



2023
número
especial 15
2ª série

One Health

Lisboa_INSA, IP

n. especial 15 2023_One Health

ISSN: 2183-8873 (em linha)

Observações

Boletim Epidemiológico

sumário

Editorial

One Health/Uma Só Saúde e a Cooperação com a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP) p02
One Health and the Cooperation with the Community of Portuguese Speaking Countries (CPLP)

Fernando de Almeida

Artigos breves

Vigilância epidemiológica de base laboratorial

1_ Projeto da melhoria da qualidade laboratorial (ProMeQuaLab): Uma Só Saúde nos Países de Língua Portuguesa p04
Laboratory quality improvement project (ProMeQuaLab): One Health in Portuguese-speaking Countries

Silvia Judite Viegas, Flávia Martinello, Sylvania da Veiga Leal, Armandina Miranda, Menilita dos Santos Barbosa, Nádya C Silva Rodrigues da Luz, Ana Faria

Preparação e resposta a surtos, epidemias e pandemias

2_ Colaboração intersetorial na investigação de surtos numa abordagem "Uma Só Saúde": resultados de um exercício de simulação a nível nacional de resposta a um surto de origem alimentar p09

Exploring One Health through collaborative intersectoral efforts in outbreak investigations: insights from a nation-level simulation exercise on response to foodborne outbreaks

Vera Manageiro, Ana Caria, Cristina Furtado; SimEx Portuguese Team, Ana Botelho, Mónica Oleastro, Sandra Cavaco Gonçalves

3_ Capacidade da força de trabalho em saúde pública e os desafios da preparação para resposta a pandemias p14
Public health capacity and the challenges for pandemic response preparedness

Marta Barreto, Arminda Rosa, Ricardo Mexia

Doenças zoonóticas

4_ Caracterização genotípica e fenotípica de estirpes de Escherichia coli patogénicas, Salmonella spp. e Campylobacter spp. isoladas de aves em liberdade em Portugal continental p20
Genotypic and phenotypic characterization of pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. in free-living birds in mainland Portugal

Rita Batista, Margarida Saraiva, Teresa Lopes, Leonor Silveira, Anabela Coelho, Rosália Furtado, Rita Castro, Cristina Belo Correia, David Rodrigues, Pedro Henriques, Sara Lóio, Vanessa Soeiro, Paulo Martins da Costa, Mónica Oleastro, Ângela Pista

5_ Escherichia coli patogénica, Salmonella spp. e Campylobacter spp. em dois Centros de Conservação da Vida Selvagem em Portugal: caracterização genotípica e fenotípica p27
Pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. in two Natural Conservation Centers of Wildlife in Portugal: genotypic and phenotypic characterization

Ângela Pista, Leonor Silveira, Sofia Ribeiro, Mariana Fontes, Rita Castro, Anabela Coelho, Rosália Furtado, Teresa Lopes, Carla Maia, Verónica Mixão, Vítor Borges, Ana Sá, Vanessa Soeiro, Cristina Belo Correia, João Paulo Gomes, Margarida Saraiva, Mónica Oleastro, Rita Batista

6_ Mycobacterium caprae: um agente zoonótico ignorado da tuberculose humana p34
Mycobacterium caprae: a disregarded zoonotic agent of human tuberculosis

Carlos Quelhas, Marta Mendes, Pedro Rosa, Sandra Cavaco

Saúde ambiental

7_ Impacto das alterações climáticas na saúde ambiental: possíveis efeitos em One Health p38
Impact of climate change on environmental health: possible effects on One Health

Elisabete Valério, João Brandão, Helena Rebelo

Alimentação e nutrição

8_ Fontes alternativas de proteínas nas dietas europeias: a contribuição do projeto ALTERNATIVA para a perspetiva One Health p44

Alternative protein sources in the European diets: the contribution of ALTERNATIVA project to One Health perspective

Ana Serôdio, Beatrice Biasini, Géraldine Boué, Elena Cozzi, Michel Federighi, Lea Jakobsen, Carla Martins, Davide Menozzi, Carla Motta, Androniki Naska, Katerina Niforou, Marta Pavel, Sara Pires, Morten Poulsen, Ricardo Assunção

One Health/ Uma Só Saúde e a Cooperação com a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP)

One Health and the Cooperation with the Community of Portuguese Speaking Countries (CPLP)

O conceito *One Health* / Uma Só Saúde transmite uma abordagem integrada e colaborativa para a saúde humana, animal e ambiental. É o reconhecimento que a saúde de pessoas, animais e ecossistemas estão intimamente interligados e que a preservação da saúde de um componente influencia diretamente os outros.

Isso inclui a prevenção e controle de doenças infecciosas, vigilância epidemiológica, saúde ambiental e a promoção da saúde em todas as suas dimensões.

Nas últimas duas décadas, a investigação no domínio da saúde tem vindo a confrontar-se com problemas cada vez mais complexos e cada vez mais globais. Muitos destes problemas, porventura inevitáveis, surgem associados a: i) um desequilíbrio da dinâmica de crescimento da população humana - segundo as estimativas das Nações Unidas a população global atingiu, em 2022, 8 mil milhões de habitantes; ii) consequente expansão da população global para novas áreas geográficas, mas também a uma rápida urbanização e agregação populacional, uma agropecuária intensiva, a desflorestação crescente, a fragmentação dos habitats, a deterioração dos solos, dos recursos hídricos e dos ecossistemas, a perda de biodiversidade, mudanças climáticas e um risco, cada vez maior, de (re)emergência de doenças infecciosas com potencial zoonótico e pandémico, dado o contacto próximo do homem com animais domésticos e selvagens; iii) a mobilização de pessoas, animais e produtos alimentares aumentou do ponto de vista de viagens e de trocas comerciais e, deste modo, as doenças infecciosas podem atravessar, muito rapidamente, fronteiras e dar a volta ao mundo em apenas algumas horas.

Estas transformações têm facilitado a propagação de doenças zoonóticas conhecidas (endémicas), mas também de novas doenças ou emergentes, que se propagam entre os animais e os humanos.

As organizações como a *World Health Organization* (WHO) ou a *Food and Agriculture Organization* (FAO) começaram por implementar e desenvolver o conceito de “Uma só Medicina” (*One Medicine*), com o objetivo de sublinhar a necessidade de um esforço de coordenação e colaboração entre as duas medicinas – a medicina humana e a medicina veterinária – para tornar a saúde pública mais robusta e mais preparada para responder aos perigos e aos desafios colocados por este novo mundo globalizado.

Porém, reconhecendo-se que a saúde humana não era, apenas, determinada pela condição clínica do indivíduo ou da população, mas, também, pela interação que este ou esta mantém com o ambiente que o rodeia, e do qual faz parte, o conceito de “Uma só medicina” acabou por evoluir para o conceito de “Uma só saúde” (*One Health*), isto é, uma tríada que passa a incluir Saúde humana, Saúde animal e Saúde ambiental.

No contexto da CPLP (Comunidade dos Países de Língua Portuguesa), o conceito *One Health* / Uma Só Saúde tem sido debatido e considerado como uma estratégia importante para lidar com desafios de saúde compartilhados pelos países-membros.

A CPLP, através do seu *Plano Estratégico de Cooperação em Saúde (PECS) 2023-2027* tem vindo a promover discussões e ações conjuntas na área da saúde humana e animal, reconhecendo a sua interação e a necessidade de abordagens integradas.

Através de iniciativas como a cooperação técnica e científica, intercâmbio de informações e experiências, a CPLP procura fortalecer a capacidade dos países-membros em lidar com questões de saúde pública e animal de forma mais eficaz e sustentável.

Foi imbuído deste espírito e na linha do PECS-CPLP 2023-2027 que o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge - Portugal (INSA) e o Instituto Nacional de Saúde Pública de Cabo Verde (INSP), com o apoio do Secretariado Executivo da Comunidade dos Países de Língua Oficial Portuguesa (CPLP), organizaram, de 12 a 14 de outubro, a I Conferência “One Health / Uma Só Saúde” da CPLP, em Cabo Verde – na Cidade de Santa Maria - SAL.

Esta Conferência reuniu os contributos de vários peritos associados aos vários ministérios (Saúde, Ambiente, Ciência, Agricultura...) dos países que integram a CPLP e, ainda, da WHO, *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) - África, FAO, entre outros.

Marcaram presença mais de 75 conferencistas e foram apresentadas 25 comunicações / conferências, integradas no conceito - ONE HEALTH / UMA SÓ SAÚDE, das áreas (Ministérios) da Saúde, Ambiente, Comércio e Alimentação / Nutrição, Regulação, Agricultura e Veterinária, Academia, Defesa do Brasil, Cabo Verde, Guiné, Portugal (INSA e Instituto de Higiene e Medicina Tropical-IHMT), e São Tomé e Príncipe.

Em resultado de um intenso e profícuo debate de ideias durante este congresso, resultou a aprovação de uma [Carta de Santa Maria](#) que, entre outras recomendações, aponta a necessidade de reforçar mecanismos de diálogo e coordenação entre as áreas da ciência e da política visando o fortalecimento da atuação da conjunta na CPLP em matéria de capacitação, partilha de experiências, iniciativas em rede, desenvolvimento de parcerias e promoção de respostas coletivas e solidárias, de curto, médio e longo prazo, que contribuam para a melhoria dos processos de tomada de decisão e formulação de políticas públicas sustentáveis.

Fernando de Almeida

Presidente do Conselho Diretivo do
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Projeto da melhoria da qualidade laboratorial (ProMeQuaLab): Uma Só Saúde nos Países de Língua Portuguesa

Laboratory quality improvement project (ProMeQuaLab): One Health in Portuguese-speaking Countries

Silvia Judite Viegas¹, Flávia Martinello³, Silvania da Veiga Leal², Armandina Miranda¹, Menilita dos Santos Barbosa², Nádía C Silva Rodrigues da Luz², Ana Faria¹

silvia.viegas@insa.min-saude.pt

(1) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Instituto Nacional de Saúde Pública, Cabo Verde

(3) Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil

_Resumo

A abordagem de “Uma só Saúde” é essencial para identificar, monitorizar, controlar, prevenir e erradicar as doenças transmissíveis entre o homem e os animais, permitindo uma vigilância epidemiológica eficaz. A qualidade dos dados de diagnóstico laboratorial de doenças de origem humana e animal, é imprescindível para a vigilância epidemiológica de base laboratorial eficaz das zoonoses.

O ProMeQuaLab (Projeto da Melhoria da Qualidade Laboratorial) visa a capacitação de técnicos no diagnóstico laboratorial, para avaliação, monitorização e otimização do desempenho das metodologias utilizadas, de modo a gerar informação harmonizada, padronizada e comparável, que possa ser partilhada para ser avaliada epidemiologicamente.

As atividades na área clínica humana já realizadas neste projeto desde 2015, foram alargadas à área veterinária desde 2023, com planeamento de aplicação de questionários para caracterizar os laboratórios veterinários, avaliar o seu nível de implementação do controlo da qualidade, identificar necessidades de formação, e implementar melhoria da capacidade instalada e formação de profissionais.

Os documentos já produzidos e os profissionais já formados no âmbito das atividades do ProMeQuaLab serão multiplicadores do conhecimento para aplicação na área veterinária.

Promover “Uma Só Saúde” exige ampliar oportunidades de formação e profissionais no diagnóstico laboratorial, fortalecendo laboratórios para oferecer serviços de alta qualidade e contribuir para promoção da saúde humana e animal.

_Abstract

The One-Health approach is essential to identify, monitor, control, prevent and eradicate diseases communicable between humans and animals, enabling effective epidemiological surveillance. The quality of laboratory diagnostic data for diseases of human and animal origin is essential for effective laboratory-based epidemiological surveillance of zoonoses.

ProMeQuaLab (Laboratory Quality Improvement Project) aims to train technicians in laboratory diagnosis to evaluate, monitor and optimize the performance of the methodologies used, in order to generate harmonized, standardized and comparable information, which can be shared for epidemiological investigation.

Activities in the human clinical area already carried out in this project since 2015, have been extended to the veterinary area since 2023, with

planning to apply questionnaires to characterize veterinary laboratories, evaluate their level of implementation of quality control, identify training needs, and implement improvements in installed capacity and training of professionals.

The technical and scientific documents already produced and the professionals already trained within the scope of ProMeQuaLab activities will be multipliers of knowledge for application in the veterinary field.

Promoting One Health requires expanding training opportunities and professionals in laboratory diagnosis, strengthening laboratories to offer high-quality services contributing to the promotion of human and animal health.

_Introdução

A abordagem de “Uma Só Saúde” abrangendo a integração da saúde humana e animal e o ambiente, é essencial para identificar, monitorizar, controlar, prevenir e erradicar as doenças transmissíveis entre o homem e os animais, permitindo uma vigilância epidemiológica eficaz.

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) possui um histórico no desenvolvimento e implementação de competências na área da qualidade laboratorial, tendo iniciado em 1978 o Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade laboratorial em Portugal. Neste âmbito, e dando ênfase à formação e à difusão do conhecimento, o INSA iniciou em 2015 o projeto ProMeQuaLab - Projeto de Melhoria da Qualidade Laboratorial para Países de Língua Portuguesa, visando a aplicação de boas práticas laboratoriais (1-3) para obtenção de resultados fiáveis que contribuam para a melhoria do diagnóstico laboratorial com benefício direto para as instituições e para a população em geral dos países envolvidos. As atividades desenvolvidas com foco na área clínica foram: 1) caracterização de laboratórios nos

artigos breves_ n. 1

países envolvidos e identificação de necessidades de formação, através da resposta a questionários e de visitas aos laboratórios, 2) formação teórica e prática à distância e localmente, através de cursos ministrados em congressos bianuais do ProMeQualab e outras ações de formação e 3) implementação das ferramentas e da metodologia de controlo interno da qualidade laboratorial, adaptando-as às condições locais e recursos humanos e materiais existentes.

Dada a importância emergente de trabalhar “Uma Só Saúde”, o ProMeQualab alargou o seu âmbito em 2023, de modo a vocacionar as suas atividades também para a melhoria da qualidade de dados laboratoriais de saúde animal, no âmbito da vigilância epidemiológica de base laboratorial das zoonoses transmissíveis ao homem. Deste modo, participou na mesa redonda - Qualidade Laboratorial e resposta em *One Health*, em outubro de 2023 na 1.ª Conferência CPLP *One Health | Uma só Saúde*, com a apresentação oral *A importância do controlo da qualidade na realização dos exames laboratoriais e referenciais normativos*.

_Objetivo

Este trabalho pretende apresentar os resultados e conclusões referentes à identificação de metodologias de controlo da qualidade laboratorial aplicadas nos laboratórios clínicos dos países de língua portuguesa, no diagnóstico das zoonoses em humanos e animais, e na sua implementação ou melhoria, visando fortalecer a capacidade laboratorial, até 2026.

_Metodologia

Replicar em 2024-2026 na área veterinária, a metodologia implementada pelo ProMeQualab na área clínica:

1) agendar a partir de 2024 reuniões com participantes do ProMeQualab dos vários países de língua portuguesa (PLP), para caracterização dos laboratórios veterinários e do grau de implementação do Controlo da Qualidade Laboratorial, assim como identificação de necessidades de formação, para realização de ações de formação visando a melhoria da capacidade instalada;

- 2) identificar pontos-focais de laboratórios veterinários nos diferentes países (Moçambique, S. Tomé-Príncipe, Guiné-Bissau, Cabo Verde, Brasil, Angola, Timor, Portugal);
- 3) identificar os laboratórios veterinários que queiram integrar o projeto ProMeQualab;
- 4) elaborar questionários para identificação de metodologias laboratoriais utilizadas para controlo da qualidade em laboratórios veterinários (2) (tipo de laboratório, áreas de atividade, equipamento existente, capacitação de recursos humanos, controlo interno da qualidade (CIQ) implementado, participação em programas de avaliação externa da qualidade (AEQ), sistema de gestão da qualidade, formação);
- 5) distribuir os questionários;
- 6) receber as respostas e análise;
- 7) identificar as necessidades de formação para melhoria do desempenho das metodologias utilizadas
- 8) planejar a formação;
- 9) realizar a formação;
- 10) avaliar a formação;
- 11) analisar os resultados globais: questionários e necessidades de formação;
- 12) elaborar relatório final;
- 13) visitar laboratórios com peritos, para registo de observações;
- 14) implementar o CIQ;
- 15) desenvolver condições e capacitação para AEQ, após implementação de CIQ;
- 16) definir especificações da qualidade e indicadores da qualidade;
- 17) elaborar documentação e fichas de trabalho;
- 18) divulgar o trabalho em congressos bianuais do ProMeQualab.

Encontra-se em desenvolvimento o *website* do projeto, que ajudará na divulgação das atividades e na comunicação com os técnicos dos laboratórios dos países envolvidos (<https://promequalab.org.cv/>).

_Resultados e discussão

No âmbito da área clínica, foram realizados pelo ProMeQualab desde 2015:

- **Cinco congressos bianuais**, com uma participação média de 100 participantes (2015, Brasil; 2017, Portugal; 2019, Moçambique; 2021, Cabo Verde; 2023, Brasil). Desde 2017, em média 10 cursos por congresso, com a presença de 60 formandos em média (**figura 1**).
- **Visita a Laboratórios** e distribuição de questionários: 2015 - 14 laboratórios em Maputo (estudo-piloto), 2017- 3 laboratórios em S. Tomé e Príncipe e 2022-3 laboratórios na Guiné-Bissau e em 2023 visita a 3 laboratórios em Cabo Verde (**gráfico 1 e 2**).
- **Dois Manuais de trabalho**: Manual do serviço de atendimento ao cliente, manual de recolha e receção de amostras, procedimento de controlo interno da qualidade e folha de cálculo (CV%) (**1-3**).

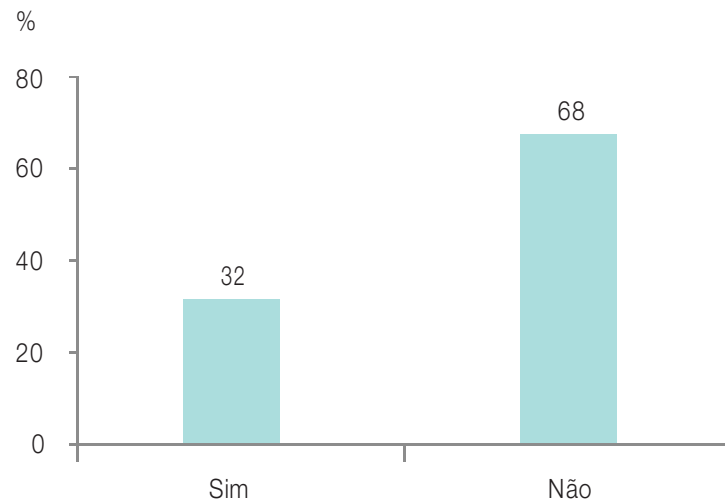
No âmbito da área veterinária, estão em curso e foram realizados pelo ProMeQualab desde 2023:

- **Uma apresentação oral** “A importância do controlo da qualidade na realização dos exames laboratoriais e referenciais normativos” - “Qualidade Laboratorial e resposta em *One Health* na 1.ª Conferência CPLP – *One Health* |Uma só Saúde, realizada de 12-14 outubro 2023 em Cabo Verde, Ilha do Sal – Santa Maria. Foi dada a conhecer o projeto e estabeleceram-se contactos com outras áreas laboratoriais.
- **Adaptação para a área veterinária dos questionários** elaborados para a área clínica humana, para serem distribuídos visando a caracterização da capacitação do Controlo da Qualidade Laboratorial em laboratórios veterinários, com foco na caracterização dos laboratórios, nomeadamente áreas de atividade, equipamento existente, grau de implementação do controlo de qualidade laboratorial.
- **O plano de formação** elaborado para a área clínica será divulgado para a área veterinária. Prevê-se a realização de 6 módulos de formação nas áreas: Pré-analítica, analítica, pós-analítica, Garantia da qualidade, Gestão da qualidade laboratorial e de um módulo para apresentação de temas livres e ou apresentação de resultados locais.

Figura 1: ↓ Exemplo de um curso de Controlo da qualidade laboratorial realizado no 3.º Congresso CQL-PLP, Moçambique, 2019.

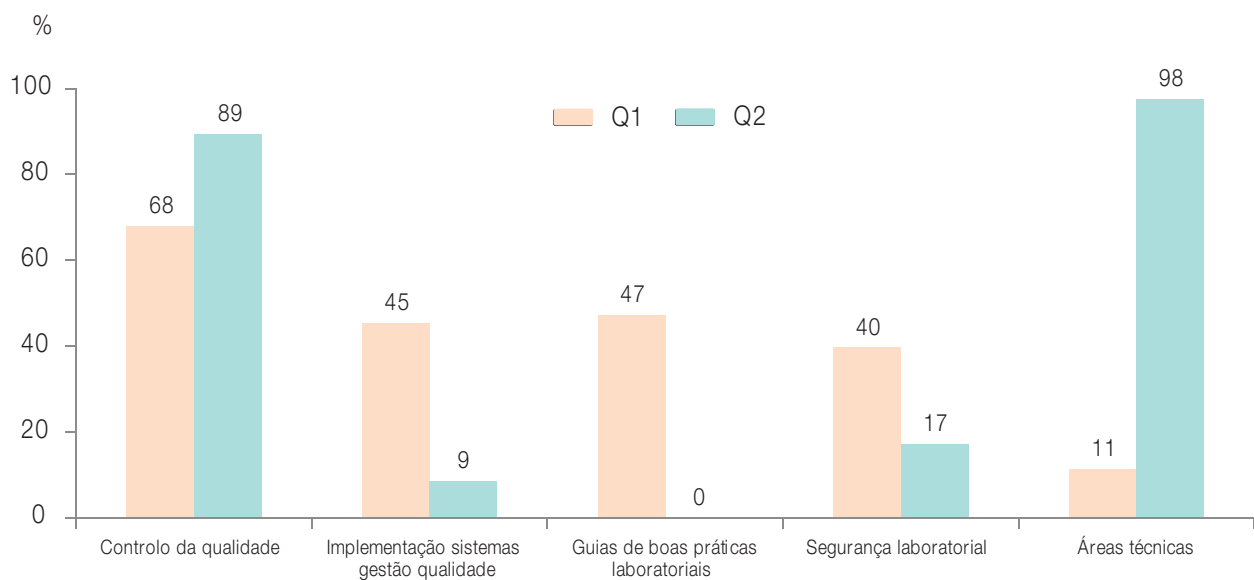


Gráfico 1: Resultados obtidos relativamente elaboração do Manual de colheitas pelos laboratórios no âmbito da sua avaliação e caracterização, 2015.



