidas incluem: sistemas harmonizados para monitorizar o uso de antimicrobianos e o desenvolvimento de RAM; estabelecimento de metas nacionais para a redução do uso de antimicrobianos; controlos sobre prescrição e restrições ao uso de antimicrobianos específicos de importância crítica; aumentar a responsabilidade dos veterinários pela prescrição de antimicrobianos; educação e consciencialização pública; aumentar a disponibilidade de métodos de diagnóstico rápido e confiáveis; melhorar os procedimentos de manejo, visando a prevenção e o controlo de doenças; repensar os sistemas de produção animal para reduzir o risco de doenças emergentes (EMA/EFSA 2017). No entanto, apesar de inúmeras medidas serem divulgadas por diversas autoridades e entidades internacionais, regionais e nacionais, esta causa apenas será controlada quando houver um entendimento individual da dimensão desta crescente ameaça.

### 3 Conclusão

Com base no Plano de Vigilância à Resistência aos Antimicrobianos realizado pela DGAV e dos reportes anuais à Comissão Europeia, os resultados apresentados refletem parcialmente a resistência de *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *E. coli* a determinados antimicrobianos em animais de produção em PT. Estes dados refletem um elevado grau de resistência destes agentes microbianos a antimicrobianos largamente utilizados na produção animal, como a tetraciclina, ampicilina, sulfametazol e trimetoprim, e aos HP-CIA, destacando-se a ciprofloxacina e o ácido nalidíxico, especificamente em frangos, suínos e respetivas carnes.

Percebe-se que analisando apenas os resultados de ocorrência de RAM recolhidos na vigilância animal não é possível concluir a gravidade deste problema na saúde pública a nível nacional. Na perspetiva de esclarecer os fatores de risco para a ocorrência da resistência e conseguir elaborar medidas de controlo eficazes para o problema da RAM na produção animal, a vigilância de ocorrência de RAM oferece uma abordagem não específica, sendo mais bem aplicada quando unificada aos dados de consumo dos antimicrobianos nos animais e da ocorrência de resistência nos humanos. A precisão de dados de PT pode apresentar-se afetada pela possibilidade da execução da colheita das amostras não terem sido completamente realizadas de forma aleatória ao longo do ano e também não se pode afirmar que os antibióticos relevantes para a saúde humana foram adequadamente monitorizados. Além disso, parte deste estudo foi inconclusiva pela impossibilidade do uso de dados até então confidenciais, em particular no que diz respeito aos últimos anos desta vigilância. À medida que o plano avançou foi necessário adaptar o seu modo de implementação e de tratamento dos dados, tanto em PT como em outros EM. Como consequência disso, muito provavelmente estes resultados subestimam o atual cenário da resistência aos antimicrobianos. Apesar de um limitado acesso aos dados de vigilância animal, é possível sugerir uma inconsistência na aplicação do plano ao longo do ano.

Maiores detalhes deste programa de vigilância podem ser encontrados no site da EFSA e ECDC, onde está disponível grande parte dos resultados dos planos nacionais de vigilância de cada EM que participou desta monitorização harmonizada, incluindo os relativos a PT.