Q2: 47 respostas Moçambique (39), S. Tomé e Príncipe (5), Guiné Bissau (1), Angola (1), Brasil (1).

Gráfico 2: Resultados obtidos relativamente às necessidades de formação indicadas pelos laboratórios no âmbito da sua avaliação e caracterização, 2015.



Q1: 53 respostas: Portugal (33), Cabo Verde (6), Moçambique (6), Angola (4), Brasil (3), S. Tomé e Príncipe (1);

Q2: 47 respostas Moçambique (39), S. Tomé e Príncipe (5), Guiné Bissau (1), Angola (1), Brasil (1)

_Conclusões

Na área clínica, com as respostas aos questionários e as visitas aos laboratórios dos países de língua portuguesa, observou-se grande variabilidade dos processos entre os laboratórios participantes dos diferentes países. Apesar disso, os profissionais participaram presencialmente e/ou remotamente em congressos e ações de formação realizados pelo ProMeQuaLab. Tendo em vista o número de profissionais que atuam tanto na área humana como animal, é preciso ampliar a oferta de formações e de formandos promovendo a monitorização, atualização e melhoria contínua da qualidade laboratorial.

Os Manuais, Procedimentos e Fichas de Cálculo elaborados permitem a todos os membros do ProMeQuaLab implementar e monitorizar indicadores, harmonizar práticas e comparar resultados.

A capacitação de técnicos no diagnóstico laboratorial das doenças em humanos e em animais, na avaliação, monitorização e otimização do desempenho das metodologias utilizadas, promoverá a produção de informação harmonizada, padronizada e comparável, que assim poderá ser partilhada para ser avaliada epidemiologicamente, promovendo “Uma só Saúde”.

Referências bibliográficas:

- (1) ISO 15189:2022, Medical Laboratories – Requirements for Quality Competence.
- (2) ISO/IEC 17025:2017, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
- (3) CLSI C24-A3 2006, Statistical Quality Control for Quantitative Measurements Procedures: Principles and Definitions, Approved Guideline, 3rd ed.

Colaboração intersetorial na investigação de surtos numa abordagem "Uma Só Saúde": resultados de um exercício de simulação a nível nacional de resposta a um surto de origem alimentar

Exploring One Health through collaborative intersectoral efforts in outbreak investigations: insights from a nation-level simulation exercise on response to foodborne outbreaks

Vera Manageiro¹, Ana Caria², Cristina Furtado¹; SimEx Portuguese Team*, Ana Botelho³, Mónica Oleastro⁴, Sandra Cavaco Gonçalves³

vera.manageiro@insa.min-saude.pt; sandra.cavaco@iniav.pt

(1) Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Divisão de Epidemiologia e Saúde Animal. Direção-Geral da Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal.

(3) Laboratório de Bacteriologia e Micologia. Laboratório Nacional de Referência para a Saúde Animal, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras, Portugal

(4) Laboratório Nacional de Referência das Infeções Gastrointestinais. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

* Lista completa da equipa portuguesa do SimEx disponível no fim do artigo.

_Resumo

A colaboração intersetorial é uma componente essencial da abordagem "Uma Só Saúde" (*One Health*), que reconhece a interligação entre a saúde dos seres humanos, dos animais e do ambiente. O Programa OHEJP (*One Health European Joint Programme*) desenvolveu um exercício nacional de simulação de surtos de origem alimentar (OHEJP SimEx) com o objetivo de promover a capacitação e interoperabilidade entre os setores da saúde pública, saúde animal e segurança alimentar.

Em Portugal, o OHEJP SimEx destacou a importância do conhecimento dos sistemas disponíveis, das limitações da legislação existente, da importância da harmonização e partilha de dados e da elaboração de mensagens comuns adaptadas a cada setor-alvo.

No entanto, há ainda um longo caminho a percorrer para assegurar a cooperação entre os vários setores, uma vez que uma abordagem de "Uma Só Saúde" depende não só da sensibilização e formação dos "especialistas no terreno", mas também da vontade e do empenho políticos e organizacionais.

_Abstract

Collaboration across sectors is a crucial element of the One Health approach, acknowledging the interdependence of human, animal, and environmental health. The One Health European Joint Programme (OHEJP) has developed a national outbreak simulation exercise (OHEJP SimEx) with the aim of promoting capacity building and interoperability among the public health, animal health, and food safety sectors.

In Portugal, the OHEJP SimEx highlighted the importance of understanding available systems, the limitations of existing legislation, the significance of harmonising and sharing data, and crafting common messages tailored to each target sector.

Nevertheless, achieving cooperation across diverse sectors remains a considerable challenge, as the success of the One Health approach relies not only on raising awareness and training field experts but also on political and organisational willingness and commitment.

_Introdução

A colaboração intersetorial desempenha um papel crucial na abordagem "Uma Só Saúde" (do inglês, *One Health*), que procura enfrentar os desafios que afetam a saúde humana, animal e ambiental. Esta abordagem requer a integração de setores como a saúde pública, a saúde animal, a segurança alimentar e o meio ambiente, visando o bem-estar global (1,2). Para alcançar esse objetivo, é essencial uma abordagem colaborativa, coordenada e transdisciplinar a nível local, regional, nacional e global (3,4).

Implementar uma colaboração "Uma Só Saúde" exige mudanças estruturais significativas, com o objetivo de facilitar a comunicação, a coordenação e a capacitação multissetorial. Apesar dos desafios, vários países, incluindo Portugal, estabeleceram iniciativas "Uma Só Saúde". O Programa OHEJP (do inglês, *One Health European Joint Programme*, <https://onehealthjep.eu/>), iniciado em 2018, é um exemplo bem-sucedido. Este programa fortaleceu a colaboração entre os Estados-membros europeus, através de consórcios de 23 países, promovendo a colaboração transdisciplinar em áreas como as zoonoses, a resistência antimicrobiana e as ameaças emergentes (5).

No âmbito do OHEJP, destaca-se o OHEJP SimEx (Exercício de simulação do *One Health European Joint Programme* <https://onehealthjep.eu/outcomes/ohejp-simex-2022>), um

exercício de simulação de um surto de origem alimentar conceptualizado para o nível nacional, que contou com a participação de 11 países europeus, incluindo Portugal. Este exercício visou praticar a interoperabilidade e a colaboração entre os setores, numa abordagem "Uma Só Saúde" (6,7), sendo o principal objetivo do OHEJP SimEx em Portugal contribuir para a melhoria da preparação nacional para enfrentar futuros surtos de doenças no âmbito "Uma Só Saúde". Os objetivos nacionais e institucionais específicos incluíram o conhecimento do trabalho desenvolvido nos diferentes setores em caso de surto de origem alimentar, a melhoria da comunicação e o reforço da importância da partilha de dados. A identificação das dificuldades, das oportunidades de melhoria e dos pontos fortes dos sistemas a nível institucional e/ou nacional foi também um objetivo a atingir.

_Objetivo

Apresentar os resultados e as principais conclusões de um exercício de simulação a nível nacional de resposta a um surto de origem alimentar numa perspectiva de "Uma Só Saúde", no âmbito do projeto europeu OHEJP.

_Métodos

Implementação do OHEJP SimEx em Portugal

Para a implementação do OHEJP SimEx, conduzido de acordo com as diretrizes da Equipa OHEJP SimEx (8), cada país designou um Líder de Exercício Nacional (NEL) e um Líder de Exercício Local (LEL) por setor (tabela 1). Este exercício, realizado em Oeiras, em junho de 2022, no Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, membro do consórcio europeu do OHEJP por Portugal, envolveu participantes dos setores da Saúde Pública, da Saúde Animal e da Segurança Alimentar, incluindo epidemiologistas, especialistas de laboratório em doenças de origem alimentar, veterinários e médicos de saúde pública (figura 1). Os NEL/LELs designaram avaliadores locais (LEs) para os setores de saúde pública e de saúde animal (tabela 1). Além dos participantes principais, observadores da saúde pública e da saúde animal contribuíram para o exercício, ampliando a representação das autoridades envolvidas, e for-

talecendo a perspetiva e a compreensão das práticas e desafios em diversos setores. Após o exercício, foi distribuído aos participantes um questionário, visando identificar pontos fortes e oportunidades de melhoria. Os resultados dessas avaliações foram analisados pela equipa portuguesa do SimEx (tabela 1), de acordo com as diretrizes da Equipa OHEJP SimEx (9).

Cenário de surto de origem alimentar

A equipa lidou com um cenário de surto de origem alimentar, causado pela bactéria *Salmonella* enterica ser. Typhimurium (S. Typhimurium), envolvendo tanto a cadeia alimentar humana quanto a dos animais de companhia. O cenário foi dividido em três partes:

1. Papel e funcionalidade dos sistemas: envolveu a atribuição de papéis e responsabilidades para as diferentes entidades envolvidas na investigação do surto, incluindo a identificação dos responsáveis por cada parte do processo e de como a comunicação e colaboração intersectorial deve ocorrer;

2. Partilha de informação: foco na importância da partilha de dados e informações entre as diferentes entidades e setores, destacando a necessidade de uma abordagem harmonizada para a recolha, análise e partilha de dados, a fim de facilitar a tomada de decisões informadas e de ações coordenadas;

3. Cooperação e comunicação: a terceira parte do cenário enfatizou a importância do trabalho em equipa e da colaboração interdisciplinar na investigação de surtos de doenças zoonóticas transmitidas por alimentos, destacando os benefícios de uma abordagem "Uma Só Saúde".

A equipa recebeu uma sequência de eventos fictícios, sendo cada uma delas introduzida faseadamente, dando oportunidade aos participantes de interpretar e responder às questões colocadas, que eram fundamentais para a resolução do exercício. No final de cada parte, houve lugar a uma discussão para identificar todos os procedimentos e circuitos de informação intersectorial necessários, que possibilitariam a melhor investigação e o controlo do surto.

Tabela 1: LÍDERES DE EXERCÍCIO E AVALIADORES DA EQUIPA PORTUGUESA DO SIMEX.

Nome	Função no SimEx Portugal	Instituto	Setor
Sandra Cavaco	Líder de Exercício Nacional / Líder de Exercício Local	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária	Saúde Animal
Vera Manageiro	Líder de Exercício Local	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge	Saúde Pública
Ana Caria	Avaliador Local	Direção-Geral da Alimentação e Veterinária	Saúde Animal
Cristina Furtado	Avaliador Local	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge	Saúde Pública

Figura 1: Principais conclusões e participantes portugueses no OHEJP SimEx.



_ Resultados da investigação do surto no contexto do cenário

Com base no cenário, após a identificação laboratorial de sete casos humanos de doença gastrointestinal causados por *S. Typhimurium*, foi submetida a notificação no sistema de vigilância nacional (que no real seria o sistema SINAVE lab, <https://sinave.min-saude.pt/SINAVE.MIN-SAUDE/login.html>), reportando à rede de saúde pública sobre o diagnóstico. A simulação da avaliação de risco pela rede de saúde pública permitiu verificar um surto a nível nacional, envolvendo diferentes regiões do país, e sem casos identificados no estrangeiro ou associados a uma história recente de viagem. Com a ativação do mecanismo de alerta pelas entidades competentes, as investigações epidemiológicas e microbiológicas foram iniciadas. O cenário foi-se desenvolvendo, simulando

a deteção de dois surtos em restaurantes, afetando um total de 45 pessoas no mesmo concelho, tendo sido recolhidas amostras fecais de 15 casos. Vários *injects* forneceram aos participantes bases para a discussão: os resultados da sequenciação total do genoma mostraram uma relação genética entre estes casos e os identificados a nível nacional; investigação epidemiológica identificou carne picada (bovina), alface *iceberg* e maçãs como possíveis fontes de contaminação alimentar; a ração crua para animais de estimação foi também considerada como uma possível fonte de transmissão, após a deteção de casos humanos sem qualquer associação aos itens alimentares suspeitos. Nestes casos, existia histórico de alimentação com ração crua para, pelo menos, um animal de estimação; a investigação de rastreabilidade dos alimentos foi realizada com base nos resultados

do inquérito epidemiológico dos casos dos dois restaurantes; os resultados identificaram um matadouro, um agricultor e um distribuidor como possíveis fontes de contaminação de carne e/ou vegetais, a estirpe de *S. Typhimurium* implicada no surto, pertencente ao ST19 e com resistência às ampicilinas, sulfonamidas, tetraciclinas, estreptomicina e fenicol, foi identificada em amostras ambientais do produtor de ração para animais de estimação e num lote de *kebab* pertencente a um distribuidor de produtos à base de carne.

_Discussão do OHEJP SimEx em Portugal

O SimEx permitiu aos participantes interagir com colegas de outros institutos/setores num ambiente de partilha de experiências (figura 1). Em Portugal, o exercício contribuiu significativamente para uma melhor compreensão dos papéis desempenhados e das responsabilidades de cada setor, bem como das formas de funcionamento a nível nacional, regional e local, reforçando as redes e a comunicação intersectorial. A discussão global focou os circuitos de comunicação das diferentes instituições/setores, proporcionando uma oportunidade para abordar a partilha de informação interna e externa numa situação de surto “Uma Só Saúde”. O exercício permitiu verificar que cada setor trabalhava separadamente (com poucas exceções), interagindo apenas com os outros setores em questões específicas ou em situações de emergência e em regime *ad hoc*. Nas emergências é feita a avaliação conjunta do alerta, mas em regime de rotina, não é habitual a partilha de informação sobre riscos ou de aspetos processuais dos diferentes setores. O SimEx demonstrou que existem sistemas de vigilância ativos e funcionais a nível institucional e nacional, com pessoas motivadas e qualificadas. Reconheceu-se a necessidade de uma formação comum em investigação de surtos, para aperfeiçoar a terminologia e as metodologias complementares.

Na abordagem específica “Uma Só Saúde”, o SimEx revelou a situação atual do país, de ausências de diretrizes, métodos e sistemas nacionais multissetoriais, refletindo-se também na comunicação intra- e intersectorial nesta matéria. Foi referido pelos participantes do OHEJP SimEx que, à data do

exercício, não existia uma equipa de intervenção específica “Uma Só Saúde”, conforme previsto no programa europeu, que permita o acesso comum a um sistema de alerta precoce para o envolvimento imediato de todas as autoridades, após emissão de um alerta. Segundo os participantes do OHEJP SimEx, a partilha automática e imediata de alertas irá contribuir para a intervenção precoce no contexto de emergência de zoonoses. A implementação de um plano nacional intersectorial, para uma abordagem “Uma Só Saúde”, foi sugerida por todos os setores, incluindo a criação de equipas de intervenção intersectoriais para investigação de surtos, a ativar sempre que necessário, bem como de orientações para apoiar a articulação entre os setores.

No que se refere à partilha intersectorial de dados, foi salientada a importância do desenvolvimento de bases de dados comuns e harmonizadas que permitam, a todos os setores, obter, comparar e analisar informações de forma integrada. Os modelos e as plataformas *online* podem ser utilizados para partilhar informações de forma rápida e eficiente (10). De facto, incentivar uma comunicação aberta e manter relações entre os parceiros da epidemiologia e dos laboratórios dos vários setores pode aumentar o sucesso de uma investigação de surto (11).

O atual quadro jurídico em Portugal assegura a abordagem intersectorial da saúde humana nas emergências de saúde pública, embora, nos fora de períodos de crise a comunicação não seja regular. O estabelecimento de interações nos períodos entre surtos melhoraria a comunicação e a troca de informações entre instituições, promovendo a intervenção e a análise intersectorial em tempo real. A preparação e a resposta a surtos são processos de melhoria contínua, pelo que a avaliação das investigações e da gestão dos surtos após a sua conclusão é fundamental. O OHEJP SimEx, permitiu aos participantes adquirirem uma melhor compreensão de como trocar informações, elaborar relatório final comum entre todos os setores e como elaborar e divulgar mensagens comuns.

_Conclusão

Os principais objetivos e metas do OHEJP SimEx em Portugal foram alcançados (figura 1), apesar de, para a maioria dos participantes, ter sido a primeira vez que foram desafiados a abordar um surto numa perspetiva de “Uma Só Saúde”. No entanto, há ainda um longo caminho a percorrer, uma vez que uma abordagem “Uma Só Saúde” necessita não só da sensibilização dos “especialistas no terreno”, o que foi conseguido com o OHEJP SimEx, mas também de enquadramento e empenho político e organizacional.

Em conclusão, o OHEJP SimEx permitiu reforçar a necessidade de várias soluções estratégicas para ultrapassar desafios operacionais, nomeadamente:

- 1) envolvimento dos parceiros e partes interessadas em iniciativas de “Uma Só Saúde” numa fase inicial;
- 2) compreensão das missões, capacidades, papéis e responsabilidades institucionais de cada setor;
- 3) desenvolvimento de políticas e quadros legais que apoiem a colaboração intersetorial; e
- 4) reforço da capacidade de colaboração intersetorial através de programas de formação que se concentrem nos princípios e práticas em “Uma Só Saúde”.

Baseado no artigo original publicado em: Manageiro V, Caria A, Furtado C; SimEx Portuguese Team, Botelho A, Oleastro M, Gonçalves SC. Intersectoral collaboration in a One Health approach: Lessons learned from a country-level simulation exercise. *One Health*. 2023 Dec;17:100649. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100649>

Financiamento:

Este trabalho foi financiado pelo *European Union's Horizon 2020 Research and Innovation programme under grant agreement No 773830: One Health European Joint Programme*.

Equipa portuguesa OHEJP SimEx (ordem alfabética): Ângela Pista (Laboratório Nacional de Referência das Infecções Gastrointestinais, Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa); João Vieira Martins (Direção de Informação e Análise, Direção-Geral da Saúde, Lisboa); Lurdes Clemente (Laboratório de Bacteriologia e Micologia, Laboratório Nacional de Referência para a Saúde Animal, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras); Nuno Santos Rodrigues (Unidade de Saúde Pública do ACES Sudoeste, Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, Lisboa); Paula Vasconcelos (Unidade de Apoio à Autoridade de Saúde Nacional e à Gestão de Emergências em Saúde, Centro de Emergências em Saúde Pública, Direção-Geral da Saúde, Lisboa); Pedro Nabais (Divisão de Riscos Alimentares, Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, Lisboa); Renata Carvalho (Divisão de Epidemiologia e Saúde Animal, Direção-Geral da Alimentação e Veterinária, Lisboa).

Referências bibliográficas:

- (1) FAO, UNEP WHO, WOA. Global Plan of Action on One Health. Towards a more comprehensive One Health, approach to global health threats at the human-animal-environment interface. Rome: FAO, UNEP, WHO, WOA, 2022. <https://doi.org/10.4060/cc2289en>
- (2) European Centre for Disease Prevention and Control. Towards One Health preparedness – Expert consultation 11–12 December 2017. Stockholm: ECDC, 2018. <https://doi.org/10.2900/047893>
- (3) de la Rocque S, Errecaborde KMM, Belot G, et al. One health systems strengthening in countries: Tripartite tools and approaches at the human-animal-environment interface. *BMJ Glob Health*. 2023 Jan;8(1):e011236. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2022-011236>
- (4) Nzietchueng S, Kitua A, Nyatanyi T, et al. Facilitating implementation of the one health approach: A definition of a one health intervention. *One Health*. 2023 Jan 25;16:100491. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100491>
- (5) Brown HL, Passey JL, Getino M, et al. The One Health European Joint Programme (OHEJP), 2018-2022: an exemplary One Health initiative. *J Med Microbiol*. 2020 Aug;69(8):1037-1039. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001228>
- (6) Artursson K, Omazic A, Alves F, et al.; One Health European Joint Program. OHEJP SimEx Scenario (v1, published April 8, 2022). <https://doi.org/10.5281/zenodo.7843626>
- (7) Alves F, Artursson K, Bloch J, et al. A multi-country One Health foodborne outbreak simulation exercise: cross-sectoral cooperation, data sharing and communication. *Front Public Health*. 2023 Jun 13;11:1121522. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1121522>
- (8) Artursson K, Omazic A, Alves F, et al.; One Health European Joint Program. OHEJP SimEx Handbook for NEL and LEL. (v1, published April 8, 2022). <https://doi.org/10.5281/zenodo.7843652>
- (9) Artursson K, Omazic A, Alves F, et al.; One Health European Joint Program. OHEJP SimEx Handbook for Evaluators (v1, published May 11, 2022). <https://doi.org/10.5281/zenodo.7843700>
- (10) One Health High-Level Expert Panel (OHHLEP); Hayman DTS, Adisasmito WB, Almuhrari S, et al. Developing One Health surveillance systems. *One Health*. 2023 Aug 21;17:100617. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100617>
- (11) Holst MM, Kramer A, Hoover ER, et al. Characteristics associated with successful foodborne outbreak investigations involving United States retail food establishments (2014-2016). *Epidemiol Infect*. 2023 Mar 20;151:e78. <https://doi.org/10.1017/S0950268823000237>

Capacidade da força de trabalho em saúde pública e os desafios da preparação para resposta a pandemias

Public health capacity and the challenges for pandemic response preparedness

Marta Barreto, Arminda Rosa, Ricardo Mexia

marta.barreto@insa.min-saude.pt

Departamento de Epidemiologia, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), Lisboa, Portugal

_Resumo

A pandemia da COVID-19 expôs a magnitude da ameaça que representam os surtos de doenças transmissíveis e a importância da força de trabalho da saúde pública na resposta adequada a esses surtos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi identificar artigos de investigação publicados sobre ferramentas desenvolvidas para identificar a capacidade ou competências de preparação para pandemias com foco na força de trabalho de institutos e agências de saúde pública.

Para o efeito, realizámos pesquisas em diversas bases de dados da área da medicina utilizando palavras de texto livre durante o mês de janeiro de 2023. A pesquisa foi realizada utilizando palavras relacionadas com a força de trabalho ou recursos humanos, capacidades, competências, preparação ou resposta, saúde pública ou pandemias ou surtos de doenças, ferramentas, padrões, modelos ou estruturas, relacionadas com institutos ou agências de saúde pública, infraestruturas ou estratégias em vários níveis de governação. Palavras paralelas foram combinadas com o operador booleano "OR" e grupos adjacentes de palavras paralelas foram combinados com um operador de proximidade. As estratégias de pesquisa consistiram em 3 a 5 conjuntos de palavras por pesquisa, os quais foram combinados com o operador restritivo "AND". Os resultados foram refinados temporalmente (2009-2023), por países/regiões (países europeus, Austrália, Nova Zelândia, Canadá e EUA) e por idioma (Inglês). Como resultado, foram resgatados 883 artigos. Destes, foram identificados 11 duplicados, os quais foram retirados de nossa análise. Dos 872 artigos restantes, 13 foram incluídos e 859 foram excluídos por não cumprirem os critérios de inclusão definidos.

A análise preliminar relativa à pesquisa bibliográfica identificou 10 artigos de investigação publicados entre 2009 e 2022 sobre ferramentas desenvolvidas para avaliar a capacidade ou competências de preparação para pandemias. Referem-se principalmente ao desenvolvimento de novas ferramentas de avaliação, à aplicação de ferramentas existentes para identificar áreas de melhoria na preparação organizacional ou dos seus colaboradores, ou à avaliação de capacidades específicas, à avaliação das métricas para medir a eficiência e eficácia e à determinação da validade, fiabilidade e interpretabilidade das ferramentas existentes.

_Abstract

The COVID-19 pandemic has exposed the magnitude of the threat posed by communicable disease outbreaks and the importance of the public health workforce in adequately responding to such outbreaks. In this context, our aim was to identify published research articles concerning tools

developed to identify pandemic preparedness capacity or competency, focusing on the workforce of public health institutes and agencies.

For this purpose, we conducted searches in several medicine-related databases by using free text words during January 2023. The search was performed using words related to workforce or human resources, capacities, competencies, preparedness or response, public health or pandemics or disease outbreaks, tools, standards, models or frameworks, to public health institutes or agencies, infrastructure or strategies on various levels of governance. Parallel words were combined with Boolean operator "OR" and adjacent groups of parallel words were combined with a proximity operator. Search strategies consisted of 3-5 search sets, which were combined with restrictive operator "AND". The results were refined by years (2009-2023), countries/regions (European countries, Australia, New Zealand, Canada and USA) and language (English). As a result, 883 references were retrieved. From these, we identified 11 duplicates, which were removed from our analysis. From the remaining 872 papers, 13 were included and 859 were excluded because they didn't meet the defined inclusion criteria.

The preliminary analysis regarding the database literature search, identified 10 research papers published between 2009 and 2022 concerning tools developed to identify pandemic preparedness capacity or competency. These refer mainly to the development of new assessment tools, application of existing tools to identify areas for improvement in organizational or staff readiness or assessment of specific capacities, evaluating the metrics for measuring efficiency and effectiveness and determining validity, reliability, and interpretability of existing tools.

_Introdução

A pandemia da COVID-19 expôs a magnitude da ameaça representada pelos surtos de doenças transmissíveis e a importância da força de trabalho da saúde pública na resposta adequada a esses surtos. Esta ameaça necessita ser abordada juntamente com outros desafios existentes, tais como o envelhecimento da população, o aumento das desigualdades em saúde e o peso crescente das doenças não transmissíveis. Vários eventos tiveram forte impacto local ou regional, enquanto outros alcançaram proporções globais, e vários

deles foram declarados Eventos de Saúde Pública de Importância Internacional (PHEIC) pelo Diretor-Geral da Organização Mundial de Saúde (OMS) (1). Adicionalmente, os efeitos da crise financeira global têm os seus próprios impactos para os decisores, tais como o desafio da contenção de custos, juntamente com o surgimento de tecnologias e medicamentos novos e mais caros. Por outro lado, a pandemia da COVID-19 proporcionou uma nova oportunidade para fortalecer os sistemas de saúde, revitalizar as funções essenciais de saúde pública (EPHF) e melhorar a preparação e resposta a emergências (EPR) (2).

Neste sentido, foi desenvolvido o projeto PANDEM-2 cujo objetivo foi implementar e demonstrar os novos conceitos e sistemas relacionados com as tecnologias da informação para melhorar a capacidade de planeamento e resposta europeia a pandemias. Além da colheita e integração de dados internacionais relevantes sobre a pandemia e do desenvolvimento de uma *dashboard*, o projeto visa desenvolver ferramentas adicionais para a previsão da propagação da pandemia, análise visual e gestão de recursos, incluindo o mapeamento da capacidade da força de trabalho, para melhorar a preparação e planeamento, e permitir que os decisores estejam tão bem posicionados quanto possível para responder futuras pandemias.

No âmbito do projeto PANDEM-2, este estudo visa rever metodologias e ferramentas já em utilização para medir a capacidade da força de trabalho e as necessidades de formação para prevenir, detetar e responder a ameaças de doenças infecciosas através de uma revisão bibliográfica.

_ Métodos

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica com o objetivo de identificar artigos de investigação publicados sobre ferramentas desenvolvidas para identificar a capacidade ou competência de preparação para pandemias, com foco na força de trabalho de saúde pública dos institutos e agências de saúde pública. Especificamente, foram procuradas ferramentas desenvolvidas para o contexto das sociedades

ocidentais, ou seja, países europeus, Austrália, Nova Zelândia, Canadá e EUA. Como a pandemia de gripe H1N1 (gripe suína) proporcionou lições aprendidas a vários países no seu planeamento de preparação para emergências sanitárias, procurámos ferramentas desenvolvidas após a pandemia de H1N1 (2009-2023).

Foram pesquisadas oito bases de dados de pesquisa ou interfaces de bases de dados, nomeadamente: Academic Search Elite (via Ebsco Host), CINAHL (via Ebsco Host), Cochrane Library (via Wiley), ERIC (via Ebsco Host), Ovid MEDLINE(R) and In-Process, In-Data-Review & Other Non-Indexed Citations, Scopus, Soc Index Full Text (via Ebsco Host) and Web of Science (Core Collection; SSCI and SCI).

A pesquisa foi realizada em janeiro de 2023, utilizando palavras de texto livre. Palavras relacionadas foram combinadas com o operador booleano "OR" e grupos adjacentes de palavras foram combinadas utilizando um operador de proximidade. A estratégia de pesquisa consistiu em utilizar 3-5 conjuntos de palavras. Esses conjuntos foram combinados utilizando o operador booleano "AND". Exemplos:

Conjunto 1. As palavras relacionadas com força de trabalho ou recursos humanos e [combinadas com um operador de proximidade com] as palavras relacionadas com institutos ou agências de saúde pública, infraestruturas ou estratégias em vários níveis de governação;

Conjunto 2. As palavras relacionadas com avaliação, identificação ou planeamento e [combinadas com um operador de proximidade para] as palavras relacionadas com capacidades, competências, preparação ou resposta e [combinadas com um operador de proximidade para] as palavras relacionadas com saúde pública ou pandemias ou surtos de doenças.

Conjunto 3. As palavras relacionadas com ferramentas, padrões, modelos ou estruturas.

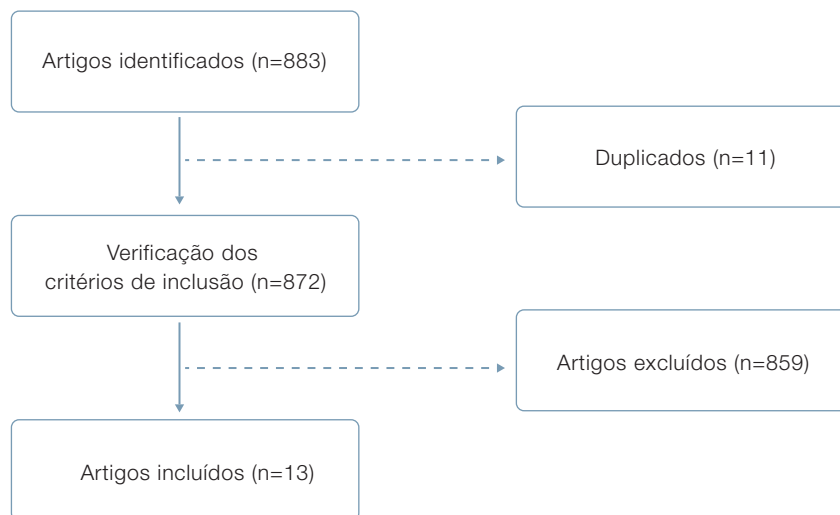
Os resultados foram refinados por período temporal (entre 2009 e 2013), países/regiões (países europeus, Austrália, Nova Zelândia, Canadá e EUA) e idioma (inglês). A gestão bibliográfica foi realizada utilizando o software Ryyan10.

_Resultados

Utilizando os métodos descritos na secção anterior foram resgatados 883 artigos publicados em revistas científicas, com revisão por pares. Foram identificados 11 duplicados, os quais foram removidos da análise. Dos restantes 872 artigos, 13 foram incluídos e 859 foram excluídos. Em resumo,

esta análise preliminar relativa à pesquisa bibliográfica na base de dados identificou 13 artigos de investigação publicados entre 2009 e 2023 sobre ferramentas desenvolvidas para identificar a capacidade ou competências de preparação para pandemias (figura 1).

Figura 1: Representação esquemática dos procedimentos realizados durante o processo de pesquisa bibliográfica.



Os artigos selecionados referem-se principalmente ao desenvolvimento de novas ferramentas de avaliação, à aplicação de ferramentas existentes para identificar áreas de melhoria na preparação organizacional ou do pessoal, ou à avaliação de capacidades específicas, à avaliação das métricas para medir a eficiência e eficácia e à determinação da validade, fiabilidade e capacidade de interpretação das ferramentas existentes.

Reconhecendo que as ferramentas e processos pré-existent não atendiam aos requisitos para avaliar as necessidades de saúde pública, médica e mental e para vincular as estratégias de mitigação às Capacidades de Preparação em Saúde Pública, Griffith, *et al.* (2014) (3) desenvolveram uma ferramenta de avaliação, cujo objetivo era vincular estratégias de mitigação às 15 Capacidades de Preparação em Saúde Pública divulgadas pelo *Centres for Disease Control and Pre-*

vention (CDC) em março de 2011 (4) e mais especificamente à Capacidade de Preparação Comunitária (5). Estas Capacidades foram desenvolvidas para ajudar os departamentos de saúde estatais, regionais e locais a enfrentar os desafios de preparação relacionados com a identificação de prioridades de preparação em saúde pública e servir como padrões e orientações nacionais para melhor organizar o seu trabalho, planear prioridades e decidir quais capacidades têm recursos para construir ou sustentar. Como resultado, uma estrutura para interpretar e aplicar os resultados da Ferramenta de Avaliação de Riscos de Saúde Pública do Texas (TxPHRAT) foi desenvolvida, gerando mais de 60 perfis, catalogando e vinculando 195 estratégias de intervenção, o que resultou num modelo que incluiu 20 planos de mitigação submetidos.

Além disso, os dados do mundo real que ligam os níveis de preparação aos resultados da resposta podem ser difíceis de obter, limitando ainda mais os esforços de melhoria contínua da qualidade por parte dos profissionais da saúde pública. Neste contexto, Chiang, *et al.* (2020) (6) aplicaram a *Framework Ready, Willing, and Able* (RWA) para identificar áreas passíveis de melhoria relacionadas com a prontidão, vontade e capacidade da organização e do pessoal para responder perante uma emergência de saúde pública. É uma ferramenta prática que pode complementar outras abordagens de preparação atualmente em utilização nas agências governamentais de saúde pública.

A avaliação da força de trabalho em saúde pública também pode ser realizada numa capacidade específica de saúde pública, como a avaliação da Capacidade Epidemiológica nos Departamentos Estatais de Saúde (EUA). Desde 2001, o Conselho de Epidemiologistas Estatais e Territoriais (CSTE) realiza periodicamente uma avaliação nacional padronizada da capacidade epidemiológica básica dos departamentos de saúde estatais (7,8). A avaliação procurou investigar a capacidade da força de trabalho em saúde pública e os avanços tecnológicos para apoiar a vigilância. As medidas de capacidade incluíram o número total de epidemiologistas e a autoavaliação da capacidade do estado de executar quatro Serviços Essenciais de Saúde Pública (ESPH). Estas incluem 1) monitorização o estado de saúde para identificar e resolver problemas de saúde da comunidade; 2) diagnóstico e investigação de problemas e perigos para a saúde na comunidade; 3) avaliação da eficácia, acessibilidade e qualidade dos serviços de saúde individuais e populacionais; e 4) condução e avaliação de pesquisas de soluções inovadoras para problemas de saúde. As avaliações incidem também sobre a capacidade da força de trabalho em saúde pública em nove áreas programáticas: doenças infecciosas, bioterrorismo/resposta a emergências, doenças crónicas, saúde materno-infantil, saúde ambiental, lesões, saúde ocupacional, saúde oral e abuso de substâncias. Os avanços tecnológicos selecionados para apoiar questões de vigilância foram adicionados desde 2009 (9). Em 2017, o CSTE fez parceria

com a *Big Cities Health Coalition* (BCHC) para avaliar a capacidade epidemiológica em grandes departamentos de saúde urbanos. A capacidade da força de trabalho em epidemiologia dos grandes departamentos de saúde urbanos nos Estados Unidos foi avaliada e determinou lacunas na capacidade entre os departamentos de saúde da BCHC (10).

Embora existam atualmente vários instrumentos para medir a preparação, muitas vezes faltam evidências da sua validade, fiabilidade e interpretabilidade (11). Como resultado, algumas publicações tiveram como objetivo investigar a validade do constructo e/ou fiabilidade das ferramentas existentes. Para tal, Edgar, *et al.* (2009) (12) investigou a validade de construto e a confiabilidade das Competências Essenciais para Profissionais de Saúde Pública, conforme promulgado pelo *Council on Linkages Between Academia and Public Health* (COL). A análise de componentes principais, a análise de correlação e fiabilidade e as comparações de grupos conhecidos forneceram suporte substancial para a validade das Competências Essenciais como uma ferramenta para avaliar a competência dos profissionais da força de trabalho em saúde pública, ao mesmo tempo que sugeriram algumas revisões para melhorar as propriedades de medição do conjunto de competências (12). Além disso, numa tentativa de melhorar a capacidade das agências locais de saúde pública para responder a emergências de grande escala, Savoia *et al.* (2009) (13) procurou avaliar uma ferramenta de medição do desempenho concebida para avaliar as capacidades de emergência de saúde pública, testando a sua fiabilidade e validade utilizando dados obtidos a partir de funcionários públicos que participam em exercícios de preparação, como de avaliadores externos que observam o mesmo evento. Desta análise, parece haver consistência e alinhamento substanciais entre as Competências Essenciais, as Competências de Saúde da População e as Competências Estratégicas.

Relevantes para a preparação em saúde pública são também os laboratórios de saúde pública, ambiental e agrícola (PHEAL). A Avaliação da Capacidade Laboratorial Nacional é uma ferramenta desenvolvida pelo Centro de Excelência em Estudos da Força de Trabalho em Saúde Pública da Uni-

versidade de Michigan e pela Associação de Laboratórios de Saúde Pública (14). Os autores concluem que ainda falta um método sistemático para a recolha contínua de dados detalhados sobre a força de trabalho e ao nível das instituições. Melhorar as medidas e os métodos de recolha de dados é o próximo passo para identificar associações entre as características da força de trabalho e a capacidade organizacional, informação essa que poderia ajudar as organizações de saúde pública a reforçar a sua capacidade de prestar serviços e melhorar a saúde da população (14).

Com o objetivo de resumir os estudos do Centro de Pesquisa em Preparação e Resposta a Emergências (PERRC) que abordaram o desenvolvimento e avaliação de critérios para avaliação do PHEPR e métricas para medir sua eficiência e eficácia, Qari, *et al.* (2019) (15) identificaram 8 artigos referentes à capacidade ou capacitação da força de trabalho, a maioria deles relacionados com os recursos dos departamentos de saúde locais, voluntários e ameaças percebidas pelos profissionais de saúde pública (15).

Su, *et al.* (2017) (16) descrevem a utilização da ferramenta *Joint External Evaluation* (JEE) em Taiwan para avaliar as suas capacidades de resposta a emergências de saúde pública e compreender áreas importantes para melhoria. Whitcomb, *et al.* (2018) (17) descrevem um exercício semelhante em 2015-2016, no qual o Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA conduziu uma revisão aprofundada das principais capacidades de saúde pública dos EUA e uma avaliação da conformidade do país com o Regulamento Sanitário Internacional utilizando a metodologia da JEE. O relatório identificou ações prioritárias recomendadas para melhorar a capacidade do Governo dos EUA para lidar com emergências radiológicas em grande escala. Esperava-se que a ferramenta de medição de desempenho de 37 itens resultante medisse de forma confiável as capacidades funcionais de saúde pública (13). Finalmente, Amos, *et al.* (2022) (18) procurou harmonizar três ferramentas, mapeando sistematicamente a versão de 2014 das Competências Essenciais e as Competências de Saúde da População

de 2019 com a versão de 2017 das Competências Estratégicas para produzir uma matriz abrangente que descreva as suas relações (18).

_Conclusões

A capacidade da força de trabalho em saúde pública é essencial para responder às ameaças à saúde pública. A monitorização da força de trabalho da saúde pública é um pré-requisito para melhorar a capacidade para identificar lacunas, prevenir tendências e necessidades futuras, orientar o desenvolvimento da força de trabalho da saúde pública e políticas relacionadas e, em última análise, fortalecer a força de trabalho da saúde. Torna-se assim necessário identificar as principais aptidões, competências e formação do pessoal relevante, considerando também os impactos pessoais das emergências de saúde pública e desenvolvendo um caminho para uma resposta mais resiliente do sistema de saúde pública.

Através da realização de uma pesquisa bibliográfica, foram identificados artigos de investigação publicados sobre ferramentas desenvolvidas para identificar a capacidade ou competência de preparação para pandemias, com foco na força de trabalho de saúde pública dos institutos e agências de saúde pública.

As publicações identificadas focam-se no desenvolvimento de novas ferramentas de avaliação, à aplicação de ferramentas existentes com o propósito de identificar áreas de melhoria na preparação organizacional ou pessoal, avaliar capacidades específicas, avaliar métricas para medir a eficiência e eficácia e para determinação da validade, fiabilidade e capacidade de interpretação das ferramentas existentes.

A informação recolhida é fundamental para os passos futuros na classificação da força de trabalho da saúde pública, tal como concebido pelos roteiros e outros recursos apresentados pelo ECDC, pela OMS e por outras organizações.

Referências bibliográficas:

- (1) Wilder-Smith A, Osman S. Public health emergencies of international concern: a historic overview. *J Travel Med.* 2020 Dec 23;27(8):taaa227. <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa227>
- (2) World Health Organization. Building Health Systems Resilience for Universal Health Coverage and Health Security during the COVID-19 Pandemic and beyond. Geneva: WHO, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-UHL-PHC-SP-2021.01>
- (3) Griffith JM, Kay Carpenter S, Crouch JA, et al. A public health hazard mitigation planning process. *J Public Health Manag Pract.* 2014 Sep-Oct;20 Suppl 5:S69-75. <https://doi.org/10.1097/PHH.000000000000064>
- (4) Centres for Disease Control and Prevention. Public Health Preparedness Capabilities: National Standards for State and Local Planning. Atlanta, GA: CDC, 2011. https://www.cdc.gov/orr/readiness/00_docs/DSLRL_capabilities_July.pdf
- (5) Richmond A, Hostler L, Leeman G, et al. A brief history and overview of CDC's Centers for Public Health Preparedness Cooperative Agreement Program. *Public Health Rep.* 2010 Nov-Dec;125(Suppl5):8-14. <https://doi.org/10.1177/00333549101250S503>
- (6) Chiang SC, Fisher HH, Bridwell ME, et al. Applying the Ready, Willing, and Able Framework to Assess Agency Public Health Emergency Preparedness: The CDC Perspective. *Health Secur.* 2020 Mar/Apr;18(2):75-82. <https://doi.org/10.1089/hs.2019.0090>
- (7) Centers for Disease Control and Prevention. Assessment of epidemiologic capacity in state and territorial health departments--United States, 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2005 May 13;54(18):457-9.
- (8) Centers for Disease Control and Prevention. Assessment of the epidemiologic capacity in state and territorial health departments--United States, 2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2003 Oct 31;52(43):1049-51.
- (9) Centers for Disease Control and Prevention. Assessment of epidemiology capacity in State Health Departments - United States, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009 Dec 18;58(49):1373-7
- (10) McGinty MD, Binkin N, Arrazola J, et al. Epidemiology Workforce Capacity in 27 Large Urban Health Departments in the United States, 2017. *Public Health Rep.* 2019 Jul/Aug;134(4):386-394. <https://doi.org/10.1177/0033354919856935>
- (11) Asch SM, Stoto M, Mendes M, et al. A review of instruments assessing public health preparedness. *Public Health Rep.* 2005 Sep-Oct;120(5):532-42. <https://doi.org/10.1177/003335490512000508>
- (12) Edgar M, Mayer JP, Scharff DP. Construct validity of the core competencies for public health professionals. *J Public Health Manag Pract.* 2009; 15(4):E7-16. <https://doi.org/10.1097/PHH.0b013e31819c1452>
- (13) Savoia E, Testa MA, Biddinger PD, et al. Assessing public health capabilities during emergency preparedness tabletop exercises: reliability and validity of a measurement tool. *Public Health Rep.* 2009 Jan-Feb;124(1):138-48. <https://doi.org/10.1177/003335490912400117>
- (14) Beck AJ, Boulton ML. Predictors of capacity in public health, environmental, and agricultural laboratories. *J Public Health Manag Pract.* 2014 Nov-Dec;20(6):654-61. <https://doi.org/10.1097/PHH.000000000000050>
- (15) Qari SH, Yusuf HR, Groseclose SL, et al. Public Health Emergency Preparedness System Evaluation Criteria and Performance Metrics: A Review of Contributions of the CDC-Funded Preparedness and Emergency Response Research Centers. *Disaster Med Public Health Prep.* 2019 Jun;13(3):626-638. <https://doi.org/10.1017/dmp.2018.110>
- (16) Su YF, Wu CH, Lee TF. Public Health Emergency Response in Taiwan. *Health Secur.* 2017 Mar/Apr;15(2):137-43. <https://doi.org/10.1089/hs.2016.0108>
- (17) Whitcomb RC Jr, Ansari AJ, Salame-Alfie A, et al. US Centers for Disease Control and Prevention Experience in the Joint External Evaluation Process--Radiation Emergencies Technical Area. *Radiat Prot Dosimetry.* 2018 Dec 1;182(1):9-13. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncy148>
- (18) Amos K, Levy NA, Bialek R, et al. Developing Complex, Cross-Cutting Skills in the Public Health Workforce: Using a Crosswalk Analysis to Map Public Health Competencies to Strategic Skills for the Governmental Public Health Workforce. *J Public Health Manag Pract.* 2022 Sep-Oct 01;28(5):536-540. <https://doi.org/10.1097/PHH.0000000000001532>

Caracterização genotípica e fenotípica de estirpes de *Escherichia coli* patogénicas, *Salmonella spp.* e *Campylobacter spp.* isoladas de aves em liberdade em Portugal continental

Genotypic and phenotypic characterization of pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. in free-living birds in mainland Portugal

Rita Batista ¹, Margarida Saraiva ², Teresa Lopes ², Leonor Silveira ³, Anabela Coelho ⁴, Rosália Furtado ⁴, Rita Castro ³, Cristina Belo Correia ⁴, David Rodrigues ^{5,6}, Pedro Henriques ^{5,7}, Sara Lóio ⁸, Vanessa Soeiro ⁸, Paulo Martins da Costa ⁹, Mónica Oleastro ³, Ângela Pista ³

rita.batista@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Laboratório de Microbiologia, Unidade de Referência. Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal

(3) Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(4) Laboratório de Microbiologia, Unidade de Referência. Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(5) Escola Superior Agrária de Coimbra- Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra, Portugal

(6) Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal

(7) Espaço de Visitação e Observação de Aves, Vila Franca de Xira, Portugal

(8) Centro de Recuperação de Fauna do Parque Biológico de Gaia, Vila Nova de Gaia, Portugal

(9) Laboratório de Microbiologia, Departamento de Produção Aquática. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto, Portugal

Resumo

As aves são potenciais portadoras de microrganismos patogénicos que afetam os seres humanos, e podem ser disseminadoras de perigos no ambiente de produção primária de géneros alimentícios de origem vegetal e animal.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência, em fezes de aves em liberdade, em Portugal, de três bactérias zoonóticas causadoras de infeções no Homem. Para tal, foi avaliada a presença de *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella spp.* e *Campylobacter spp.* em 108 amostras individuais de fezes de aves e em uma amostra em *pool* de 50 amostras de fezes de galvotas.