## Referências

- Amaro A, Correia I, Clemente L. 2020. Resistência aos antibióticos em bactérias com origem em animais da cadeia alimentar. *Veterinária Atual*. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://www.veterinaria-atual.pt/destaques/resistencia-aos-antibioticos-em-bacterias-com-origem-em-animais-da-cadeia-alimentar/>.
- Apostolakos I, Piccirillo A. 2018. A review on the current situation and challenges of colistin resistance in poultry production. *Avian Pathol*. 47(6): 546–558. [acedido em 2021 Jun 13]. <https://doi.org/10.1080/03079457.2018.1524573>.
- Campos J, Mourão J, Peixe L, Antunes P. 2019. Non-typhoidal Salmonella in the Pig Production Chain: A Comprehensive Analysis of Its Impact on Human Health. *Pathogens*. 8(1):19. [acedido em 2021 Jun 19]. <https://doi.org/10.3390/pathogens8010019>.
- [CVMP] Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. 2009. Reflection paper on the use of third and fourth generation cephalosporins in food producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. *J Vet Pharmacol Ther*. 32(6):515-33. [acedido em 2021 Jun 10]. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2009.01075.x>.
- Comunicação da Comissão Europeia, Orientações para a utilização prudente de agentes antimicrobianos na medicina veterinária (2015/C 299/04). *Jornal Oficial da União Europeia*, 11.09.2015, C 299/7. [acedido em 2021 Jun 20].
- Correia-Gomes C, Economou T, Mendonça D, Vieira-Pinto M, Niza-Ribeiro J. 2012. Assessing risk profiles for Salmonella serotypes in breeding pig operations in Portugal using a Bayesian hierarchical model. *BMC Vet Res*. 8:226. [acedido em 2021 Jun 19]. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-226>.
- Davies PDO. 2004. Does increased use of antibiotics result in increased antibiotic resistance. *Clinical Infectious Diseases*. 39:18-19 [acedido em 2020 Jul 23]. <https://doi.org/10.1086/420826>.
- Decisão de Execução (UE) nº 2020/1729 da Comissão Europeia, de 17 de novembro de 2020, relativa à vigilância e comunicação de dados sobre a resistência antimicrobiana em bactérias zoonóticas e comensais e que revoga a Decisão de Execução nº 2013/652/UE da Comissão [notificada com o número C (2020) 7894]. *Jornal Oficial da União Europeia*, 19.11.2020, L 387/8. [acedido em 2021 Jun 19].
- Decisão de Execução (UE) nº 2013/652/EU, de 12 de novembro de 2013. Vigilância e comunicação de dados sobre a resistência antimicrobiana em bactérias zoonóticas e comensais nº 303/26. *Jornal Oficial da União Europeia*, 14.11.2013, L 303/26. [acedido em 2021 Jun 19].
- Dias DJA. 2009. Estudo dos Principais Mecanismos de Resistência aos Antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em Bactérias Patogénicas de Gram negativo. Dissertação de mestrado. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Departamento de Ciências da Vida [acedido em 2021 Jun 8]. <https://hdl.handle.net/10362/2382>

- [DGAV] Direção geral de Alimentação e Veterinária. 2013. Plano de ação nacional para a redução do uso de antibióticos nos animais. Lisboa: DGAV [acedido em 2020 Jul 7]. [https://www.acos.pt/repository/docs/PlanoAccao\\_Antibioticos\\_DGAV.pdf](https://www.acos.pt/repository/docs/PlanoAccao_Antibioticos_DGAV.pdf).
- [DGAV] Direção geral de Alimentação e Veterinária. 2021. Uma Só Saúde. Lisboa: DGAV. [acedido em 2021 Jul 2]. <https://www.dgav.pt/acessorapido/conteudo/uma-so-saude/>
- [DGS] Direção-Geral de Saúde. 2019. Plano Nacional de Combate às Resistências aos Antimicrobianos 2019-2023 (PNCRAM). Lisboa: DGS. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/plano-nacional-de-combate-a-resistencia-aos-antimicrobianos-2019-2023-pdf.aspx>.
- Diretiva nº 2003/99/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de novembro de 2003, relativa à vigilância das zoonoses e dos agentes zoonóticos, que altera a Decisão 90/424/CEE do Conselho e revoga a Diretiva nº 92/117/CEE do Conselho. Jornal Oficial da União Europeia, 12.12.2003, L 325/31. [acedido em 2021 Jun 19].
- Dramé O, Leclair D, Parmley EJ, Deckert A, Quattara B, Daignault D, Ravel A. 2020. Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* in Broiler Chicken Along the Food Chain in Canada. *Foodborne Pathog Dis.* 17(8):512-520. [acedido em 2021 Jun 13]. <https://doi:10.1089/fpd.2019.2752>.
- [ECDC/EFSA/EMA]a European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority, European Medicines Agency. 2017. ECDC, EFSA and EMA Joint Scientific Opinion on a list of outcome indicators as regards surveillance of antimicrobial resistance and antimicrobial consumption in humans and food-producing animals, ECDC, EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) and EMA Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP). [acedido em 2020 Jul 7]. <https://doi:10.2903/j.efsa.2017.5017>.
- [ECDC/EFSA/EMA]b European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority, European Medicines Agency. 2017. Second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals, Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report. *EFSA Journal* 15(7):4872. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://doi:10.2903/j.efsa.2017.4872>.
- [EC] European Commission. A european one health action plan against antimicrobial resistance. 2017. Bruxelas: EC. [acedido em 2020 Ago 21]. [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/antimicrobial\\_resistance/docs/amr\\_2017\\_action-plan.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/antimicrobial_resistance/docs/amr_2017_action-plan.pdf).
- [EFSA] European Food and Safety Authority. 2014. EFSA explains zoonotic diseases: Food-borne Zoonoses. Parma: EFSA. [acedido em 2020 Jul 7]. doi: 10.2805/5079.
- [EFSA/ECDC] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. 2016. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. 14(2):4380. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4380>.
- [EFSA/ECDC] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. 2017. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. 15(2):4694. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4694>.