Foi efetuada a caracterização fenotípica dos isolados (serotipagem e perfis de resistência a antibióticos) e detetados genes específicos associados à patogenicidade e à resistência a antimicrobianos, por PCR e/ou sequenciação total do genoma (WGS).

Isolados de *E. coli* patogénicos, *Salmonella spp.* e *Campylobacter spp.* foram detetados em 8,9%, 2,8% e 9,9% das amostras, respetivamente. A resistência a antimicrobianos foi testada em 54 isolados de *E. coli*, tendo sido detetada em 14 (25,9%). Onze destes isolados revelaram a presença de fatores de virulência, *E. coli* patogénicos. Dez dos isolados de *E. coli* revelaram ser resistentes a múltiplos antimicrobianos (MDR) e sete eram produtores de β -lactamases de espectro alargado (ESBL). Relativamente aos isolados de *Salmonella spp.* (n=3) e *Campylobacter spp.* (n=9), apenas uma estirpe de *Campylobacter jejuni* foi identificada como MDR. A maioria dos serotipos e/ou *Sequence Types* (ST) identificados já tinham sido referenciados como associados a doença humana.

Estes resultados mostram que as aves que fazem parte da fauna portuguesa podem ser portadoras de bactérias patogénicas capazes de causar doença humana, algumas delas resistentes a antimicrobianos críticos.

Abstract

Birds are potential carriers of pathogens that affect humans and that may be spread in the primary production environment of foodstuffs of plant and animal origin.

Aiming to evaluate the occurrence of three important bacteria that may cause human disease, in free-living birds, in Portugal, we investigated 108 individual faecal samples from free-living birds and one pooled sample of gull faeces (n=50) for the presence of *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella spp.* and *Campylobacter spp.*

Virulence and antimicrobial resistance (AMR) genes were detected by PCR and/or Whole Genome Sequencing (WGS), and phenotypic (serotyping and AMR profiles) characterization was performed.

Overall, 8.9% of samples tested positive for pathogenic *E. coli*, 2.8% for *Salmonella spp.*, and 9.9% for *Campylobacter spp.* AMR was performed on 54 *E. coli* isolates being detected in 14 (25.9%) of them. Eleven of the AMR *E. coli* isolates contained several virulence factors, pathogenic *E. coli*. Ten of the tested *E. coli* isolates were multidrug resistant (MDR), and seven of them were Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producers. Among *Salmonella spp.* (n=3) and *Campylobacter spp.* (n=9), only one strain of *Campylobacter jejuni* was identified as MDR. Most of the identified serotypes/sequence types (ST) had already been associated with human disease.

These results show that free-living birds in Portugal may act as carriers of foodborne pathogens linked to human disease, some of them resistant to critically important antimicrobials.

_Introdução

Aproximadamente 60% de todas as doenças infecciosas humanas, e cerca de 75% das emergentes, são de origem zoonótica (1). A interação dinâmica entre seres humanos, animais e microrganismos, torna a abordagem *One Health* (uma só saúde) essencial para a identificação e controlo de doenças bacterianas zoonóticas emergentes (2). Em 2021, a campilobacteriose, a salmonelose e as infeções causadas por *E. coli* produtora de toxina *Shiga* (STEC) estavam entre as quatro principais zoonoses mais reportadas em humanos (95% de todos os casos), envolvendo mais de 23000 hospitalizações (3). As aves em liberdade podem ser reservatórios e/ou vetores destas bactérias patogénicas assim como dos seus genes de resistência a antimicrobianos (4-6). Muitas espécies de aves adaptaram-se com sucesso a ambientes dominados pelo Homem, entrando regularmente em contacto com explorações agrícolas, cursos de água, animais que se destinam à produção alimentar, animais domésticos e pessoas (7). Para além disso, muitas são migratórias, o que também pode contribuir para a ampla disseminação de microrganismos patogénicos (8,9). A informação sobre a ocorrência e caracterização de bactérias zoonóticas isoladas de aves em liberdade, na Europa, é escassa (10-18). Esta informação é ainda mais limitada se nos focarmos em Portugal (19-22).

_Objetivos

Este estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de estirpes de *E. coli* patogénicas, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp em amostras fecais de aves em liberdade, de diferentes regiões de Portugal continental. Adicionalmente, foram identificados os serotipos, os *Sequence types* (ST), os genes de patogenicidade, bem como os genes de resistência a antimicrobianos dos isolados de interesse. Considerando que as aves em liberdade podem ser reservatórios de bactérias contendo genes de resistência a antimicrobianos e potencialmente responsáveis pela ocorrência de ligações epidemiológicas entre bactérias isoladas de humanos, animais e ambiente, foi também determinado o perfil de resistência a antimicrobianos da maioria dos isolados de *E. coli* não patogénicos.

_Materiais e métodos

Populações estudadas e colheita de amostras

Este trabalho abrangeu três áreas geográficas distintas, uma no distrito de Lisboa (EVOA- Espaço de Visitação e Observação de Aves) e duas no norte de Portugal (Parque Biológico de Gaia e região da praia de Matosinhos).

Foram colhidas 108 amostras individuais de fezes frescas de aves em liberdade, correspondentes a 31 espécies diferentes. Adicionalmente, foi incluída no estudo uma amostra em *pool* composta por 50 amostras de fezes de gaivotas, colhidas pelo Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) na praia de Matosinhos.

Todas as amostras foram mantidas refrigeradas após a colheita, e processadas de imediato após chegada ao laboratório.

Métodos de isolamento e de caracterização fenotípica e genotípica

As estirpes foram isoladas recorrendo a métodos de isolamento convencionais. Para o caso de *E. coli* o isolamento foi efetuado como descrito em Pista *et al.* (23), para *Salmonella* spp., em conformidade com a ISO 6579-1:2017 (24), e para *Campylobacter* spp. em conformidade com a ISO 10272-1:2017 (25). A serotipagem de *Salmonella* spp. foi efetuada de acordo com o esquema de Kauffmann-White-Le Minor (26) por aglutinação dos antígenos O e H. Os perfis de resistência a antibióticos foram determinados por difusão em disco, seguindo as recomendações e os limites da *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (27). A identificação de genes específicos associados à virulência e à resistência a antimicrobianos foi efetuada por PCR *multiplex* e/ou por sequenciação total do genoma (WGS).

_Resultados

Foram isoladas estirpes patogénicas de *E. coli*, de *Salmonella* spp. e de *Campylobacter* spp. em, respetivamente, 8,9% (14/158), 2,8% (3/108) e 9,9% (9/91) das amostras. Adicionalmente, foi possível isolar 54 estirpes de *E. coli* consideradas como não patogénicas (34,1%; 54/158) (tabela 1).

Relativamente aos patótipos de *E. coli*, o patótipo *E. coli* patogénica extraintestinal (ExPEC) foi o mais frequentemente identificado (9/14; 64,3%), seguido de *E. coli* produtora de toxina *Shiga* (STEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC), ambos com dois isolados cada (2/14; 14,3%), e de *E. coli* enteropatogénica (EPEC) (1/14; 7,1%). A resistência a antibióticos foi testada em 54 isolados de *E. coli*, tendo sido detetada em 14 (25,9%), 11 dos quais contendo genes codificadores de factores de virulência, *E. coli* patogénicos. Os perfis de resistência dos 14 isolados de *E. coli* com resistência a antibióticos, bem como os seus serotipos e *sequence types* STs estão resumidos na tabela 2. Os três isolados de *E. coli* patogénicos mas susceptíveis a antibióticos (e por isso não constantes da tabela 2) pertenciam ao ST34 (patótipo EAEC), ST13581 (ST novo identificado num isolado STEC) e ST583 (patótipo EPEC).

Relativamente às espécies de *Campylobacter* isoladas, *Campylobacter coli* foi detetada em quatro amostras, e *Campylobacter jejuni* em cinco amostras de fezes (tabela 1). Foram identificados dois ST diferentes nos isolados de *C. coli*, ST11400 e ST11401, e três ST nos isolados de *C. jejuni* ST990, ST1268 e ST8572. Um isolado de *C. jejuni* apresentou resistência à ciprofloxacina, tetraciclina e ampicilina. Este isolado exibia os genes de resistência *gyrA*_T86I, *tetO* e *bla*_{OXA-466}, associados a este fenótipo.

Salmonella spp., foi detetada em 3 amostras na população em estudo (3/108; 2,8%). Foram identificados os serotipos de *Salmonella enterica diarizonae* ser. 60:k:e,n,x,z15 e *Salmonella enterica enterica* ser. Typhimurium e Litchfield (tabela 1). Os três isolados foram caracterizados como pertencentes aos ST3127 (S. 60:k:e,n,x,z15), ST19 (S. Typhimurium), e ST214 (S. Litchfield). Todos os isolados de *Salmonella* spp. foram sensíveis aos antibióticos testados.

_Discussão

De acordo com diversos estudos europeus, a prevalência de *E. coli*, *Campylobacter* spp. e *Salmonella* spp. em amostras de fezes de aves é muito variável. De facto, a deteção de *E. coli* patogénicas pode variar entre 6 e 30% (28-30), a de *Campylobacter* spp. entre 1 e 50% (11-14,16-18,29,31-33) e a de *Salmonella* spp. entre 0 e 53% (12-15,18,17,29).

A presença de β -lactamases de espectro alargado (ESBL), um grupo de enzimas que confere resistência, por exemplo, às cefalosporinas de 3.ª e 4.ª geração, tem vindo a aumentar nas bactérias da família das *Enterobacteriaceae*, constituindo um grave problema de saúde pública. As gaiotas, devido à sua vasta distribuição global e à interação próxima com ambientes influenciados pelos seres humanos, são aves particularmente expostas a resíduos do ecossistema onde os humanos se inserem. Não é, pois, surpreendente que outros autores também já tenham reportado a presença de *E. coli* produtoras de ESBL, em fezes de gaiotas (34-37). Os isolados produtores de ESBL identificados neste trabalho evidenciam semelhanças com isolados de produtos biológicos humanos. A ESBL do tipo CTX-M-15 identificada em três isolados ExPEC, é uma das ESBL mais frequentes em estirpes de *Enterobacteriaceae* com relevância clínica, em Portugal (38-40) e no mundo (41). As ESBL do tipo SHV-12 e CTX-M-1, encontradas, respetivamente, em duas e em uma ExPEC, têm igualmente sido identificadas em isolados de produtos biológicos humanos de casos clínicos em Portugal (42).

A deteção de isolados de *E. coli* resistentes a antibióticos, alguns deles multirresistentes e produtores de ESBL, alerta para a necessidade de controlar e gerir a utilização dos antibióticos na terapêutica de casos de doença em humanos e animais, bem como para a redução da utilização na agropecuária, e a melhoria do tratamento das águas residuais (urbanas, hospitalares e rurais) de forma a diminuir a contaminação ambiental.

Tabela 1: Caracterização de isolados de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. em amostras de fezes de aves em liberdade, em Portugal.

Classificação das aves		#*	Escherichia coli					Salmonella spp.	Campylobacter spp.	
Ordem	Espécie (nº de amostras)		PCR			WGS	Não patogénicas			
			STEC	EAEC	EPEC	ExPEC				
EVOA	Anseriformes	<i>Anas crecca</i> (17)	17/17/10	1	0	0	0	15	0	0
		<i>Anas platyrhynchos</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	1	0	0
	Ciconiiformes	<i>Ixobrychus minutus</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Fulica atra</i> (2)**	2/2/2	0	0	0	0	2	0	2 <i>C. coli</i>
	Gruiformes	<i>Gallinula chloropus</i> (7)**	7/7/5	0	1	0	1	5	0	1 <i>C. coli</i> / 1 <i>C. jejuni</i>
		<i>Acrocephalus schoenobaenus</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Acrocephalus scirpaceus</i> (6)**	6/6/6	0	0	0	2	1	0	1 <i>C. coli</i>
		<i>Cettia cetti</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Carduelis chloris</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
	Passeriformes	<i>Emberiza calandra</i> (3)	3/3/3	0	0	0	0	2	0	0
		<i>Erithacus rubecula</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Euplectes afer</i> (7)	7/7/7	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Luscinia svecica</i> (6)	6/6/6	0	0	0	0	1	0	0
		<i>Oenanthe oenanthe</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Passer domesticus</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Phylloscopus collybita</i> (4)	4/4/4	0	0	0	0	1	0	0
		<i>Phylloscopus trochilus</i> (7)	7/7/7	0	0	0	0	1	0	0
		<i>Saxicola rubicola</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Strunus unicolor</i> (3)	3/3/3	0	0	0	0	1	0	0
	Total (%)	71/71/62	1 (1,4)	1 (1,4)	0 (0)	3 (4,2)	30 (42,2)	0 (0)	5 (8,1)	
CRFPBG	Accipitriformes	<i>Circaetus gallicus</i> (1)**	1/1/1	0	0	0	0	0	1 ^a	0
	Ciconiiformes	<i>Ciconia nigra</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
		<i>Larus</i> spp. (18)**	18/18/14	0	0	1	0	10	0	4 <i>C. jejuni</i>
	Charadriiformes	<i>Larus fuscus</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	1	0	0
		<i>Fratercula arctica</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
	Columbiformes	<i>Columba livia</i> (1)**	7/7/6	1	0	0	0	5	2 ^b	0
		<i>Streptopelia decaocto</i> (3)	3/3/2	0	0	0	0	3	0	0
	Falconiformes	<i>Falco peregrinus</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	0	0	0
	Passeriformes	<i>Garrulus glandarius</i> (1)	1/1/1	0	0	0	0	1	0	0
	Pelecaniformes	<i>Nycticorax nycticorax</i> (1)	1/1/0	0	0	0	0	1	0	0
Strigiformes	<i>Athene noctua</i> (2)	2/1/1	0	0	0	0	2	0	0	
	Total (%)	37/37/29	1 (2,7)	0 (0)	1 (2,7)	0 (0)	24 (64,9)	3 (8,1)	4 (13,8)	
ICBAS	Charadriiformes	<i>Larus</i> spp. (50)**	50/0/0	0	1	0	6	0	NE	NE
		Total (%)	50/0/0	0	1 (2,0)	0 (0)	6 (12,0)	0 (0)	NE	NE
	Total (%)	158/108/91	2 (1,3)	2 (1,3)	1 (0,6)	9 (5,7)	54 (34,1)	3 (2,8)	3 (2,8)	

#*: número de amostras testadas para *E. coli* / *Salmonella* / *Campylobacter*; **: mais de um isolado por amostra; ***: uma amostra em *pool* composta por 50 fezes; a, *S.* 60:k:e,n,x,z15; b, *S.* Typhimurium e *S.* Litchfield; NE: não examinado; EVOA: Espaço de Visitação e Observação de Aves; CRFPBG: Centro de Recuperação de Fauna do Parque Biológico de Gaia; ICBAS: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar; WGS: Sequenciação total do genoma; PCR: Reação da polimerase em cadeia.

Tabela 2: Padrões de resistência a antimicrobianos detetados nos isolados de *Escherichia coli* (n=14/54) por espécies de aves.

Espécie	Patotipo	Serotipo/ST	Fenótipo de resistência	Genes associados a resistência (WGS)
<i>Anas crecca</i>	não patogénico	NE	AMP, TET	NE
<i>Larus fuscus</i>			AMC, AMP	
<i>Larus spp.</i>			AMP, TET	
<i>Larus spp.</i>	ExPEC	O55:H10 / ST162	AMP, CAZ, CIP, COX, FEP, NAL, SMX TET, TMP	<i>bla</i> _{TEM-1B'} <i>bla</i> _{SHV-12'} <i>gyrA</i> , <i>qnrB19</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(B)</i> , <i>dfrA17</i>
		ONH:H16 / ST453	AMP, CAZ, CIP, COX, FEP, NAL, SMX TET, TMP	<i>bla</i> _{TEM-1B'} <i>bla</i> _{SHV-12'} <i>gyrA</i> , <i>qnrB19</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(B)</i> , <i>dfrA14</i>
		OND:H9 / ST410	AMC, AMP, AZM, CAZ, CHL, CIP, COX FEP, NAL, SMX, TET, TMP	<i>aac(6')-lb-cr,mph(A)</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-15'} <i>bla</i> _{TEM-1A'} <i>bla</i> _{OXA-1'} , <i>floR</i> , <i>gyrA</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA17</i>
		O78:H4 / ST23	AMP, CAZ, CIP, COX, FEP, NAL, SMX, TET	<i>bla</i> _{CTX-M-1'} <i>gyrA</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(A)</i>
		O25:H4 / ST131	AMC, AMP, AZM, CAZ, CIP, COX, FEP, GMN, NAL, SMX, TET, TMP	<i>aac(6')-lb-cr,mph(A)</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-15'} <i>bla</i> _{SHV-55'} <i>bla</i> _{OXA-1'} <i>aac(3)-IIa</i> , <i>gyrA</i> , <i>qnrS1</i> , <i>sul1</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA14</i> , <i>dfrA17</i>
		O25:H4 / ST131	AMC, AMP, AZM, CAZ, CIP, COX, FEP, GMN, NAL, SMX, TET, TMP	<i>aac(6')-lb-cr,mph(A)</i> , <i>bla</i> _{CTX-M-15'} <i>bla</i> _{SHV-55'} <i>bla</i> _{OXA-1'} <i>aac(3)-IIa</i> , <i>gyrA</i> , <i>qnrS1</i> , <i>sul1</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA17</i>
<i>Larus spp.</i>	EAEC	O111:H21 / ST40	AMC, AMP, CAZ, COX, FOX	<i>ampC-promoter</i> , <i>bla</i> _{TEM-1B}
<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	ExPEC	O101:H9 / ST10	AMP, CHL, CIP, TET	<i>bla</i> _{TEM-1B'} <i>cmlA1</i> , <i>qnrB19</i> , <i>qnrB82</i> , <i>qnrB67</i> , <i>qnrB56</i> , <i>tet(A)</i>
		O101:H9 / ST10	AMP, CHL, CIP, TET	<i>bla</i> _{TEM-1B'} <i>cmlA1</i> , <i>qnrB19</i> , <i>qnrB82</i> , <i>qnrB67</i> , <i>qnrB56</i> , <i>tet(A)</i>
<i>Gallinula chloropus</i>	ExPEC	O101:H9 / ST10	AMP, CHL, CIP, TET	<i>bla</i> _{TEM-1B'} <i>cmlA1</i> , <i>qnrB19</i> , <i>qnrB82</i> , <i>qnrB67</i> , <i>qnrB56</i> , <i>tet(A)</i>
<i>Columba livia</i>	STEC	O45:H2 / ST20	SMX, TET, TMP	<i>sul1</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA1</i>

NE: não examinado; ST: Sequence Type; EAEC: *E. coli* Enteroagregativa; ExPEC: *E. coli* Patogénica Extraintestinal; STEC: *E. coli* produtora de toxina Shiga; OND: antígeno O não determinado; AMP: Ampicilina; AMC: Amoxicilina- Ácido Clavulânico; AZM: Azitromicina; FEP: Cefepima; COX: Cefotaxima; FOX: Cefoxitina; CZD: Ceftazidima; CRO: Ceftriaxona; CHL: Cloranfenicol; ERY: Eritromicina; GMN: Gentamicina; MEM: Meropenem; NAL: Ácido Nalidixico; CIP: Ciprofloxacina; SMX: Sulfametoxazole; TET: Tetraciclina; TGC: Tigeciclina; TMP: Trimetoprim; WGS: Sequenciação total do genoma.

A maioria dos ST de *E. coli* identificados neste estudo (ST10, ST20, ST23, ST34, ST40, ST453 e ST583) já foram documentados e associados a *E. coli* causadoras de diarreia, isolados entre 1950 e 2015, em 44 países da Ásia, América, África e Europa (43). Adicionalmente, os ST10, ST23 e ST131 aparecem no top 20 dos STs de ExPEC de origem humana (44).

Relativamente à caracterização dos isolados de *Salmonella* spp., é importante referir que os serotipos *S. Typhimurium* e *S. Litchfield* estão associados a casos de gastroenterite e bacteriemia em diversos países, sendo *S. Typhimurium* um dos serotipos mais associado a doença humana e animal. O ST19, identificado neste estudo, é o mais prevalente neste último serotipo (45). O serotipo *S. 60:k:e,n,x,z15* pertence à subespécie *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*, que é normalmente identificada no ambiente e em animais de sangue frio, como é o caso da cascavel sul americana (*Crotalus durissus*) (46). No presente estudo, este serotipo foi identificado em fezes de águia cobreira (*Circaetus gallicus*), uma ave que se alimenta quase exclusivamente de cobras. Este facto reforça a possibilidade de as aves poderem estar envolvidas no transporte e na disseminação de microrganismos patogénicos. As duas espécies de *Campylobacter* identificadas (*C. jejuni* e *C. coli*) são as mais frequentemente reportadas em infeções humanas (47). *C. jejuni*, ST990, foi identificado em isolados de produtos biológicos humanos associados a gastroenterite e em galinhas; o ST1268 foi identificado em aves, águas, géneros alimentícios e em produtos biológicos humanos de casos clínicos de gastroenterite, e o ST8572 em aves na África do Sul (base de dados de *Campylobacter jejuni/coli* PubMLST, <https://pubmlst.org/organisms>).

_Conclusões

Os resultados deste estudo evidenciam que aves em liberdade, em Portugal continental, podem ser portadoras, e efetivos agentes de dispersão, de estirpes de *E. coli*, *Campylobacter* spp. e *Salmonella* spp. que já foram anteriormente associadas a doença humana, algumas das quais resistentes, ou mesmo multirresistentes, a diversos antibióticos de importância crítica nos cuidados de saúde.

Estes resultados reforçam o já reconhecido conceito *One Health*, mostrando que a saúde humana e animal estão interligadas, e associadas à saúde dos ecossistemas que habitam.

Os resultados pormenorizados deste trabalho estão compilados em artigo publicado: Batista R, Saraiva M, Lopes T, Silveira L, Coelho A, Furtado R, Castro R, Correia CB, Rodrigues D, Henriques P, Lóio S, Soeiro V, da Costa PM, Oleastro M, Pista A. Genotypic and Phenotypic Characterization of Pathogenic *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Campylobacter* spp., in Free-Living Birds in Mainland Portugal. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Dec 23;20(1):223. doi: 10.3390/ijerph20010223

Referências bibliográficas:

- (1) World Health Organization. Regional Office for South-East Asia. A brief guide to emerging infectious diseases and zoonoses. New Delhi: WHO Regional Office for South-East, 2014. Asia. <https://iris.who.int/handle/10665/204722>
- (2) Cntas L, Suer K. Review: the important bacterial zoonoses in "one health" concept. *Front Public Health*. 2014 Oct 14;2:144. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00144>
- (3) European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA J*. 2022 Dec 13;20(12):e07666. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666>
- (4) Wang J, Ma ZB, Zeng ZL, et al. The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes. *Zool Res*. 2017 Mar 18;38(2):55-80. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2017.003>
- (5) Boulonier T, Kada S, Ponchon A, et al. Migration, Prospecting, Dispersal? What Host Movement Matters for Infectious Agent Circulation? *Integr Comp Biol*. 2016 Aug;56(2):330-42. <https://doi.org/10.1093/icb/icw015>
- (6) Bonnedahl J, Järhult JD. Antibiotic resistance in wild birds. *Ups J Med Sci*. 2014 May;119(2):113-6. <https://doi.org/10.3109/03009734.2014.905663>
- (7) González-Lagos C, Cardador L, Sol D. Invasion success and tolerance to urbanization in birds. *Ecography*. 2021;44(11):1642-52. <https://doi.org/10.1111/ecog.05826>
- (8) Van Doren BM, Conway GJ, Phillips RJ, et al. Human activity shapes the wintering ecology of a migratory bird. *Glob Chang Biol*. 2021 Jun;27(12):2715-27. <https://doi.org/10.1111/gcb.15597>
- (9) Tryjanowski P, Sparks TH, Kuźniak S, et al. Bird migration advances more strongly in urban environments. *PLoS One*. 2013 May 8;8(5):e63482. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063482>
- (10) Krawiec M, Rusiecki S, Kuczkowski M, et al. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. strains isolated from free-living birds. *Pol J Vet Sci*. 2017 Dec;20(4):635-642. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0080>
- (11) Krawiec M, Woźniak-Biel A, Bednarski M, et al. Antimicrobial Susceptibility and Genotypic Characteristic of *Campylobacter* spp. Isolates from Free-Living Birds in Poland. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2017 Nov;17(11):755-763. <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2116>
- (12) Palmgren H, Sellin M, Bergström S, et al. Enteropathogenic bacteria in migrating birds arriving in Sweden. *Scand J Infect Dis*. 1997;29(6):565-8. <https://doi.org/10.3109/00365549709035895>

- (13) Antilles N, Sanglas A, Cerdà-Cuellar M. Free-living Waterfowl as a Source of Zoonotic Bacteria in a Dense Wild Bird Population Area in Northeastern Spain. *Transbound Emerg Dis*. 2015 Oct;62(5):516-21. <https://doi.org/10.1111/tbed.12169>
- (14) Gargiulo A, Fioretti A, Russo TP, et al. Occurrence of enteropathogenic bacteria in birds of prey in Italy. *Lett Appl Microbiol*. 2018 Mar;66(3):202-206. <https://doi.org/10.1111/lam.12836>
- (15) Krawiec M, Kuczkowski M, Kruszewicz AG, Wieliczko A. Prevalence and genetic characteristics of Salmonella in free-living birds in Poland. *BMC Vet Res*. 2015 Jan 31;11:15. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0332-x>
- (16) Hughes LA, Bennett M, Coffey P, et al. Molecular epidemiology and characterization of Campylobacter spp. isolated from wild bird populations in northern England. *Appl Environ Microbiol*. 2009 May;75(10):3007-15. <https://doi.org/10.1128/AEM.02458-08>
- (17) Martín-Maldonado B, Montoro-Dasi L, Pérez-Gracia MT, et al. Wild Bonelli's eagles (*Aquila fasciata*) as carrier of antimicrobial resistant Salmonella and Campylobacter in Eastern Spain. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2019 Dec;67:101372. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101372>
- (18) Marin C, Palomeque MD, Marco-Jiménez F, et al. Wild griffon vultures (*Gyps fulvus*) as a source of Salmonella and Campylobacter in Eastern Spain. *PLoS One*. 2014 Apr 7;9(4):e94191. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094191>
- (19) Santos T, Silva N, Igrejas G, et al. Dissemination of antibiotic resistant Enterococcus spp. and Escherichia coli from wild birds of Azores Archipelago. *Anaerobe*. 2013 Dec;24:25-31. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.09.004>
- (20) Ahlstrom CA, Ramey AM, Woksepp H, Bonnedahl J. Early emergence of mcr-1-positive Enterobacteriaceae in gulls from Spain and Portugal. *Environ Microbiol Rep*. 2019 Oct;11(5):669-71. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12779>
- (21) Silva N, Igrejas G, Rodrigues P, et al. Molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum β -lactamase-containing Escherichia coli isolates in wild birds from the Azores Archipelago. *Avian Pathol*. 2011 Oct;40(5):473-9. <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.599061>
- (22) Radhouani H, Poeta P, Gonçalves A, et al. Wild birds as biological indicators of environmental pollution: antimicrobial resistance patterns of Escherichia coli and enterococci isolated from common buzzards (*Buteo buteo*). *J Med Microbiol*. 2012 Jun;61(Pt 6):837-43. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.038364-0>
- (23) Pista A, Silveira L, Ribeiro S, et al. Pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. in Two Natural Conservation Centers of Wildlife in Portugal: Genotypic and Phenotypic Characterization. *Microorganisms*. 2022 Oct 27;10(11):2132. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112132>
- (24) ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.
- (25) ISO 10272-1:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of Campylobacter spp. - Part 1: Detection method
- (26) Grimont PAD, Weill FX; WHO collaborating centre for reference and research on Salmonella. Antigenic formulae of the Salmonella serovars. 9th ed. Paris: Institute Pasteur, 2007. https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
- (27) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022.
- (28) Hughes LA, Bennett M, Coffey P, et al. Risk factors for the occurrence of Escherichia coli virulence genes eae, stx1 and stx2 in wild bird populations. *Epidemiol Infect*. 2009 Nov;137(11):1574-82. <https://doi.org/10.1017/S0950268809002507>
- (29) Konicek C, Vodrážka P, Barták P, et al. Detection of Zoonotic Pathogens in Wild Birds in the Cross-Border Region Austria - Czech Republic. *J Wildl Dis*. 2016 Oct;52(4):850-61. <https://doi.org/10.7589/2016-02-038>
- (30) Kobayashi H, Pohjanvirta T, Pelkonen S. Prevalence and characteristics of intimin and Shiga toxin-producing Escherichia coli from gulls, pigeons and broilers in Finland. *J Vet Med Sci*. 2002 Nov;64(11):1071-3. <https://doi.org/10.1292/jvms.64.1071>
- (31) Tryjanowski P, Nowakowski JJ, Indykiewicz P, et al. Campylobacter in wintering great tits *Parus major* in Poland. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020 Mar;27(7):7570-7577. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07502-y>
- (32) Waldenström J, Broman T, Carlsson I, et al. Prevalence of Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, and Campylobacter coli in different ecological guilds and taxa of migrating birds. *Appl Environ Microbiol*. 2002 Dec;68(12):5911-7. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.5911-5917.2002>
- (33) Waldenström J, On SL, Ottvall R, Hasselquist D, Olsen B. Species diversity of campylobacteria in a wild bird community in Sweden. *J Appl Microbiol*. 2007 Feb;102(2):424-32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03090.x>
- (34) Zeballos-Gross D, Rojas-Sereno Z, Salgado-Caxito M, et al. The Role of Gulls as Reservoirs of Antibiotic Resistance in Aquatic Environments: A Scoping Review. *Front Microbiol*. 2021 Jul 23;12:703886. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703886>
- (35) Stedt J, Bonnedahl J, Hernandez J, et al. Carriage of CTX-M type extended spectrum β -lactamases (ESBLs) in gulls across Europe. *Acta Vet Scand*. 2015 Nov 2;57:74. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0166-3>
- (36) Atterby C, Börjesson S, Ny S, et al. ESBL-producing Escherichia coli in Swedish gulls-A case of environmental pollution from humans? *PLoS One*. 2017 Dec 28;12(12):e0190380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190380>
- (37) Aires-de-Sousa M, Fournier C, Lopes E, et al. High Colonization Rate and Heterogeneity of ESBL- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolated from Gull Feces in Lisbon, Portugal. *Microorganisms*. 2020 Sep 28;8(10):1487. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101487>
- (38) Aires-de-Sousa M, Lopes E, Gonçalves ML, et al. Intestinal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae at admission in a Portuguese hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Apr;39(4):783-90. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03798-3>
- (39) Jones-Dias D, Manageiro V, Ferreira E, et al.; Antibiotic Resistance Surveillance Program in Portugal (ARSIP) participants; Caniça M. Diversity of extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in Enterobacteriaceae isolates from Portuguese health care facilities. *J Microbiol*. 2014 Jun;52(6):496-503. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-3420-x>
- (40) Rodrigues C, Machado E, Fernandes S, et al. An update on faecal carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae by Portuguese healthy humans: detection of the H30 subclone of B2-ST131 Escherichia coli producing CTX-M-27. *J Antimicrob Chemother*. 2016 Apr;71(4):1120-2. <https://doi.org/10.1093/jac/ckv443>
- (41) Peirano G, Pitout JDD. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. *Drugs*. 2019 Sep;79(14):1529-41. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01180-3>
- (42) Rodrigues C, Machado E, Pires J, et al. Increase of widespread A, B1 and D Escherichia coli clones producing a high diversity of CTX-M-types in a Portuguese hospital. *Future Microbiol*. 2015;10(7):1125-31. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.38>
- (43) Yu F, Chen X, Zheng S, et al. Prevalence and genetic diversity of human diarrheagenic Escherichia coli isolates by multilocus sequence typing. *Int J Infect Dis*. 2018 Feb;67:7-13. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.11.025>
- (44) Manges AR, Geum HM, Guo A, et al. Global Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli (ExPEC) Lineages. *Clin Microbiol Rev*. 2019 Jun 12;32(3):e00135-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00135-18>
- (45) Achtman M, Wain J, Weill FX, et al.; S. Enterica MLST Study Group. Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in Salmonella enterica. *PLoS Pathog*. 2012;8(6):e1002776. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002776>
- (46) Solari CA, Mandarino JR, Panizzutti MH, et al. A new serovar and a new serological variant belonging to Salmonella enterica subspecies diarizonae. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003 Jun;98(4):501-2. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762003000400013>
- (47) Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, et al. Global Epidemiology of Campylobacter Infection. *Clin Microbiol Rev*. 2015 Jul;28(3):687-720. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-15>
- (48) Batista R, Saraiva M, Lopes T, Silveira L, Coelho A, Furtado R, Castro R, Correia CB, Rodrigues D, Henriques P, Lóio S, Soeiro V, da Costa PM, Oleastro M, Pista A. Genotypic and Phenotypic Characterization of Pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp., and Campylobacter spp., in Free-Living Birds in Mainland Portugal. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Dec 23;20(1):223. <https://doi.org/10.3390/ijerph20010223>

***Escherichia coli* patogénica, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. em dois Centros de Conservação da Vida Selvagem em Portugal: caracterização genotípica e fenotípica**

Pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. in two Natural Conservation Centers of Wildlife in Portugal: genotypic and phenotypic characterization

Ângela Pista ¹, Leonor Silveira ¹, Sofia Ribeiro ¹, Mariana Fontes ¹, Rita Castro ¹, Anabela Coelho ², Rosália Furtado ², Teresa Lopes ³, Carla Maia ², Verónica Mixão ⁴, Vítor Borges ⁴, Ana Sá ⁵, Vanessa Soeiro ⁶, Cristina Belo Correia ², João Paulo Gomes ^{4,7}, Margarida Saraiva ³, Mónica Oleastro ¹, Rita Batista ²

rita.batista@insa.min-saude.pt

- (1) Laboratório Nacional de Referência de Infecções Gastrointestinais. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal
(2) Laboratório de Microbiologia. Unidade de Referência. Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal
(3) Laboratório de Microbiologia. Unidade de Referência. Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Porto, Portugal
(4) Unidade de Investigação do Núcleo de Genómica e Bioinformática. Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal
(5) Tapada Nacional de Mafra, Mafra, Portugal
(6) Centro de Recuperação de Fauna do Parque Biológico de Gaia, Vila Nova de Gaia, Portugal
(7) Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, Portugal
(8) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

_Resumo

A coexistência entre humanos e animais selvagens pode aumentar o risco de transmissão direta de agentes patogénicos zoonóticos emergentes ou reemergentes para humanos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de três importantes agentes patogénicos de origem alimentar em animais selvagens de dois centros de conservação da vida selvagem, em Portugal. Para tal, foram testadas 132 amostras fecais para a presença de *Escherichia coli* (*E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) e não produtora de toxina Shiga (não-STEC)), *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp.. Foi realizada a caracterização genotípica (pesquisa de genes de virulência, pesquisa de genes de resistência a antimicrobianos (AMR), sequenciação total do genoma (WGS)) e fenotípica (serotipagem e perfis de AMR) de todos os isolados de interesse.

No geral, 62 amostras testaram positivo para pelo menos uma das espécies analisadas: 27,3% para STEC, 11,4% para não-STEC, 3,0% para *Salmonella* spp. e 6,8% para *Campylobacter* spp. Foi detetada resistência a antimicrobianos em quatro isolados de *E. coli* e no único isolado de *Campylobacter coli*. A análise de WGS revelou que 57,7% (30/52) das *E. coli* patogénicas integram agrupamentos genéticos de isolados fortemente relacionados (muitas vezes envolvendo diferentes espécies de animais), indicando a existência de circulação e transmissão de diferentes estirpes patogénicas de *E. coli* nas áreas estudadas.

Estes resultados apoiam a ideia de que a saúde dos seres humanos, dos animais e dos ecossistemas são interdependentes, reforçando a importância de uma abordagem *One Health* (Uma Só Saúde) para melhor monitorizar e controlar as ameaças em saúde pública.

_Abstract

Human-wildlife coexistence may increase the potential risk of direct transmission of emergent or re-emergent zoonotic pathogens to humans. Intending to assess the occurrence of three important foodborne patho-

gens in wild animals of two wildlife conservation centers in Portugal. We investigated 132 fecal samples for the presence of pathogenic *E. coli* (Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) and non-STEC), *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp.. Genotypic characterization (search for virulence and antimicrobial resistance (AMR) genes, Whole-Genome Sequencing (WGS)), as well as phenotypic characterization (serotyping and AMR profiles) of all isolates of interest were performed.

Overall, 62 samples tested positive for at least one of these species: 27.3% for STEC, 11.4% for non-STEC, 3.0% for *Salmonella* spp. and 6.8% for *Campylobacter* spp. AMR was detected in four *E. coli* isolates and in the only *Campylobacter coli* isolated in this study. WGS analysis revealed that 57.7% (30/52) of pathogenic *E. coli* integrated genetic clusters of highly closely related isolates (often involving different animal species), supporting the circulation and transmission of different pathogenic *E. coli* strains in the studied areas.

These results support the idea that the health of humans, animals and ecosystems are interconnected, reinforcing the importance of a *One Health* approach to better monitor and control public health threats.

_Introdução

A interface entre vida selvagem, animais que se destinam à produção alimentar e seres humanos, representa um ponto crítico de interação entre espécies e consequente transmissão e emergência/reemergência de agentes patogénicos em novas populações hospedeiras ⁽¹⁾. De facto, das mais de 1400 espécies de agentes patogénicos que afetam o ser humano, mais de metade são de origem zoonótica. Estes agentes patogénicos podem ter uma ampla gama de hospedeiros.

deiros, sendo por isso, uma tarefa complexa avaliar as associadas potenciais perdas económicas diretas e indiretas, em setores como a saúde pública, saúde animal e meio ambiente (2-4). Como tal, é crucial a implementação de programas integrativos de vigilância da vida selvagem, seguindo uma abordagem *One Health* (Uma Só Saúde), de forma a melhor compreendermos a interconetividade dos diferentes agentes patogénicos presentes em amostras clínicas humanas, nos animais e no ambiente e, conseqüentemente, melhor detetarmos e controlarmos as ameaças em saúde pública (5,6).

Os javalis (*Sus scrofa*) são uma espécie com uma distribuição geográfica mundial e com um aumento significativo na Europa nas últimas décadas (7). Em Portugal, javalis e espécies de cervídeos (veado vermelho- *Cervus elaphus* e gamo- *Cervus dama*) são encontrados, principalmente, em áreas limitadas e controladas. Estas espécies são consideradas potenciais vetores na transmissão de agentes patogénicos para os seres humanos, quer por contacto direto, por exemplo, no contexto de atividades de caça, quer por contaminação indireta de alimentos, águas ou áreas ambientais frequentadas por pessoas ou animais de estimação, através da urina ou fezes.

Embora já existam alguns estudos na Europa, no contexto da *One Health*, acerca do potencial papel dos animais selvagens como reservatórios de presumíveis zoonoses, estes são escassos e normalmente focados num só agente patogénico (8-19).

_Objetivos

Este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de três importantes agentes patogénicos de origem alimentar, *E. coli* patogénica, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. em animais selvagens (javalis, veados vermelhos, gamos, ouriços (*Erinaceus europaeus*) e ginetas (*Genetta genetta*)) de duas populações e habitats diferentes, e caracterizar os serotipos, os marcadores de virulência, os perfis de resistência a antimicrobianos (AMR) e a diversidade genética dos isolados obtidos. Como os animais selvagens podem atuar como reservatórios eficientes de AMR, foi realizada a deter-

minação do perfil de AMR de uma fração das estirpes de *E. coli* não patogénicas. Foi também realizada uma análise de clusters dos isolados patogénicos de *E. coli*.

_Materiais e métodos

Populações estudadas e colheita de amostras

Este trabalho abrangeu duas áreas geográficas distintas, uma no distrito de Lisboa (Tapada Nacional de Mafra) e outra no norte de Portugal (Parque Biológico de Gaia). Foram colhidas 132 amostras individuais de fezes frescas de animais em liberdade entre julho de 2020 e junho de 2021. As amostras foram colhidas com material próprio esterilizado, mantidas refrigeradas e processadas de imediato após entrada no laboratório.

Métodos de isolamento e de caracterização fenotípica e genotípica

As estirpes foram isoladas recorrendo a métodos de isolamento convencionais. Para o caso de *E. coli* o isolamento foi efetuado como descrito em Pista *et al.* (20), para *Salmonella* spp., em conformidade com a ISO 6579-1:2017 (21), e para *Campylobacter* spp. em conformidade com a ISO 10272-1:2017 (22). A serotipagem de *Salmonella* spp. foi efetuada de acordo com o esquema de Kauffmann-White-Le Minor (23) por aglutinação dos antigénios O e H. Os perfis de resistência a antibióticos foram determinados por difusão em disco, seguindo as recomendações e os limites da *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (24). A identificação de genes específicos associados à virulência e à resistência a antimicrobianos foi efetuada por PCR *multiplex* e/ou por sequenciação total do genoma (WGS). A análise de clusters (*core genome - Multilocus Sequence Typing*- cgMLST) dos 52 isolados patogénicos de *E. coli* foi realizada com base nos resultados de WGS utilizando a ferramenta ReporTree v1.0.0 (25) através do método MSTreeV2 do programa GrapeTree (26).

Resultados

Deteção e caracterização dos isolados

Na [tabela 1](#) estão compilados os resultados obtidos.

Sessenta e duas (62) das 132 amostras testadas (47,0%) apresentaram resultado positivo para pelo menos uma das

espécies bacterianas patogénicas analisadas. Estirpes patogénicas de *E. coli* (STEC e não-STECC), de *Salmonella* spp. e de *Campylobacter* spp. foram detetadas em 37,9% (50/132), 3,0% (4/132) e 6,8% (8/118) das amostras, respetivamente ([tabela 1](#)).

Tabela 1: STEC, não-STECC, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. nas 132 amostras testadas.

		TNM			CRFPBG		Total
		Javali	Gamo	Veado vermelho	Ouriço	Gineta	
Amostras testadas para <i>E. coli</i>		51	50	12	18	1	132
Isolados de <i>E. coli</i>	STEC No. (% amostras +)	3 (5,9)	29 (56,0*)	5 (41,7)	0	0	37 (27,3 ^a)
	EPEC No. (% amostras +)	3 (5,9)	7 (14,0)	1 (8,3)	1 (5,6)	0	12 (9,1)
	EETEC No. (% amostras +)	3 (5,9)	0	0	0	0	3 (2,3)
	Total No. (% amostras +)	9 (17,6)	36 (68,0*)	6 (50,0)	1 (5,5)	0	52 (37,9 ^a)
Amostras testadas para <i>Salmonella</i> spp.		51	50	12	18	1	132
Isolados de <i>Salmonella</i> spp.	<i>S. Enteritidis</i> No. (% amostras +)	1 (2,0)	0	0	0	0	1 (0,8)
	<i>S. Schleissheim</i> No. (% amostras +)	1 (2,0)	0	1 (8,3)	0	0	2 (1,5)
	<i>S. Veneziana</i> No. (% amostras +)	0	0	0	1 (5,6)	0	1 (0,8)
	Total No. (% amostras +)	2 (3,9)	0	1 (8,3)	1 (5,6)	0	4 (3,0)
Amostras testadas para <i>Campylobacter</i> spp.		39	50	12	16	1	118 ^b
Isolados de <i>Campylobacter</i> spp.	<i>C. hyointestinalis</i> No. (% amostras +)	7 (17,9)	0	0	0	0	7 (5,9)
	<i>C. coli</i> No. (% amostras +)	0	0	0	0	1 (100)	1 (0,8)
	Total No. (% amostras +)	7 (17,9)	0	0	0	1 (100)	8 (6,8)

TNM: Tapada Nacional de Mafra; CRFPBG: Centro de Recuperação de Fauna do Parque Biológico de Gaia; STEC: *E. coli* produtora de toxina Shiga; EPEC: *E. coli* enteropatogénica; EETEC: *E. coli* enterotoxigénica; ExPEC: *E. coli* Extraintestinal; No.: Número; + : Positivas. a Foram detetadas diferentes estirpes patogénicas de *E. coli* numa mesma amostra de fezes de um gamo, um isolado identificado como EPEC e outro como STECC, e dois isolados STECC foram detetados noutra amostra de fezes de gamo; b Em 14 amostras não foi conseguido material suficiente para a deteção de *Campylobacter* spp.