- [EFSA/ECDC] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. 2018. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. 16(2):5182. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5182>.
- [EFSA/ECDC] European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. 2020. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. 18(3):6007. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6007>.
- [EFSA] European Food Safety Authority. 2019. Technical specifications on harmonised monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food. EFSA Journal 17(6):5709 [acedido em 2021 Jun 19]. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5709>.
- [EMA/EFSA] European Medicine Agency and European Food Safety Authority. 2017. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) and EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). EFSA Journal. 15(1): 4666. [acedido em 2020 Jul 23].
- [EMA/ESVAC] European Medicines Agency and European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. 2016. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 29 European countries in 2014'. EMA/61769/2016. [acedido em 2021 Jun 15].
- [EMA/ESVAC] European Medicines Agency and European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. 2017. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015'. EMA/184855/2017. [acedido em 2021 Jun 15].
- [EMA/ESVAC] European Medicines Agency and European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. 2018. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2016'. EMA/275982/2018. [acedido em 2021 Jun 15].
- [EMA/ESVAC] European Medicines Agency and European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. 2019. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2017'. EMA/294674/2019. [acedido em 2021 Jun 15].
- [EMA/ESVAC] European Medicines Agency and European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. 2020. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018'. EMA/24309/2020. [acedido em 2021 Jun 15].
- [EMA/CVMP/CHMP] European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary use, Committee for Medicinal Products for Human Use. 2019. Categorisation of antibiotics in the European Union. EMA/CVMP/CHMP/682198/2017. [acedido em 2021 Jun 15].
- [EMA/CVMP/SAGAM] European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, Scientific Advisory Group on Antimicrobials. 2007. Public statement in the use of (fluoro)quinolones in food-producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. EMA/CVMP/SAGAM/184651/2005. [acedido em 2021 Jun 8].

- [EMA] European Medicines Agency. 2013. Use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. EMA/755938/2012. [acedido em 2021 Jun 10].
- [EMA]b European Medicines Agency. 2013. Use of glycolcyclines in animals in the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. Amsterdão: EMA. [acedido em 2021 Jun 10]. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/use-glycolcyclines-animals-european-union-development-resistance-possible-impact-human-animal-health\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/use-glycolcyclines-animals-european-union-development-resistance-possible-impact-human-animal-health_en.pdf).
- [EMA]a European Medicines Agency. 2016. Countries should reduce use of colistin in animals to decrease the risk of antimicrobial resistance. EMA/480583/2016. [acedido em 2021 Jun 10].
- [EMA]b European Medicines Agency. 2016. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. EMA/231573/2016. [acedido em 2021 Jun 10].
- [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. 2015. Codex texts on Foodborne antimicrobial resistance – Codex alimentarius. Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance (CAC/GL 77-2011). Roma: FAO. [acedido em 2020 Jul 7].
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. [date unknown]. About FAO [acedido em 2020 Jul 7]. <http://www.fao.org/about/en/>.
- Frasão BS, Côrtes LR, Nascimento ER, Cunha NC, Almeida VL, Aquino MHC. 2015. Detecção de resistência às fluoroquinolonas em *Campylobacter* isolados de frangos de criação orgânica. *Pesq. Vet. Bras.* 35(7):613-619. [acedido em 2021 Jun 8]. doi:10.1590/S0100-736X2015000700003.
- Garcia-Migura L, Hendriksen RS, Fraile L, Aarestrup FM. 2014. Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: The missing link between consumption and resistance in veterinary medicine. *Vet Microbiol.* 170(1-2):1-9. [acedido em 2021 Jun 15]. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.01.013.
- Grami R, Mansour W, Mehri W, Bouallègue O, Boujaâfar N, Madec JY, Haenni M. 2016. Impact of food animal trade on the spread of *mcr-1*-mediated colistin resistance, Tunisia, July 2015. *Euro Surveill.* 21(8):30144. [acedido em 2021 Jun 10]. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.8.30144.
- Guardabassi L, Jensen L B, Kruse H. 2008. Guide to antimicrobial use in animals. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. [acedido em 2021 Jun 10]. doi:10.1002/9781444302639.
- Hirsh DC, Zee YC. 2003. *Microbiologia Veterinária*. (1ª ed.) Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Holmes AH, Moore LSP, Sundsfjord A, Steinbakk M, Regmi S, Karkey A, Guerin PJ, Piddock LJV. 2016. Understanding the mechanisms and the drivers of antimicrobial resistance. *Lancet.* 387(10014):176-87. [acedido em 2021 Jun 15]. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00473-0.
- Hubálek Z, Rudolf I. 2011. *Microbial Zoonoses and Sapronoses*. London: Springer Science+Business Media B.V.

- [INE] Instituto Nacional de Estatística. 2020. Produção de carne (t) por Tipos de carnes; Anual. Lisboa: INE [acedido em 2020 Jul 7]. [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&userLoadSave=Load&userTableOrder=10859&tipoSelecao=0&contexto=pq&selTab=tab1&submitLoad=true&xlang=pt](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&userLoadSave=Load&userTableOrder=10859&tipoSelecao=0&contexto=pq&selTab=tab1&submitLoad=true&xlang=pt).
- Jacoby GA. 2009. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 22(1):161-82. [acedido em 2021 Jul 7]. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-08>.
- Junqueira LC, Carneiro J. 1997. *Biologia celular e molecular*. (6ª ed.) Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Kaferstein FK, Motarjemi Y, Bettcher DW. 1997. Foodborne disease control: a transnational challenge. *Emerging Infectious Diseases*. 3:503–510. [acedido em 2021 Jul 7]. doi: 10.3201/eid0304.970414
- Koga VL, Maluta RP, Silveira WD, Ribeiro RA, Hungria M, Vespero EC, Nakazato G, Kobayashi RKT. 2019. Characterization of CMY-2-type beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from chicken carcasses and human infection in a city of South Brazil. *BMC Microbiology*. 19(1):174. [acedido em 2021 Jun 10]. doi: 10.1186/s12866-019-1550-3.
- Krause DO, Hendrick S. 2011. *Zoonotic pathogens in the food chain*. Oxfordshire: CAB International. [acedido em 2021 Jul 7]. doi: 10.1079/9781845936815.0000.
- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, et al. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 16(2):161–68. [acedido em 2021 Jun 10]. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
- Luo Q, Wang Y, Xiao Y. 2020. Prevalence and transmission of mobilized colistin resistance (*mcr*) gene in bacteria common to animals and humans. *Biosafety and Health* 2(2):71–78. [acedido em 2021 Jun 10]. doi: 10.1016/j.bsheal.2020.05.001.
- Marinho CM, Santos T, Gonçalves A, Poeta P, Igrejas G. 2016. A Decade-Long Commitment to Antimicrobial Resistance Surveillance in Portugal. *Front. Microbiol*. 7:1650. [acedido em 2021 Jun 19]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01650>.
- Mencía-Ares O, Argüello H, Puente H, Gómez-García M, Manzanilla EG, Álvarez-Ordóñez A, Carvajal A, Rubio P. 2021. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. Is influenced by production system, antimicrobial use, and biosecurity measures on Spanish pig farms. *Porcine Health Manag*. 7(1):27. [acedido em 2021 Jun 15]. doi: 10.1186/s40813-021-00206-1.
- Mulvey MR, Susky E, McCracken M, Morck DW, Read RR. 2009. Similar cefoxitin-resistance plasmids circulating in *Escherichia coli* from human and animal sources. *Vet Microbiol*. 134(3-4):279-87. [acedido em 2021 Jun 10]. doi:10.1016/j.vetmic.2008.08.018.
- Niero G, Bortolaia V, Vanni M, Intorre L, Guardabassi L, Piccirillo A. 2018. High diversity of genes and plasmids encoding resistance to third-generation cephalosporins and quinolones in clinical *Escherichia coli* from commercial poultry flocks in Italy. *Vet Microbiol* 216:93-98. [acedido em 2021 Jun 8]. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.02.012.