Teste de suscetibilidade a antimicrobianos e genotipagem dos isolados

Relativamente ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos, todos os isolados de *Salmonella* spp. foram fenotipicamente suscetíveis aos 17 antimicrobianos testados e o isolado de *Campylobacter coli* apresentou resistência à Ciprofloxacina, Tetraciclina e Ampicilina. No caso das estirpes de *E. coli*, a resistência a antimicrobianos foi detetada fenotipicamente em 4,7% dos isolados testados (4/85; em 5,8% dos isolados patogénicos e 3,0% dos não patogénicos), dos quais um foi classi-

ficado como resistente a múltiplos antimicrobianos (MDR). Um isolado de *E. coli* enterotoxigénica (EETEC) de uma amostra de fezes de javali apresentou resistência à Tetraciclina e ao Sulfametoxazol; um isolado de *E. coli* enteropatogénica (EPEC) de uma amostra de fezes de veado vermelho era resistente à Ampicilina, à Ciprofloxacina e ao Ácido Nalidíxico; um isolado EPEC de uma amostra de fezes de javali apresentou resistência à Ampicilina, Cloranfenicol e ao Sulfametoxazol (MDR) e um isolado não patogénico de *E. coli* da amostra de fezes da gineta era resistente ao Sulfametoxazol.

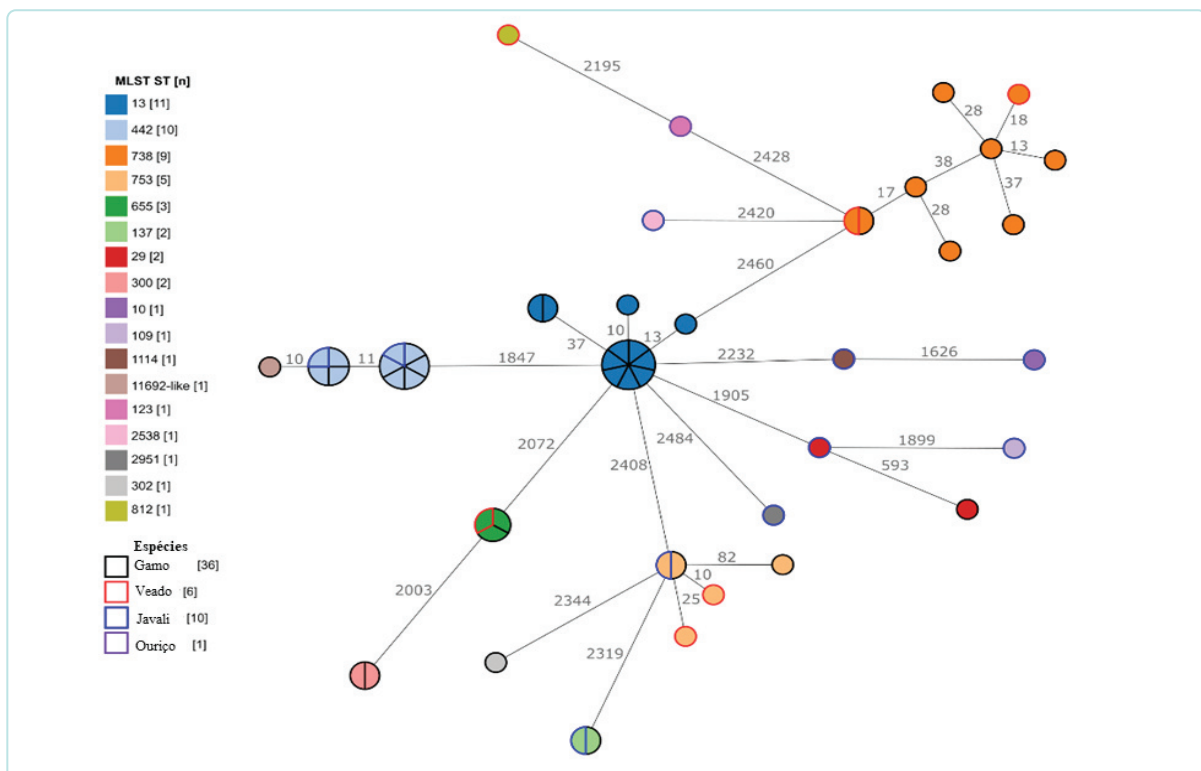
Quanto à genotipagem, os isolados de *S. Schleissheim* pertenciam aos ST53 (*Sequence Type* 53) e o de *S. Enteritidis* ao ST11. O isolado de *C. coli* foi identificado como pertencente ao ST1595. Entre os 52 isolados patogénicos de *E. coli*, foram identificados *in silico* 15 antígenos de tipo O e 10 de tipo H. Os serotipos mais prevalentes foram o O146:H21 e o O75:H8 (10 isolados de STEC cada), seguidos pelos serotipos O146:H28 (8 isolados de STEC) e O27:H30 (5 isolados de STEC). A tipagem de sequências multilocus (*Multilocus sequence Typing* – MLST) das estirpes patogénicas de *E. coli* identificou 16 STs, sendo o ST13 o mais comum (11 isolados), seguido pelo ST442 (10 isolados), ST738 (8 isolados) e ST753 (5 isolados).

Análise de clusters dos isolados patogénicos de *E. coli* (Core genome - *Multilocus Sequence Typing* - cgMLST)

Um passo fundamental na vigilância *One Health* é a avaliação da diversidade genética dos agentes patogénicos circu-

lantes, incluindo a identificação de estirpes que circulam entre diferentes espécies hospedeiras e/ou durante longos períodos de tempo. Para avaliar a proximidade genética dos 52 isolados patogénicos de *E. coli* foi realizada uma análise de cgMLST (figura 1). Foi considerado um *threshold* de 9 diferenças alélicas, abaixo do qual as estirpes foram consideradas potencialmente relacionadas a um nível semelhante àquele usado para deteção de surtos. Apesar de um número pequeno de amostras, verificou-se que 57,7% (30/52) dos isolados integraram *clusters*, num total de 9 (2 a 7 isolados por *cluster*). Seis dos nove *clusters* incluíam estirpes isoladas de diferentes espécies, no entanto, o maior *cluster* continha apenas isolados de amostras de fezes de gamo. De referir, que os dois isolados ST137 (figura 1) que formaram um *cluster*, apresentaram um perfil de resistência a antimicrobianos diferente (Suscetível vs. MDR).

Figura 1: Análise de clusters dos isolados patogénicos de *E. coli* (Core genome *Multilocus Sequence Typing* - cgMLST).



Cada círculo representa um isolado, ou um *cluster* de isolados com proximidade genética inferior ou igual a 9 diferenças alélicas. Cada divisão nos círculos respeitantes a *clusters* corresponde a um isolado. A cor interior dos círculos diz respeito aos *Sequence Types* (ST) e a cor do contorno dos mesmos corresponde à espécie animal de onde foi isolada a estirpe. As linhas ligam círculos com diferenças alélicas superiores a 9, com os números representando as diferenças alélicas encontradas.

_Discussão

A frequência de ocorrência de estirpes patogénicas de *E. coli* em amostras fecais de ungulados selvagens na Europa é extremamente variável. O valor de frequência encontrado neste estudo está de acordo com o relatado noutros estudos realizados recentemente em Itália (9) e na Polónia (15), mas é superior aos reportados em estudos realizados em Espanha (10) e Portugal (14). Esta heterogeneidade pode estar relacionada com diversos fatores, nomeadamente a proximidade de áreas urbanas, o número de animais por hectare ou a época do ano em que foi realizada a colheita da amostra. No que diz respeito aos resultados de frequência obtidos para *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. e à sua comparação com os obtidos em outros estudos europeus focados em amostras de fezes de ungulados, verifica-se também uma elevada heterogeneidade. No que diz respeito a *Salmonella* spp., são diversos os estudos que reportam a ausência deste agente patogénico nas amostras analisadas (17,27,28). No entanto, outros trabalhos reportam valores de frequência entre 1,1 e 10,8%, e há pelo menos um estudo que relata um valor superior em javalis (17,5%) (11,16,29-32), particularmente em populações que partilham o *habitat* com gado, onde a frequência aumenta para 35,7% (33). No caso de *Campylobacter* spp., existem vários estudos que reportam valores de frequência abaixo de 5% (16,27,28,34). No entanto, existe pelo menos um estudo, em Espanha, que referiu uma frequência de 15,2% em espécies selvagens da ordem *Artiodactyla* (35) e outro, realizado em Itália, que relatou um valor de frequência de 91,66% de *C. coli* em fezes de javalis em liberdade (18).

Na medida em que a resistência a antimicrobianos é uma ameaça mundial à saúde humana (36), foi realizado, neste trabalho, o perfil de resistência a antimicrobianos de todos os isolados patogénicos, bem como de uma parte dos isolados de *E. coli* comensais. De acordo com o relatório conjunto da Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) e do Centro Europeu de Controlo e Prevenção das Doenças (ECDC), de 2018/2019 - *European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic bacteria and indicator bacteria from humans, regarding animals and food* (37), todas

as resistências antimicrobianas identificadas neste estudo já estão bastante disseminadas entre os animais produtores de alimentos, reforçando a importância de uma abordagem *One Health* para melhor monitorizar e controlar as ameaças em saúde pública.

Relativamente à serotipagem e genotipagem dos isolados de interesse e à sua potencial relação com infeções em humanos, é de referir que *Salmonella* Enteritidis, um dos serotipos identificados, está entre os agentes patogénicos de origem alimentar mais prevalente em todo o mundo (38). O ST11, encontrado neste estudo associado a *Salmonella* Enteritidis tem sido relacionado com surtos recentes em vários países da Europa (39,40). O serotipo *Salmonella* Veneziana, isolado neste estudo de uma amostra de fezes de ouriço, já foi isolado em humanos (<https://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/senterica> [acedido em 6/12/2023]) e já foi potencialmente associado a um caso terminal de ileíte aguda (45). *Campylobacter coli*, espécie identificada neste trabalho na amostra de fezes da gineta, é a segunda espécie de *Campylobacter* mais frequentemente relatada em infeções em humanos (42). O ST1595 identificado já foi isolado de humanos com campylobacteriose (<https://pubmlst.org/organisms/campylobacter-jejunicoli> [acedido em 6/10/2022]). O serovar *Campylobacter hyointestinalis*, isolado aqui de 7 amostras de javalis, já foi isolado de diversas espécies animais e é um membro emergente das espécies de *Campylobacter* capaz de causar doença em humanos (43). Com referência aos resultados da tipagem de *E. coli*, é relevante mencionar que três dos antigénios O identificados pertencem aos 20 serogrupos mais frequentemente relatados em casos confirmados de infeções humanas por STEC na UE/EEE em 2015–2017 (O145, O146, O121) (44). Além disso, o serotipo O26:H11, que é considerado como um dos mais comuns em estirpes STEC não-O157, causando doença em humanos em muitos países (45), foi detetado, neste estudo, numa amostra de fezes de gamo. Duas das *Sequence types* (ST) de *E. coli* que foram mais frequentemente detetadas (ST442 e ST738) neste estudo, já foram previamente relacionadas com casos de doença humana (46,47).

Em relação à análise de *clusters* dos 52 isolados patogénicos de *E. coli*, é de realçar que seis dos nove *clusters* identificados compreendem estirpes isoladas de diferentes espécies, evidenciando transmissão direta ou indireta destes isolados entre animais coabitando na Tapada Nacional de Mafra. A multirresistência a antimicrobianos observada num dos isolados ST137 que formam um *cluster* (figura 1), poderá ter sido adquirida por transferência horizontal de genes. Não é de descartar a hipótese da circulação de determinantes de resistência a antimicrobianos na Tapada Nacional de Mafra estar, eventualmente, relacionada com a proximidade entre a população estudada e os humanos, durante as visitas ou as atividades de caça. O rio que atravessa a Tapada Nacional de Mafra, pode também ser uma interface entre vida selvagem, animais que se destinam à produção alimentar e seres humanos a ter em consideração.

Conclusão

Foi atingido um patamar sem precedentes numa variedade de fatores relacionados com a ecologia e transmissão de doenças (nomeadamente a pressão crescente dos seres humanos sobre os ecossistemas naturais e as interações crescentes entre as diferentes espécies), sendo esta uma preocupação para o controlo de doenças na vida selvagem. A vigilância sanitária animal é reconhecida como um elemento-chave na prevenção de riscos em saúde pública relacionados com doenças zoonóticas emergentes.

O presente estudo confirma que os animais selvagens constituem importantes reservatórios de agentes patogénicos zoonóticos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp., incluindo estirpes resistentes/ multirresistentes a antimicrobianos. Estes resultados reforçam a importância de uma abordagem *One Health*, mostrando que uma melhor compreensão da ecologia comunitária é essencial para uma melhor compreensão das ligações epidemiológicas entre todos os intervenientes do *continuum* vida selvagem, animais que se destinam à produção alimentar e seres humanos.

Este artigo corresponde a uma versão reduzida em português do artigo: Pista A, Silveira L, Ribeiro S, Fontes M, Castro R, Coelho A, Furtado R, Lopes T, Maia C, Mixão V, Borges V, Sá A, Soeiro V, Correia CB, Gomes JP, Saraiva M, Oleastro M, Batista R. *Pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. in Two Natural Conservation Centers of Wildlife in Portugal: Genotypic and Phenotypic Characterization*. *Microorganisms*. 2022 Oct 27;10(11):2132. doi: 10.3390/microorganisms10112132

Referências bibliográficas:

- (1) Hassell JM, Begon M, Ward MJ, et al. Urbanization and Disease Emergence: Dynamics at the Wildlife-Livestock-Human Interface. *Trends Ecol Evol*. 2017 Jan;32(1):55-67. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.09.012>
- (2) Woolhouse ME, Gowtage-Sequeria S. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg Infect Dis*. 2005 Dec;11(12):1842-7. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050997>
- (3) Martins SB, Häslér B, Rushton J. Economic Aspects of Zoonoses: Impact of Zoonoses on the Food Industry. In: Sing, A. (ed) *Zoonoses - Infections Affecting Humans and Animals*. Dordrecht: Springer, 2014. pp. 1107-26. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9457-2_45
- (4) European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA J*. 2022 Dec 13;20(12):e07666. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666>
- (5) Aguirre AA, Longcore T, Barbieri M, et al. The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. *Ecohealth*. 2019 Jun;16(2):378-90. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01405-7>. Erratum in: *Ecohealth*. 2019 Jun 5.
- (6) Latif AA, Mukaratirwa S. Zoonotic origins and animal hosts of coronaviruses causing human disease pandemics: A review. *Onderstepoort J Vet Res*. 2020 Dec 21;87(1):e1-e9. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v87i1.1895>
- (7) Massei G, Kindberg J, Licoppe A, et al. Wild boar populations up, numbers of hunters down? A review of trends and implications for Europe. *Pest Manag Sci*. 2015 Apr;71(4):492-500. <https://doi.org/10.1002/ps.3965>
- (8) Mora A, López C, Dhabí G, et al. Seropathotypes, Phylogroups, Stx subtypes, and intimin types of wildlife-carried, shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains with the same characteristics as human-pathogenic isolates. *Appl Environ Microbiol*. 2012 Apr;78(8):2578-85. <https://doi.org/10.1128/AEM.07520-11>
- (9) Bertelloni F, Cilia G, Bogi S, et al. Pathotypes and Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Wild Boar (*Sus scrofa*) in Tuscany. *Animals (Basel)*. 2020 Apr 24;10(4):744. <https://doi.org/10.3390/ani10040744>
- (10) Alonso CA, Mora A, Díaz D, et al. Occurrence and characterization of stx and/or eae-positive *Escherichia coli* isolated from wildlife, including a typical EPEC strain from a wild boar. *Vet Microbiol*. 2017 Aug;207:69-73. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.05.028>
- (11) Sannó A, Aspán A, Hestvik G, et al. Presence of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Escherichia coli* O157:H7 in wild boars. *Epidemiol Infect*. 2014 Dec;142(12):2542-7. <https://doi.org/10.1017/S0950268814000119>
- (12) Sánchez S, Martínez R, García A, et al. Detection and characterisation of O157:H7 and non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in wild boars. *Vet Microbiol*. 2010 Jul 14;143(2-4):420-3. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.016>

artigos breves_ n. 4

- (13) Navarro-Gonzalez N, Porrero MC, Mentaberre G, et al. Escherichia coli O157:H7 in wild boars (*Sus scrofa*) and Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) sharing pastures with free-ranging livestock in a natural environment in Spain. *Vet Q.* 2015 Jun;35(2):102-6. <https://doi.org/10.1080/01652176.2015.1023404>
- (14) Dias D, Caetano T, Torres RT, et al. Shiga toxin-producing Escherichia coli in wild ungulates. *Sci Total Environ.* 2019 Feb 15;651(Pt 1):203-209. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.162>
- (15) Szczerba-Turek A, Socha P, Bancercz-Kisiel A, et al. Pathogenic potential to humans of Shiga toxin-producing Escherichia coli isolated from wild boars in Poland. *Int J Food Microbiol.* 2019 Jul 2;300:8-13. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.04.004>
- (16) Navarro-Gonzalez N, Casas-Díaz E, Porrero CM, et al. Food-borne zoonotic pathogens and antimicrobial resistance of indicator bacteria in urban wild boars in Barcelona, Spain. *Vet Microbiol.* 2013 Dec 27;167(3-4):686-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.037>
- (17) Wachek S, Fredriksson-Ahomaa M, König M, Stolle A, et al. Wild boars as an important reservoir for foodborne pathogens. *Foodborne Pathog Dis.* 2010 Mar;7(3):307-12. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0367>
- (18) Marotta F, Di Marcantonio L, Janowicz A, et al. Genotyping and Antibiotic Resistance Traits in Campylobacter jejuni and coli From Pigs and Wild Boars in Italy. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Oct 15;10:592512. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.592512>
- (19) Mokracka J, Krzymińska S, Altunin D, et al. In vitro virulence characteristics of rare serovars of Salmonella enterica isolated from sand lizards (*Lacerta agilis* L.). *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2018 Oct;111(10):1863-70. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1079-8>
- (20) Pista A, Silveira L, Ribeiro S, et al. Pathogenic Escherichia coli, Salmonella spp. and Campylobacter spp. in Two Natural Conservation Centers of Wildlife in Portugal: Genotypic and Phenotypic Characterization. *Microorganisms.* 2022 Oct 27;10(11):2132. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112132>
- (21) ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.
- (22) ISO 10272-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of Campylobacter spp. — Part 1: Detection method
- (23) Grimont PAD, Weill FX; WHO collaborating centre for reference and research on Salmonella. Antigenic formulae of the Salmonella serovars. 9th ed. Paris: Institute Pasteur, 2007. https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
- (24) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022.
- (25) Mixão V, Pinto M, Sobral D, et al. ReporTree: a surveillance-oriented tool to strengthen the linkage between pathogen genetic clusters and epidemiological data. *Genome Med.* 2023 Jun 15;15(1):43. <https://doi.org/10.1186/s13073-023-01196-1>
- (26) Zhou Z, Alikhan NF, Sergeant MJ, et al. GrapeTree: visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens. *Genome Res.* 2018 Sep;28(9):1395-1404. <https://doi.org/10.1101/gr.232397.117>
- (27) Kemper N, Aschfalk A, Höller C. Campylobacter spp., Enterococcus spp., Escherichia coli, Salmonella spp., Yersinia spp., and Cryptosporidium oocysts in semi-domesticated reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) in Northern Finland and Norway. *Acta Vet Scand.* 2006 Jun 14;48(1):7. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-48-7>
- (28) Lillehaug A, Bergsjø B, Schau J, et al. Campylobacter spp., Salmonella spp., verocytotoxic Escherichia coli, and antibiotic resistance in indicator organisms in wild cervids. *Acta Vet Scand.* 2005;46(1-2):23-32. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-46-23>
- (29) Cilia G, Turchi B, Fratini F, et al. Prevalence, Virulence and Antimicrobial Susceptibility of Salmonella spp., Yersinia enterocolitica and Listeria monocytogenes in European Wild Boar (*Sus scrofa*) Hunted in Tuscany (Central Italy). *Pathogens.* 2021 Jan 20;10(2):93. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020093>
- (30) Sannö A, Rosendal T, Aspán A, et al. Distribution of enteropathogenic Yersinia spp. and Salmonella spp. in the Swedish wild boar population, and assessment of risk factors that may affect their prevalence. *Acta Vet Scand.* 2018 Jul 3;60(1):40. <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0395-3>
- (31) Zottola T, Montagnaro S, Magnapera C, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of salmonella in European wild boar (*Sus scrofa*); Latium Region - Italy. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2013 Mar;36(2):161-8. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.11.004>
- (32) Gil Molino M, García Sánchez A, Risco Pérez D, et al. Prevalence of Salmonella spp. in tonsils, mandibular lymph nodes and faeces of wild boar from Spain and genetic relationship between isolates. *Transbound Emerg Dis.* 2019 May;66(3):1218-1226. <https://doi.org/10.1111/tbed.13140>
- (33) Navarro-Gonzalez N, Mentaberre G, Porrero CM, et al. Effect of cattle on Salmonella carriage, diversity and antimicrobial resistance in free-ranging wild boar (*Sus scrofa*) in northeastern Spain. *PLoS One.* 2012;7(12):e51614. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051614>
- (34) Navarro-Gonzalez N, Ugarte-Ruiz M, Porrero MC, et al. Campylobacter shared between free-ranging cattle and sympatric wild ungulates in a natural environment (NE Spain). *Ecohealth.* 2014 Sep;11(3):333-42. <https://doi.org/10.1007/s10393-014-0921-3>
- (35) Carbonero A, Paniagua J, Torralbo A, et al. Campylobacter infection in wild artiodactyl species from southern Spain: occurrence, risk factors and antimicrobial susceptibility. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2014 Mar;37(2):115-21. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2014.01.001>
- (36) Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* 2022 Feb 12;399(10325):629-55. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0). Epub 2022 Jan 19. Erratum in: *Lancet.* 2022 Oct 1;400(10358):1102.
- (37) European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. *EFSA J.* 2021 Apr 12;19(4):e06490. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6490>
- (38) Guard-Petter J. The chicken, the egg and Salmonella enteritidis. *Environ Microbiol.* 2001 Jul;3(7):421-30. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00213.x>
- (39) European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority. Multi-country outbreak of Salmonella Enteritidis sequence type (ST)11 infections linked to poultry products in the EU/EEA and the United Kingdom – 25 February 2021. Stockholm: ECDC/EFSA, 2021. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonella-enteritidis-multi-country-poultry-joint-outbreak-risk-assessment>
- (40) European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority. Multi-country outbreak of Salmonella Enteritidis sequence type (ST)11 infections linked to eggs and egg products – 8 February 2022. Stockholm: ECDC/EFSA, 2022. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/ROA_Salmonella-Enteritidis-ST11_2022_final.pdf
- (41) Dionisio D, Esperti F, Vivarelli A, et al. Acute terminal ileitis mimicking Crohn's disease caused by Salmonella veneziana. *Int J Infect Dis.* 2001;5(4):225-7. [https://doi.org/10.1016/s1201-9712\(01\)90077-3](https://doi.org/10.1016/s1201-9712(01)90077-3)
- (42) Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, et al. Global Epidemiology of Campylobacter Infection. *Clin Microbiol Rev.* 2015 Jul;28(3):687-720. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-15>
- (43) Wilkinson DA, O'Donnell AJ, Akhter RN, et al. Updating the genomic taxonomy and epidemiology of Campylobacter hyointestinalis. *Sci Rep.* 2018 Feb 5;8(1):2393. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20889-x>
- (44) European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA J.* 2018 Dec 12;16(12):e05500. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500>
- (45) Bielaszewska M, Mellmann A, Bletz S, et al. Enterohemorrhagic Escherichia coli O26:H11/H-: a new virulent clone emerges in Europe. *Clin Infect Dis.* 2013 May;56(10):1373-81. <https://doi.org/10.1093/cid/cit055>
- (46) Mellmann A, Fruth A, Friedrich AW, et al. Phylogeny and disease association of Shiga toxin-producing Escherichia coli O91. *Emerg Infect Dis.* 2009 Sep;15(9):1474-7. <https://doi.org/10.3201/eid1509.090161>
- (47) Fierz L, Cernela N, Hauser E, et al. Characteristics of Shigatoxin-Producing Escherichia coli Strains Isolated during 2010-2014 from Human Infections in Switzerland. *Front Microbiol.* 2017 Aug 3;8:1471. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01471>

***Mycobacterium caprae*: um agente zoonótico ignorado da tuberculose humana**

Mycobacterium caprae: a disregarded zoonotic agent of human tuberculosis

Carlos Quelhas¹, Marta Mendes², Pedro Rosa^{3,4}, Sandra Cavaco⁵

sandra.cavaco@iniav.pt ; pedro.rosa@insa.min-saude.pt

(1) Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, Lisboa, Portugal

(2) Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(3) Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa Portugal

(4) Associação Portuguesa de Saúde Ambiental. Barcelos, Portugal

(5) Laboratório Nacional de Referência de Tuberculose Bovina, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras, Portugal

_Resumo

A Organização Mundial de Saúde define tuberculose zoonótica como a forma de tuberculose no Homem causada predominantemente por *M. bovis*, um membro do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*. Contudo, outros membros daquele complexo, como *M. caprae*, apresentam também potencial zoonótico. Este trabalho incide sobre a tuberculose zoonótica por infeção *Mycobacterium caprae* na Europa e em Portugal, entre 2017 e 2023, com base em revisão preliminar da literatura.

Embora a incidência global daquela infeção seja baixa, em certos países europeus, como Alemanha, Áustria, Espanha e França, apresenta maior relevância. Em Portugal, estão identificados casos em bovinos e caprinos. Contudo, ao contrário dos bovinos, os caprinos apenas são testados quando em coabitação com bovinos infetados, pelo que apenas nesta situação, ou após achado de lesões suspeitas na inspeção sanitária ao abate, esta infeção naquela espécie é diagnosticada. No setor da saúde pública, após obtenção de resultado positivo para o Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, a identificação ao nível de espécie é feita apenas em situações particulares, pelo que poderá existir uma situação de subdiagnóstico.

A propagação da doença ocorre na interface Homem-Animal-Ambiente, envolvendo fatores como contaminação ambiental, circulação de *M. caprae* em pequenos ruminantes e espécies selvagens, e vias de transmissão para os humanos, nomeadamente o consumo de produtos contaminados e a exposição direta a animais infetados. Enfatiza-se assim a necessidade de uma abordagem *One Health* para monitorizar e prevenir eficazmente a tuberculose zoonótica, sugerindo-se a criação de um grupo de trabalho *One Health*, o desenvolvimento de políticas de prevenção e vigilância inter-setoriais, a análise genómica sistemática dos casos de tuberculose humana e de animais epidemiologicamente relacionados, e a sensibilização das populações com maior risco.

_Abstract

The World Health Organization defines zoonotic tuberculosis as a form of tuberculosis in humans caused predominantly by *M. bovis*, a member of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. However, other members of the complex, such as *M. caprae*, also have zoonotic potential. This work focuses on zoonotic tuberculosis caused by *Mycobacterium caprae* infection in Europe and Portugal, between 2017 and 2023, based on a preliminary literature review.

Although a low global incidence of that infection, in certain European countries, such as Germany, Austria, Spain and France, it is more relevant. In Portugal, cases were identified in cattle and goats. However, unlike cattle, goats are only tested when in cohabitation with infected cattle, so only in this situation, or after finding suspected lesions in the health inspection at slaughter, this infection in that species is diagnosed. In the Public Health sector, after obtaining a positive result for the *Mycobacterium tuberculosis* Complex, the identification to the species level is done only in particular situations, meaning that there may be a situation of underdiagnosis.

The spread of this zoonoses occurs at the Human-Animal-Environment interface, involving factors such as environmental contamination, circulation of *M. caprae* in small ruminants and wild species, and transmission routes to humans, including consumption of contaminated products and direct exposure to infected animals. All these factors highlight the importance of a *One Health* approach to effectively monitor and prevent zoonotic tuberculosis, with the creation of a *One Health* working group, the development of intersectoral prevention and surveillance policies, a systematic genomic analysis of epidemiologically related human and animal tuberculosis cases, and raising awareness of occupational risk in high-risk groups.

_Introdução e objetivo

A Organização Mundial de Saúde define tuberculose zoonótica como a forma de tuberculose no Homem causada predominantemente por *M. bovis*, um membro do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*. No entanto, outros membros daquele complexo, como *M. caprae*, *M. pinnipedii*, e *M. orygis*, foram relatados como estando na origem de casos de tuberculose humana.

Com base em revisão preliminar da literatura sobre a tuberculose zoonótica por infeção *Mycobacterium caprae* na Europa e em Portugal, entre 2017 e 2023, pretendeu-se fazer uma caracterização da situação em Portugal, no que diz respeito à infeção por *M. caprae*, integrando os setores da saúde pública e sanidade animal.

_Resultados e discussão

A tuberculose zoonótica por *M. bovis* e *M. caprae* ocorre esporadicamente na União Europeia e, dos 756 casos de infeção reportados entre 2017 e 2021 no Homem, a infeção por *M. caprae* foi identificada em apenas 44 casos (tabela 1) (1). Relatórios de estudos de população e dados de laboratórios de referência nacionais e instituições de vigilância indicam que, apesar da incidência da tuberculose zoonótica por *M. caprae* no Homem ser muito baixa em todo o mundo, esta desempenha um papel importante nos países da Europa Central e do Sul, nomeadamente na Alemanha, Áustria, Espanha e França, e na Turquia, representando 0,3% de todos os casos de tuberculose (2). Contudo, poderemos estar perante uma situação de subdiagnóstico pois, apesar de a tuberculose zoonótica ser uma doença de notificação obrigatória nos 27 Estados-membros nem sempre, após a identificação do Complexo *M. tuberculosis*, é efetuada a identificação de espécie. Neste contexto, importa salientar o trabalho de Martínez-Lirola *et al.* (3), no qual a análise genómica sistemática de casos de tuberculose humana na província de Almería em Espanha e comparação com isolados bacterianos obtidos de animais epidemiologicamente

relacionados, permitiu identificar e caracterizar uma extensa zoonose endémica envolvendo *M. caprae*, que permaneceu despercebida por 18 anos. Na Alemanha, num estudo retrospectivo utilizando amostras obtidas no Homem e em animais entre 1999 e 2001, verificou-se uma prevalência de 31% de casos de tuberculose humana por *M. caprae* (4).

Relativamente a Portugal, no período entre 2017 e 2023 foram identificados, no Laboratório Nacional de Referência da Tuberculose Animal (no Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária), 11 bovinos e 31 caprinos infetados por *M. caprae* (tabela 2). Contudo, em Portugal, apenas a tuberculose bovina é alvo de um programa de erradicação, não existindo nenhum programa de erradicação daquela zoonose nos caprinos, nos quais a testagem está prevista apenas nas situações de coabitação com um efetivo bovino infetado. Assim, esta infeção nos caprinos apenas é identificada naquela situação ou após achado de lesões suspeitas na inspeção sanitária ao abate, pelo que o estado sanitário daquela espécie relativamente à infeção por *M. caprae* não está caracterizado (figura 1).

No que diz respeito à tuberculose no Homem, em 2021 foram notificados 1513 casos, com o maior número de casos nos distritos do Porto, Lisboa e Setúbal. Contudo, o diagnóstico no Laboratório Nacional de Referência para Micobactérias (no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, INSA) é feito apenas até ao Complexo *M. tuberculosis*, sendo a identificação da espécie feita apenas em situações particulares, o que não permite caracterizar a situação desta zoonose em Portugal.

Tabela 1: ↓ Número de casos confirmados de tuberculose zoonótica por *M. bovis* e *M. caprae* na União Europeia (UE) no período de 2017 a 2021 ⁽¹⁾.

Nº casos confirmados na UE	2017	2018	2019	2020	2021	Total
<i>M. bovis</i>	204	168	141	96	103	712
<i>M. caprae</i>	9	13	11	3	8	44
Total	213	181	152	99	111	756

Tabela 2: ↓ Número de casos confirmados de tuberculose zoonótica por *M. caprae* em bovinos e caprinos em Portugal no período de 2017 a 2023.

Nº casos confirmados em Portugal	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	Total
Bovinos	9	0	1	1	0	0	0	11
Caprinos	0	1	0	22	0	0	9	31

_Conclusões

A propagação da tuberculose zoonótica ocorre na interface Homem – Animal – Ambiente, constituindo fatores de risco a contaminação ambiental por membros do Complexo *M. tuberculosis*, com potencial para infetar seres humanos e animais ⁽⁵⁾, a circulação de *M. caprae* nos pequenos ruminantes e em espécies selvagens ⁽⁶⁾ (javali, veado, raposa), que constitui uma fonte de infeção quer para os bovinos, com impacto negativo no sucesso do controlo da tuberculose naquela espécie, quer para o Homem e, finalmente, as vias de transmissão da tuberculose dos animais para o Homem que incluem o consumo de produtos de origem animal contaminados, bem como a exposição direta a animais infetados.

Assim, à semelhança de outras zoonoses, é necessário o envolvimento ativo de diversos setores e disciplinas, ou seja, uma abordagem *One Health*, baseada numa eficaz comunicação intersetorial (Saúde Pública – Saúde Animal – Ambiente – Saúde Ocupacional), que permitirá a monitorização de casos ao nível da Saúde Pública e Sanidade Animal, permitindo a prevenção eficaz, a deteção precoce e a tomada de medidas de controlo atempadas.

Sugere-se, assim, como prioridades em Portugal:

- A criação de um grupo de trabalho *One Health* dedica do à tuberculose zoonótica, para numa primeira fase proceder ao estudo da prevalência desta zoonose no Homem e animais;
- Desenvolver e implementar políticas e diretrizes intersetoriais para a prevenção, vigilância e diagnóstico da tuberculose zoonótica, nomeadamente:
 - A implementação de sistemas de vigilância nos pequenos ruminantes, espécies selvagens e ambiente, para avaliação da prevalência de membros do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, nomeadamente *M. caprae*;
 - A análise genómica sistemática dos casos de tuberculose humana e de animais epidemiologicamente relacionados, para identificação atempada de surtos de tuberculose zoonótica;
- Aumentar a consciencialização da tuberculose zoonótica, com o envolvimento das principais partes interessadas públicas e privadas, alertando para a realidade do risco ocupacional e necessidade de sensibilização dos trabalhadores que lidam com animais infetados ou potencialmente infetados com tuberculose para a importância da tomada de medidas de proteção individual.

Artigo baseado em trabalho apresentado na sessão *One Health Living Labs*, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, 3 de novembro 2023.

Referências bibliográficas:

- (1) European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. EFSA J. 2022 Dec 13;20(12):e07666. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666>
- (2) Prodingner WM, Indra A, Koksalan OK, et al. Mycobacterium caprae infection in humans. Expert Rev Anti Infect Ther. 2014 Dec;12(12):1501-13. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.974560>
- (3) Martínez-Lirola M, Herranz M, Buenestado Serrano S, et al. A One Health approach revealed the long-term role of Mycobacterium caprae as the hidden cause of human tuberculosis in a region of Spain, 2003 to 2022. Euro Surveill. 2023 Mar;28(12):2200852. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.12.2200852>
- (4) Kubica T, Rüsche-Gerdes S, Niemann S. Mycobacterium bovis subsp. caprae caused one-third of human M. bovis-associated tuberculosis cases reported in Germany between 1999 and 2001. J Clin Microbiol. 2003 Jul;41(7):3070-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.7.3070-3077.2003>
- (5) Zhang H, Liu M, Fan W, et al. The impact of Mycobacterium tuberculosis complex in the environment on one health approach. Front Public Health. 2022 Sep 7;10:994745. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.994745>
- (6) Rodríguez S, Bezos J, Romero B, et al.; Spanish Network on Surveillance and Monitoring of Animal Tuberculosis. Mycobacterium caprae infection in livestock and wildlife, Spain. Emerg Infect Dis. 2011 Mar;17(3):532-5. <https://doi.org/10.3201/eid1703.100618>

Impacto das alterações climáticas na saúde ambiental: possíveis efeitos em One Health *Impact of climate change on environmental health: possible effects on One Health*

Elisabete Valério, João Brandão, Helena Rebelo

elisabete.valerio@insa.min-saude.pt

Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

_Resumo

O conceito *One Health* reconhece a interconexão entre pessoas, animais, plantas e ambiente, indicando que a saúde humana está ligada a todos os seres vivos e ao ambiente em geral. Neste contexto, é fácil perceber que são muitos os fatores que podem afetar a saúde humana.

Este artigo tem como objetivo apontar alguns fatores com capacidade de causar problemas de saúde ambiental, assim como despertar a consciência e sensibilizar a população, de que todos temos um papel ativo no impacto que as nossas ações têm na saúde global.

A sobreexploração dos recursos naturais, as diversas e contínuas fontes de poluição e as alterações climáticas são alguns exemplos de pressões ambientais com reflexos na saúde pública. Em consequência, desenvolvem-se atualmente esforços para contornar e mitigar alguns destes danos, como sejam o recurso à reutilização de águas residuais tratadas para usos não potáveis, o controlo de compostos químicos usados por exemplo na agricultura (ex. os azóis), a aplicação de métodos de análise capazes de identificar a origem das contaminações, entre outros.

É crucial sensibilizar a população sobre o impacto dos comportamentos individuais e coletivos na qualidade do ambiente e na saúde humana.

_Abstract

The "One Health" concept recognizes the interconnection between people, animals, plants and the environment, indicating that human health is linked to all living beings and the environment in general. In this context, it is easy to see there are many factors that can affect human health.

This article aims to point out some factors capable of causing Environmental Health problems, as well as raising awareness and sensitizing the population that we all have an active role in the impact that our actions have on global health.

The overexploitation of natural resources, the diverse and continuous sources of pollution and climate change are some examples of environmental pressures with consequences for public health. As a result, efforts are currently being made to overcome and mitigate some of these damages, such as the reuse of treated wastewater for non-potable uses, the control of chemical compounds used, for example, in agriculture (e.g. azoles), the application of analysis methods capable of identifying the origin of contamination, among others.

It is crucial to raise awareness among the population about the impact of individual and collective behaviors on the quality of the environment and human health.

_Introdução

O conceito *One Health* – Uma só Saúde, é uma abordagem que reconhece a interligação entre pessoas, animais, plantas e o ambiente que as acolhe, com o objetivo de alcançar mais e melhores resultados na área da saúde.

Este conceito indica que a saúde humana não depende apenas de cada indivíduo, está profundamente ligada a todos os seres vivos que nos rodeiam, desde os microrganismos aos grandes animais e ao ambiente. É também que a utilização não sustentável dos recursos naturais, em conjunto com a globalização, provoca desequilíbrios ambientais que afetam a saúde de todos os seres vivos e o aparecimento de doenças.

_Objetivo

Este artigo tem como objetivo apontar alguns fatores com capacidade de causar problemas de saúde ambiental, assim como despertar a consciência e sensibilizar a população, de que todos temos um papel ativo no impacto que as nossas ações têm na saúde global.

_Breve destaque para alguns fatores que podem afetar o ambiente e a saúde pública

Também as alterações climáticas, caracterizadas por um aquecimento global associado a episódios de seca e inundações e eventos climatéricos extremos, induzem modificações regionais, que se refletem na qualidade química e microbiológica da água, do ar, dos solos, das areias, dos alimentos, etc.

Hoje em dia, a disponibilidade de água, quer em quantidade quer em qualidade, encontra-se ameaçada, em parte devido à sua utilização desregrada, mas também devido às alterações climáticas que se fazem sentir de forma cada vez mais pronunciada, pelo que existe uma preocupação crescente

Figura 1: ⬇️ Alguns fatores que contribuem para o conceito *One Health*.



com a necessidade de reutilizar águas residuais tratadas para usos não potáveis como parte da solução para a crise global de escassez de água.

Uma gestão eficiente e sustentável dos recursos hídricos exige que seja utilizada Água para Reutilização (ApR) para usos não potáveis, tais como usos urbanos (lavagem de ruas ou contentores do lixo, rega de espaços verdes, entre outros), agrícolas, florestais, industriais, paisagísticos, entre outros, incluindo o suporte de ecossistemas (1).

Contudo, é necessário assegurar que ApR tenha qualidade de forma a garantir a sua reutilização segura. O Regulamento UE 2020/741 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de maio de 2020, aplicável a águas residuais urbanas tratadas utilizadas para a rega agrícola, estabelece os requisitos mínimos de qualidade da água e respetiva monitorização, bem como as disposições gerais sobre a gestão dos riscos para uma reutilização segura. Este normativo proporciona, assim, um elevado nível de proteção do ambiente e da saúde humana e animal ao mesmo tempo que contribui para promover a economia circular e apoiar a adaptação às alterações climáticas, claramente plasmando o conceito de *One Health* (1). Em Portugal, o Decreto-Lei n.º 119/2019, de 21 de agosto já contempla a maioria das disposições do Regulamento acima referido.

Tendo em conta que quanto mais poluídas estiverem as águas residuais urbanas, mais difícil será o seu tratamento,

será sempre necessária uma atenção especial a este aspeto de modo a não comprometer o ambiente e consequentemente a saúde humana e animal, tendo em conta a circularidade da exposição, tal como descrito no conceito *One Health*.

Por exemplo uma preocupação são os antibióticos presentes em águas residuais são um problema potencial porque: os contaminantes químicos podem ser ingeridos e causar problemas de saúde e, além disso, no meio aquático, as bactérias mais resistentes podem alterar a biodiversidade natural dos ecossistemas.

Os agentes patogénicos ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.) são conhecidos pela sua elevada resistência a múltiplas classes de antibióticos de primeira linha e também de último recurso. Estas bactérias são normalmente isoladas de ambientes clínicos e estão associados a infeções graves adquiridas em hospitais (nosocomiais). Os ESKAPE resistentes a antibióticos são também frequentemente isolados de fontes ambientais como águas superficiais, águas residuais, alimentos e solo (2).

Outro tipo de preocupação ambiental e de saúde pública diz respeito à utilização de diversos compostos químicos na agricultura. Um bom exemplo são os azóis, uma classe de antifúngicos amplamente utilizada. São usados para controlar o míldio e a ferrugem em cerca de metade das culturas de cereais e vinhas da União Europeia (UE). São moléculas estáveis que

atuam inibindo a enzima esteroide 14 α -desmetilase o que compromete a biossíntese do ergosterol e a estrutura celular dos fungos, impedindo o seu crescimento. A estabilidade molecular dos azóis permite que permaneçam ativos na água, no solo e em frutas e vegetais por vários meses o que pode resultar em efeitos ecológicos adversos. Além disso, o aumento do tempo de exposição dos fungos aos azóis aumenta a pressão de seleção de estirpes resistentes. O surgimento de fungos resistentes é também uma grande preocupação para a comunidade médica e científica e deve-se à utilização dos azóis como terapia de primeira linha para um grande número de infeções fúngicas em humanos. Os azóis mais comuns utilizados na agricultura são epoxiconazol, difenoconazol, propiconazol, bromuconazol e tebuconazol. Os azóis mais comuns utilizados na clínica são itraconazol, voriconazol, fluconazol e posaconazol. Todos esses azóis possuem estruturas moleculares, modos de ligação e altos níveis de resistência cruzada semelhantes, levando ao surgimento de estirpes resistentes e consequente exclusão destes compostos como primeira linha de tratamento de infeções fúngicas em animais, incluindo seres humanos (3).

Os episódios de cheias ou secas afetam a distribuição ambiental de poluentes químicos e microbiológicos. Por outro lado, o aumento da temperatura média gera alterações na flora microbiana criando, por exemplo, condições propícias ao desenvolvimento de florescências de cianobactérias nas massas de água, por vezes produtoras de cianotoxinas. Tudo isto representa potenciais riscos para a saúde pública.