- O'Neill J (chair). 2014. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations, The Review on Antimicrobial Resistance. London [acedido em 2020 Jul 8]. <https://amr-review.org/Publications.html>.
- [OIE] Organisation for Animal Health. [date unknown]. OIE objectives. [acedido em 2020 Jul 7]. <https://www.oie.int/en/who-we-are/mission/>.
- [OIE] Organisation for Animal Health. 2018. List of antimicrobial agents of veterinary importance. Paris: OIE [acedido em 2020 Jul 6]. [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our\\_scientific\\_expertise/docs/pdf/AMR/A\\_OIE\\_List\\_antimicrobials\\_May2018.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/AMR/A_OIE_List_antimicrobials_May2018.pdf).
- [OIE]a Organisation for Animal Health. 2019. Harmonisation of national antimicrobial resistance surveillance and monitoring programmes. In: Capítulo 6.8, Terrestrial Animal Health Code (28<sup>o</sup> Ed.). Paris: OIE. [acedido em 2019 Out 15].
- [OIE]b Organisation for Animal Health. 2019. Laboratory methodologies for bacterial antimicrobial susceptibility testing. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Terrestrial Manual). Paris: OIE. [acedido em 2019 Out 15].
- Owens RC. Antimicrobial stewardship: concepts and strategies in the 21st century. 2008. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 61:110–128. [acedido em 2021 Jun 23]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.02.012>.
- Prescott LM, Harley JP, Klein DA. 2005. *Microbiology*. (6<sup>a</sup> ed.) New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Hartigan P, Fanning S, Fitzpatrick ES. 2011. *Veterinary microbiology and microbial disease*. (2<sup>a</sup> ed.). Chichester (West Sussex): Wiley-Blackwell, John Wiley & Sons Ltd.
- Raposo SR. 2018. Estudo preliminar de avaliação de utilização de antibióticos e biossegurança em explorações de suínos em Portugal. Dissertação de mestrado. Lisboa: Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. [acedido em 2021 Jun 23]. <http://hdl.handle.net/10400.5/16443>.
- Regulamento (CE) n<sup>o</sup> 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de novembro de 2003, relativo ao controlo de salmonelas e outros agentes zoonóticos específicos de origem alimentar. *Jornal Oficial da União Europeia*, 12.12.2003, L 325. [acedido em 2021 Jun 18].
- Regulamento (CE) n<sup>o</sup> 2073/2005 da Comissão Europeia, de 15 de novembro de 2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*, 22.12.2005, L 338/1. [acedido em 2021 Jun 18].
- Regulamento (CE) n<sup>o</sup> 1177/2006 da Comissão Europeia, de 01 de agosto de 2006, que aplica o Regulamento (CE) n<sup>o</sup> 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativamente à utilização de métodos específicos de controlo no âmbito dos programas nacionais de controlo de salmonelas nas aves de capoeira. *Jornal Oficial da União Europeia*, 02.08.2006, L 212/13. [acedido em 2021 Jun 18].
- Regulamento (UE) n<sup>o</sup> 2017/625 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 15 de março de 2017, relativo aos controlos oficiais e outras atividades oficiais que visam assegurar a aplicação da legislação em matéria de géneros alimentícios e alimentos para animais e das regras sobre saúde e bem-estar animal, fitossanidade e produtos

- fitofarmacêuticos, que altera os Regulamentos (CE) nº 999/2001, (CE) nº 396/2005, (CE) nº 1069/2009, (CE) nº 1107/2009, (UE) nº 1151/2012, (UE) nº 652/2014, (UE) nº 2016/429 e (UE) nº 2016/2031 do Parlamento Europeu e do Conselho, os Regulamentos (CE) nº 1/2005 e (CE) nº 1099/2009 do Conselho, e as Diretivas nº 98/58/CE, nº 1999/74/CE, nº 2007/43/CE, nº 2008/119/CE e nº 2008/120/CE do Conselho, e que revoga os Regulamentos (CE) nº 854/2004 e (CE) nº 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, as Diretivas nº 89/608/CEE, nº 89/662/CEE, nº 90/425/CEE, nº 91/496/CEE, nº 96/23/CE, nº 96/93/CE e nº 97/78/CE do Conselho e a Decisão nº 92/438/CEE do Conselho (Regulamento sobre os controlos oficiais). *Jornal Oficial da União Europeia*, 07.04.2017, L 95/1. [acedido em 2020 Jul 7].
- Resolução do Parlamento Europeu de 11 de dezembro de 2012. O desafio microbiano — a ameaça crescente da resistência antimicrobiana (2012/2041 (INI)). *Jornal Oficial da União Europeia*, 23.12.2015, C 434/6. [acedido em 2019 Out 7].
- Sahlström L, Virtanen T, Kyyrö J, Lyytikäinen T. 2014. Biosecurity on Finnish cattle, pig and sheep farms – results from a questionnaire. *Preventive Veterinary Medicine* 117(1):59-67. [acedido em 2021 Jun 15]. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.07.004>.
- Schrijver R, Stijntjes M, Rodríguez-Baño J, Tacconelli E, Rajendran NB, Voss A. 2018. Review of antimicrobial resistance surveillance programmes in livestock and meat in EU with focus on humans. *Clin Microbiol Infect.* 24:577-590 [acedido em 2021 Jun 8]. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.09.013>.
- Schwarz S, Cavaco LM, Shen J, Aarestrup FM. 2018. Antimicrobial resistance in bacteria from livestock and companion animals. Washington (DC): ASM Press. ISBN: 978-1-683-67052-0.
- Skarp CPA; Hänninen ML; Rautelin HIK. 2016. Campylobacteriosis: the role of poultry meat. *Clin Microbiol Infec.* 22(2):103-109. [acedido em 2021 Jun 15]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.11.019>.
- Torrence ME, Isaacson RE. 2003. Microbial food safety in animal agriculture: current topics (1ª ed.) Iowa: Iowa State Press. [acedido em 2021 Jun 8]. <https://doi.org/10.1002/9780470752616.ch22>.
- Uzunian A, Birner E. 2004. *Biologia*. (2ª ed.). São Paulo: HARBRA Ltda.
- [VMD] Veterinary Medicines Directorate. 2019. UK One Health Report Joint report on antibiotic use and antibiotic resistance, 2013–2017. Surrey: VMD. [acedido em 2020 Jul 7].
- Waglechner N, Wright GD. 2017. Antibiotic resistance: it's bad, but why isn't it worse? *BMC Biology*. 15:84. [acedido em 2021 Jun 23]. doi 10.1186/s12915-017-0423-1.
- Watson DH. 2004. Pesticide, veterinary and other residues in food. Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. [acedido em 2021 Jun 23]. <https://doi.org/10.1016/B978-1-85573-734-1.50030-7>.
- [WHO] World Health Organisation. 2017. WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. Geneva: WHO. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO [acedido em 2021 Jun 8]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550130>.
- [WHO] World Health Organization. [date unknown]. Our values, our DNA. Geneva: WHO [acedido em 2020 Jul 7]. <https://www.who.int/about/who-we-are/our-values>.

[WHO] World Health Organization. 2015. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Genebra: WHO. [acedido em 2020 Ago 21]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>.

[WHO] World Health Organization. 2018. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. 6ª revisão. Genebra: WHO [acedido em 2021 Jun 8]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/312266>.

Willey JM, Sandaman KM, Wood DH. 2020. Prescott's Microbiology. 11ª ed. New York: McGraw-Hill Education.

## **Anexo I: Plano de Vigilância das Resistências aos Antimicrobianos**

### **1. Enquadramento**

O Programa de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos (adiante designado PVRAM) tem por objetivo a vigilância tendo em vista a comunicação de dados de forma harmonizada, relativamente à resistência aos antimicrobianos (RAM) em conformidade com o artigo 7.º, n.º 3, e o artigo 9º, n.º 1, da Diretiva nº 2003/99/CE e com o anexo II, ponto B, e o anexo IV da mesma (transposta para o direito nacional pelo Decreto-Lei n.º 193/2004 de 17 de Agosto).

O PVRAM cumpre a Decisão de Execução nº 2013/652/UE da Comissão Europeia, de 12 de novembro de 2013 que estabelece regras pormenorizadas para a vigilância e comunicação de dados harmonizados sobre resistência antimicrobiana (RAM) e determina que a vigilância e a comunicação de dados deve abranger determinadas bactérias, obtidas de amostras de determinadas populações de animais destinados à produção de alimentos.

### **2. Base legal**

Decisão nº 2013/652/UE, de 12 de novembro de 2013, relativa à vigilância e comunicação de dados sobre a resistência antimicrobiana em bactérias zoonóticas e comensais.

Decreto-Lei nº 193/2004, de 17 de agosto, que transpõe para a ordem jurídica nacional a Diretiva nº 2003/99/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de novembro, relativa à vigilância das zoonoses e dos agentes zoonóticos.

Regulamento (CE) nº 2073/2005, de 15 de novembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios e suas alterações no Regulamento (CE) nº 1441/2007 de 5 dezembro, Regulamento (UE) nº 365/2010, de 28 de abril e Regulamento (UE) nº 1086/2011, de 27 de outubro).

### **3. Conceção do plano de amostragem**

A conceção do plano de amostragem segue as diretrizes da Decisão 2013/652/UE, que determina que os EM devem realizar em anos alternados, a amostragem e os testes de sensibilidade antimicrobiana previstos nos artigos 2.º e 4.º para cada combinação de espécie bacteriana e tipo de amostra, de acordo com a seguinte rotação:

- Nos anos 2014, 2016, 2018 e 2020, galinhas poedeiras, frangos de carne e respetiva carne fresca e perus de engorda;

- Nos anos 2015, 2017 e 2019, suínos, bovinos com menos de 1 ano de idade, carne de suíno e carne de bovino.

A vigilância deve abranger as seguintes bactérias:

- *Salmonella* spp.;
- *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*;
- Indicador comensal *Escherichia coli*;
- Indicadores comensais *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*;
- *Salmonella* spp e *E. coli* produtora das seguintes enzimas:  $\beta$ -lactamases de largo espetro (ESBL),  $\beta$ -lactamases AmpC (AmpC) e Carbapenemases (CP).

#### 4. Origem dos isolados:

##### 4.1. *Salmonella* spp:

- Galinhas poedeiras frangos e perus: Amostras provenientes da produção primária, colhidas no âmbito no Plano Nacional de controlo de Salmonella em conformidade com o artigo 5.º, n.º 1 do Regulamento (CE) nº 2160/2003;
- Carcaças de frangos e perus de engorda, sujeitas a amostragem para ensaio e verificação da conformidade de acordo com o anexo I, capítulo 2, pontos 2.1.5, do Regulamento (CE) nº 2073/2005;
- Carcaças de suínos de engorda, sujeitas a amostragem para ensaio e verificação da conformidade de acordo com o anexo I, capítulo 2, pontos 2.1.4, do Regulamento (CE) nº 2073/2005;
- Carcaças de bovinos com menos de 1 ano de idade, sujeitos a amostragem para ensaio e verificação da conformidade de acordo com o anexo I, capítulo 2, pontos 2.1.3, do Regulamento (CE) nº 2073/2005. Obrigatório apenas quando a produção de carne desses bovinos corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano

##### 4.2. *Campylobacter jejuni*:

- Amostras cecais de frangos de carne e perus de engorda, colhidas nos matadouros. Relativamente aos perus a amostragem só é obrigatória se a produção de carne de peru corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano, condição que se verifica em Portugal.

#### 4.3. Indicador comensal *E. coli*:

- Amostras cecais de frangos de carne e perus de engorda, colhidas nos matadouros, se a produção de carne de peru corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano, condição que se verifica em Portugal;
- Amostras cecais de suínos de engorda e de bovinos com menos de 1 ano de idade, se a produção de carne desses bovinos corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano, condição que se verifica em Portugal.

#### 4.4. *E. coli* produtora de ESBL, AmpC e Carbapenemases:

- Amostras cecais de frangos de carne e perus de engorda, colhidas nos matadouros, se a produção de carne de peru corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano;
- Amostras cecais de suínos de engorda e de bovinos com menos de 1 ano de idade, se a produção de carne desses bovinos corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano;
- Amostras de carne fresca de frangos, carne fresca de suínos e carne fresca de bovinos, colhidas no comércio de retalho.

#### 4.5. *Campylobacter coli*:

A execução de testes de sensibilidade aos antimicrobianos em isolados de *C. coli* **não é obrigatória de acordo com a Decisão em vigor**. Se um EM decidir efetuá-los, os isolados deverão ter origem em:

- Amostras cecais de frangos colhidas nos matadouros aquando do abate;
- Amostras cecais de suínos colhidos nos matadouros aquando do abate.

#### 4.6. *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*:

A execução de testes de sensibilidade aos antimicrobianos em isolados de *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* é não é obrigatória. Se um EM decidir efetuá-los, os isolados deverão ter origem em:

- Amostras cecais de frangos de carne e de perus de engorda colhidas aquando do abate, se a produção de carne de peru corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano;

- Amostras cecais de suínos e bovinos com menos de 1 ano, se a produção de carne desses bovinos corresponder a um volume de abate superior a 10 000 toneladas por ano;

Podem ser incluídos isolados obtidos a partir de uma origem diferente das referidas nas alíneas a) a f) sendo testados para deteção da RAM numa base facultativa. Estes dados devem ser indicados separadamente quando comunicados e têm que respeitar os requisitos técnicos específicos dos pontos 3, 4 e 5 da Parte A do Anexo da Decisão 2013/652/UE, nomeadamente:

- Painel de substâncias antimicrobianas a incluir da determinação da suscetibilidade de cada espécie bacteriana;
- Valores limite (Cut-off) epidemiológicos do EUCAST;
- Gama de concentrações a utilizar nos testes;
- Inclusão do 2º painel de antimicrobianos para testar os isolados resistentes às cefalosporinas de terceira geração.

## Anexo II: Pannel de substâncias antimicrobianas

Tabela 11: Pannel de substâncias antimicrobianas para cada agente microbiano monitorado no PVRAM

<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella</i> spp, indicador comensal <i>E. coli</i> e <i>E. coli</i> produtora de ESBL, AmpC e Carbapenemases (primeiro painel)	<i>Salmonella</i> spp, indicador comensal <i>E. coli</i> e <i>E. coli</i> produtora de ESBL, AmpC e Carbapenemases (segundo painel)	Indicador comensal <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Enterococcus faecium</i>
<p>Ácido Nalidixico; Ciprofloxacina; Eritromicina; Estreptomicina; Gentamicina; Tetraciclina.</p>	<p>Ácido Nalidíxico; Ampicilina; Azitromicina; Cefotaxima; Ceftazidima; Ciprofloxacina; Cloranfenicol; Colistina; Gentamicina; Meropenem; Sulfametoxazol; Tetraciclina; Tigeciclina; Trimetoprim.</p>	<p>Cefepima; Cefotaxima + Ácido Clavulânico; Cefotaxima; Cefoxitina; Ceftazidima + Ácido Clavulânico; Ceftazidima; Ertapenem; Imipenem; Meropenem; Temocilina.</p>	<p>Ampicilina; Ciprofloxacina; Cloranfenicol; Daptomicina; Eritromicina; Gentamicina; Linezolid; Quinupristina/Dalfopristina; Teicoplanina; Tetraciclina; Tigeciclina; Vancomicina.</p>

**Anexo III: Lista de antimicrobianos, categorizados por classes e por importância de resistência (WHO CIA list, 2018)**

**Tabela 12: Categorização, por classes e importância de resistência, dos antimicrobianos incluídos no PVRAM, baseado na lista da OMS de 2018**

Classes de antimicrobianos	Antimicrobianos	criticamente importante		
		Prioridade máxima	Alta prioridade	Altamente importante
<b>Aminoglicosídeos</b>	Gentamicina; Estreptomicina		X	
<b>Anfenicóis</b>	Cloranfenicol			X
<b>Carbapenêmicos e outros penêmicos</b>	Ertapenem; Imipenem; Meropenem		X	
<b>Cefalosporinas (1ª e 2ª geração) e cefamicinas</b>	Cefoxitina			X
<b>Cefalosporinas (3ª, 4ª e 5ª geração)</b>	Cefepima; Cefotaxima; Cefotaxima/ácido clavulânico; Ceftazidima; Ceftazidima/ácido clavulânico	X		
<b>Glicilciclinas</b>	Tigeciclina		X	
<b>Macrólidos e cetolídeos</b>	Azitromicina; Eritromicina	X		
<b>Penicilinas (aminopenicilinas)</b>	Ampicilina; Temocilina		X	
<b>Polimixinas</b>	Colistina	X		
<b>Quinolonas e fluoroquinolonas</b>	Ciprofloxacina; Ácido Nalidíxico	X		
<b>Sulfonamídeos, inibidores e combinações de dihidrofolato redutase</b>	Sulfametazol; Trimetoprim			X
<b>Tetraciclinas</b>	Tetraciclina			X