Focando-nos agora nos contaminantes microbiológicos, embora os microrganismos patogénicos possam ter diversas origens, muitos tendem a surgir principalmente através de fontes de contaminação fecal, ou descamação da pele de animais. Os fungos esporulantes, por exemplo, espera-se, maioritariamente, que sejam residentes de um determinado solo, mas podem também surgir em resultado de propagação pelo ar de esporos com origem em fontes próximas.

As fontes de contaminação podem ser pontuais: quando o local de emissão dos poluentes está bem identificado, ou difusas: quando a emissão dos poluentes está dispersa e não tem um único ponto de descarga (4).

Relativamente às fontes possíveis de contaminação fecal de águas fluviais, os cursos de água podem ser contaminados pela agricultura, pecuária, áreas rurais ou urbanas e estações de tratamento de águas residuais (5).

No caso das águas balneares costeiras, é importante destacar que a principal fonte de contaminação dos ambientes aquáticos naturais está associada às águas de esgotos domésticos e industriais não-tratadas ou tratados inadequadamente (5).

No que toca à contaminação de origem fecal, é de referir ainda a intervenção animal resultando num aumento das bactérias indicadoras de contaminação fecal, ou FIBs. Para o controlo deste tipo de contaminação, importa averiguar a

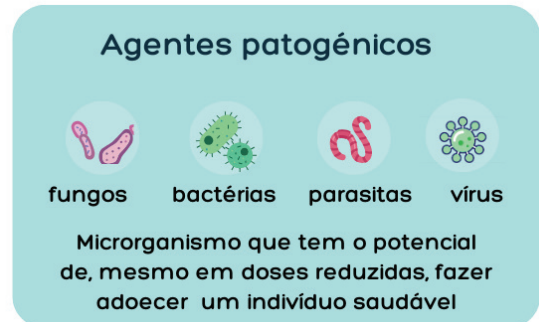
Figura 2: ↓ Resumo das principais fontes e rotas de entrada de contaminação fecal num ambiente (esquerda) e as origens da mesma (direita). (adaptado de (4))



origem destas bactérias, ou seja, perceber se têm origem humana, pecuária, em animais domésticos ou em aves marinhas selvagens, por exemplo. A ferramenta *Microbial Source Tracking* (MST) permite identificar de forma inequívoca as origens da contaminação fecal, tendo por base as seguintes premissas: 1) existe uma associação entre determinados microrganismos fecais e o respetivo hospedeiro; 2) as bactérias entéricas passam para o ambiente através das fezes. A metodologia MST surgiu no final do século XX e tem sido amplamente desenvolvida de modo a permitir identificar, de forma inequívoca, as possíveis origens da poluição fecal, incluindo as fontes difusas de contaminação (5).

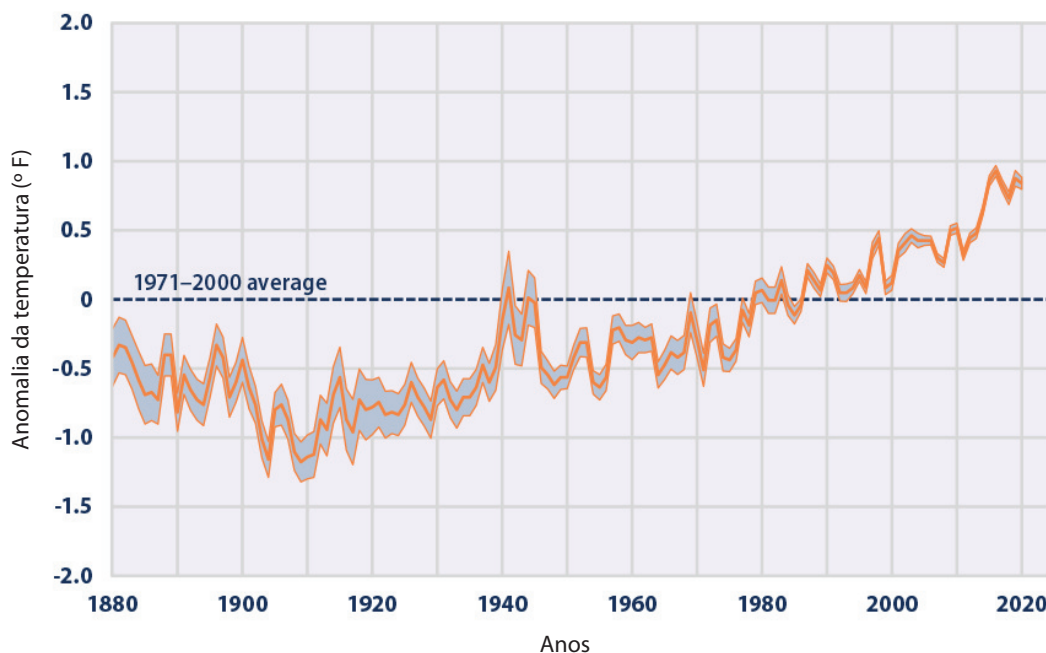
Recentemente foi aplicada também a areias balneares, tendo permitido identificar com sucesso as várias origens de contaminação das praias (6). Os espaços balneares, dada a sua natureza constituem um habitat favorável para o abrigo, a multiplicação e a disseminação de uma variedade de microrganismos, podendo assim expor os utilizadores a diversos riscos por inalação, aspiração de aerossóis e por contacto direto e indireto com areia ou água.

Figura 3: Agentes patogénicos.



As alterações climáticas podem também levar à seleção de agentes patogénicos mais termorresistentes, como se pensa ser eventualmente o caso do surgimento de *Candida auris* como agente patogénico (7) entre outros (8). Neste último artigo, Casadeval teoriza que o aquecimento global pode estar na origem do surgimento de *C. auris* como agente infeccioso, pelo seu ganho (por seleção natural) de termo-tolerância. Este organismo, possivelmente de origem aquática, foi encontrado num único local no ambiente até hoje, nas ilhas Andaman, na Índia. O aquecimento da superfície da água está registado pela *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA) de acordo com a figura 4.

Figura 4: Aumento da temperatura da superfície da água do mar até 2021 (NOAA, 2021).



Fonte: NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration). 2021. Extended reconstructed sea surface temperature (ERSST.v5). National Centers for Environmental Information. Accessed February 2021. <https://www.epa.gov/climate-indicators/climate-change-indicators-sea-surface-temperature>

_Conclusões

É importante sensibilizar a população geral para as consequências dos comportamentos individuais em todos os aspetos de uma economia circular, por exemplo no seu papel na disseminação de contaminações de origem fecal, ou por exemplo na propagação de genes de resistência a antimicrobianos.

Por outro lado, também é importante gerar conhecimento que permita identificar formas de propagação e surgimento de riscos.

Figura 5: Exemplicação de uma forma de comunicação possíveis de se utilizar para divulgar e informar, através de um folheto, com o intuito de sensibilizar a população em geral⁽⁴⁾.

O MAR E A AREIA PODEM ESCONDER SEGREDOS

ENTRE CADA ONDA E GRÃO DE AREIA HÁ ALGO QUE TU NÃO VÊS, MAS QUE TEM UMA ENORME REPERCUSSÃO EM TI

PROTEGE A PRAIA AO ADOTAR OS SEGUINTE COMPORTAMENTOS:

- Cumpe as restrições relativas ao acesso das praias
- Utiliza toalhas limpas e mantém uma boa higiene pessoal
- Não deixes a praia suja e ajuda a eliminar o lixo visível
- Utiliza as instalações adequadas ao seu fim
- Apanha e descarta corretamente os dejetos dos animais, nunca descurando as áreas em redor da praia

NÃO PROCURES SÓ TER BOAS MEMÓRIAS DO TEMPO QUE PASSASTE NA PRAIA, PROCURA TAMBÉM GARANTIR A QUALIDADE E A SEGURANÇA DA MESMA, PARA QUE CONTINUES A CONSTRUIR NOVAS MEMÓRIAS

Procura obter mais informações

Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge

Laboratório - Biologia Molecular em Saúde Ambiental

<http://www.insa.min-saude.pt/>

Grafismo: M. Santos

MICROBIAL SOURCE TRACKING (MST)

UM CONJUNTO DE FERRAMENTAS QUE IDENTIFICAM AS FONTES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

ÁGUAS & AREIAS

Agradecimento:

Os autores agradecem à Maria Leonor Santos a conceção das figuras 2, 3 e 5.

Referências bibliográficas:

- (1) Agência Portuguesa do Ambiente. Água para Reutilização (ApR) (online). (consult. 12.12.2023). <https://apambiente.pt/agua/agua-para-reutilizacao-apr>
- (2) Denissen J, Reyneke B, Waso-Reyneke M, et al. Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. *Int J Hyg Environ Health*. 2022 Jul;244:114006. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.114006>.
- (3) Simões D, de Andrade E, Sabino R. Fungi in a One Health Perspective. *Encyclopedia*. 2023; 3(3):900-918. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia3030064>
- (4) Santos, ML. Uso de marcadores moleculares na identificação das fontes de contaminação fecal em amostras de água e de areia. (Dissertação de mestrado em Biologia Humana e Ambiente, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 2022). <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/53616>
- (5) Santos, ML, Brandão J, Valério E. O paradigma da contaminação fecal de águas balneares, nem sempre o humano é culpado. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2020 setembro-dezembro;9(28):19-23. <https://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/7285>
- (6) Valério E, Santos ML, Teixeira P, et al. Microbial Source Tracking as a Method of Determination of Beach Sand Contamination. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Jun 28;19(13):7934. <https://doi.org/10.3390/ijerph19137934>
- (7) Ellwanger JH, Chies JAB. Candida auris emergence as a consequence of climate change: Impacts on Americas and the need to contain greenhouse gas emissions. *Lancet Reg Health Am*. 2022 Apr 1;11:100250. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2022.100250>
- (8) Casadevall A. Don't Forget the Fungi When Considering Global Catastrophic Biorisks. *Health Secur*. 2017 Jul/Aug;15(4):341-342. <https://doi.org/10.1089/hs.2017.0048>

Fontes alternativas de proteínas nas dietas europeias: a contribuição do projeto ALTERNATIVA para a perspetiva One Health

Alternative protein sources in the European diets: the contribution of ALTERNATIVA project to One Health perspective

Ana Serôdio ¹, Beatrice Biasini ², Géraldine Boué ³, Elena Cozzi ², Michel Federighi ³, Lea Jakobsen ⁴, Carla Martins ^{1,5}, Davide Menozzi ², Carla Motta ¹, Androniki Naska ⁶, Katerina Niforou ⁶, Marta Pavel ⁴, Sara Pires ⁴, Morten Poulsen ⁴, Ricardo Assunção ^{1,7,8}

nutricao.aserodio@gmail.com ; ricardo.assuncao@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) University of Parma, Parma, Itália

(3) National Research Institute for Agriculture, Food and Environment, Nantes, França

(4) National Food Institute. Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Dinamarca

(5) Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

(6) Department of Hygiene, Epidemiology and Medical Statistics. School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Grécia

(7) Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Monte da Caparica, Portugal

(8) Centro de Estudos Ambientais e Marinhos, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

_Resumo

A abordagem como a *One Health*, baseada em princípios que promovem a coexistência saudável, bem-estar e sustentabilidade entre humanos, animais e ambiente, tem surgido como indispensável para fazer face aos diversos problemas globais associados às alterações climáticas e sustentabilidade. A mesma multidisciplinaridade do conceito *One Health* é, também, uma característica do conceito e aplicação da Avaliação de Risco-Benefício (ARB).

Este estudo tem como objetivo demonstrar de que forma é que o projeto ALTERNATIVA – *Alternative protein sources in the European diets integrating health risk-benefit and sustainability* (Fontes alternativas de proteínas nas dietas europeias – integrando risco-benefício para a saúde e sustentabilidade) contribui para o desenvolvimento e aplicação do conceito *One Health*, tendo por base a ARB de diferentes dietas alimentares.

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica sobre o conceito “*One Health*” através da base de dados *Pubmed/U.S. National Library of Medicine* e no *Google Scholar*, nos quais foram efetuadas pesquisas avançadas, que incluíram os termos: “*One health approach*”, “*Risk benefit food one health*”, “*Alternative protein*”, “*One health food*” e “*One health food assessment*”.

Os resultados deste estudo demonstram de que forma é que o projeto ALTERNATIVA, através das suas diferentes atividades desenvolvidas, integra os principais pilares do conceito *One Health* (Humano, Animal e Ambiental) em todas as suas dimensões.

Conclui-se que o projeto ALTERNATIVA aliado ao conceito *One Health*, constitui uma ferramenta inovadora para apoiar as melhores decisões sobre as dietas do futuro, garantindo a nutrição humana e a saúde planetária, ao contribuir para a mitigação das tendências adversas que estão diretamente associadas às nossas escolhas alimentares.

_Abstract

One Health approach, based on principles that promote healthy coexistence, well-being and sustainability between humans, animals and the environment, has emerged as crucial to tackle the various global problems associated with climate change and sustainability. The same multidisciplinary of the One Health concept is also a characteristic of the concept and application of the Risk-Benefit Assessment (RBA). This study aims to demonstrate how the ALTERNATIVA Project Alternative protein sources in the European diets – integrating health risk-benefit and sustainability contributes to developing and applying the One Health concept based on the RBA of different diets.

Bibliographical research was carried out on the concept One Health through the Pubmed/U.S. National Library of Medicine and Google Scholar, which included advanced searches with the terms: “One health approach”, “Risk-Benefit food one health”, “Alternative protein”, “One health food” and “One health food assessment”.

The results of this study demonstrate how the ALTERNATIVA Project, through its different activities, integrates the main pillars of the One Health concept (Human, Animal and Environmental) in all its dimensions. It is concluded that the ALTERNATIVA Project combined with the One Health concept constitutes an innovative tool to support the best decisions about the diets of the future, guaranteeing human nutrition and planetary health, by contributing to the mitigation of the adverse trends directly associated with our food choices.

_Introdução

Ao longo do século XXI, têm surgido diversos problemas globais ao nível da saúde das pessoas, animais e meio ambiente, principalmente associados a mudanças climáticas e sustentabilidade (1).

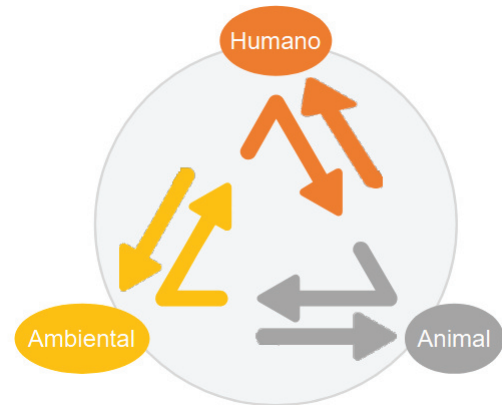
Safeguarding Human Health in the Anthropocene Epoch é o título de um relatório publicado na revista *Lancet*, em 2015, da autoria da Fundação Rockefeller, o qual explica de que forma é que diversas atividades humanas contribuíram para a degradação dos ecossistemas da Terra, pondo em risco a própria saúde e vida humanas, ao mesmo tempo que apela a uma urgente pesquisa multidisciplinar e ao desenvolvimento de políticas baseadas em evidência científica (2). Segundo esse mesmo relatório, o risco provém do impacto das alterações climáticas, que se estende aos gases de efeito estufa, padrões climáticos extremos, desmatamento, desertificação, acidificação dos oceanos, surtos de doenças zoonóticas, perda de biodiversidade e poluição do ar (2,3).

Este relatório, apesar de focado no ser humano, excluindo os animais que, naturalmente, também podem ser afetados por estas alterações climáticas (4), espoletou o interesse por uma abordagem de Saúde Planetária, um conceito que aborda a questão da sustentabilidade e da vida humana no planeta sob uma ótica mais integrativa, transdisciplinar e global.

A abordagem *One Health*, que reconhece que a saúde humana e animal são interdependentes e ligadas à saúde dos ecossistemas que habitam promove a coexistência saudável, bem-estar e sustentabilidade entre humanos, animais e ambiente, sendo crucial para o encontro de medidas que contribuam para solucionar os múltiplos desafios de saúde, ambientais, económicos e sociais, que as sociedades modernas enfrentam (3).

A abordagem *One Health* assenta, então, em três pilares: Ambiental, Animal e Humano (figura 1).

Figura 1: ▾ Pilares que sustentam a abordagem *One Health*.



O pilar Humano da *One Health* divide-se, por sua vez, em quatro dimensões distintas: a cognitiva, a comportamental, a cultural e a social (figura 2).

Figura 2: ▾ Dimensões que constituem o pilar Humano da abordagem *One Health*.



A **dimensão cognitiva** representa o conjunto de domínios mentais individuais que são, potencialmente, relevantes nas interações pessoa-animal-ecossistema, ou seja, é o entendimento individual de como o sistema funciona. A dimensão cognitiva incorpora crenças (sustentação de uma proposição como verdadeira) e conhecimento (compreensão prática de um assunto) (5). No contexto *One Health*, o conhecimento é beneficiado se for compreendido de uma forma mais abrangente, estando incluído numa cultura ou através da visão que a pessoa tem sobre o mundo, através do conceito de identidade que abrange um senso individual de si mesmo em relação a grupos sociais que se identificam por determinado tipo de características (6).

A **dimensão comportamental** considera os padrões de comportamento do indivíduo por forma a entender as interações mentais das pessoas com animais e ecossistemas (7). As interações e interdependências entre pessoas, animais e os ecossistemas podem ser de subsistência (ex.: caça e agricultura), companheirismo (ex.: animais domésticos) e apreciação estética (ex.: turismo de vida selvagem) (6).

A **dimensão cultural** reflete a cultura que nos molda e/ou que nos representa através de atributos sociais, fazendo parte da definição das formas pelas quais humanos, animais e ecossistemas interagem para fins económicos e propósitos socialmente definidos (7,8). Para os profissionais *One Health*, a dimensão cultural é de grande importância nas estratégias a adotar na avaliação de risco, uma vez que influencia as relações entre os membros de uma sociedade e, ainda, a forma como ocorre a comunicação (6).

A **dimensão social** considera a saúde sem a remover da complexidade dos sistemas socioecológicos globais (que inclui os sistemas económicos), uma vez que uma sociedade resulta na combinação e sobreposição das dimensões anteriores (6).

One Health versus sustentabilidade

As condições ambientais, como as alterações climáticas, o tratamento dos solos, da água, as normas nos matadouros e as explorações agrícolas podem ter um grande impacto na saúde dos animais, seres humanos e ambiente (9).

Por outro lado, a transformação dos sistemas alimentares surge como uma necessidade urgente, devido ao impacto que estes exercem ao nível das alterações climáticas e aquecimento global, exploração dos recursos naturais e perda da biodiversidade, ao mesmo tempo que tenta dar resposta ao crescimento da população humana (10). A abordagem *One Health* contribui significativamente para a segurança alimentar, através de uma abordagem multidisciplinar, implicando a integração de diferentes disciplinas e a cooperação entre os diversos especialistas, abrindo oportunidades para a cocriação de conhecimento (4). Contudo, recentemente, tem-se defendido uma abordagem com um nível de colaboração transdisciplinar como sendo a mais adequada aos desafios associados a questões complexas de saúde global, isto é, uma abordagem que envolva toda a sociedade, considerando os contextos locais e incluindo todas as partes interessadas da comunidade que contribuem para a adoção e sustentabilidade do conceito *One Health* (1).

A ideia de uma metodologia harmonizada e holística é, também, partilhada pelo ALTERNATIVA – *Alternative protein sources in the European diets - integrating health risk-benefit and sustainability* (Fontes alternativas de proteínas nas dietas europeias – integrando risco-benefício para a saúde e sustentabilidade), um projeto europeu financiado pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), ao reunir e combinar conhecimentos sobre risco-benefício para avaliação da saúde, da sustentabilidade, assim como, do impacto ambiental, social e económico, como consequência do consumo de determinados alimentos em detrimento de outros, como por exemplo, o consumo de determinado tipo de proteína alternativa à proteína da carne (11).

A produção de carne requer maior consumo de água e uso do solo e maior emissão de gases de efeito estufa (GEE), sendo a principal razão para o desmatamento, degradação da terra, poluição da água e desertificação (12). Estima-se que a produção de alimentos, que envolve uma elevada libertação de metano, como a de carne, arroz e laticínios têm um impacto superior a 80% no aquecimento global (13). Neste sentido, dietas vegetarianas e flexitarianas são, do ponto de vista ambiental, mais sustentáveis ao reduzir as emissões de GEE em 70% e 40%, respetivamente (11). Alguns exemplos de alternativas à proteína da carne são: os “substitutos da carne” (*tofu*, *seitan*, *tempeh*, entre outros) (11), cereais e leguminosas (grão-de-bico, ervilhas, lentilhas, feijões) (12,14-16), proteínas de algas (17), produtos alimentícios à base de micoproteínas (18), fontes de proteína à base de insetos (19-21) e, até mesmo, carne cultivada (11).

_Objetivo

Este artigo tem como objetivo dar a conhecer o conceito *One Health*, assim como o projeto ALTERNATIVA como contributo para o desenvolvimento e aplicação desse conceito, tendo por base a avaliação risco-benefício (ARB) de diferentes dietas alimentares.

_Materiais e métodos

Para a realização deste artigo, em março de 2023, foi realizada uma pesquisa bibliográfica sobre o conceito *One Health* através da base de dados *Pubmed/U.S. National Library of Medicine* e no *Google Scholar*, nos quais foram efetuadas pesquisas avançadas, que incluíram os termos: “*One health approach*”, “*Risk benefit food one health*”, “*Alternative protein*”, “*One health food*” e “*One health food assessment*”.

_Resultados e discussão

Os resultados da pesquisa bibliográfica realizada reforçam a importância e a urgência de uma mudança ao nível dos sistemas alimentares globais, que requer uma nova forma de produção e de consumo e que, por sua vez, destaca a necessidade de se adotar uma abordagem mais integrada de saúde, suportada pelo conceito já reconhecido de uma saúde única (*One health*), que inclui a perspetiva animal e ambiental e não só a humana (22).

Como uma contribuição para enfrentar os desafios globais associados à alimentação humana no futuro, o projeto ALTERNATIVA propõe-se a desenvolver uma abordagem holística para avaliar o impacto de fontes alternativas de proteína integrando risco-benefício para a saúde humana e aspetos de sustentabilidade (meio ambiente, economia e sociedade). Combinando experiência em avaliação de risco-benefício e avaliação de impacto no desenvolvimento sustentável, o ALTERNATIVA aumentará a capacidade dos parceiros envolvidos para aplicação dessa perspetiva holística à avaliação do impacto da substituição do consumo de carne vermelha por fontes alternativas de proteína.

Enquanto equipa multidisciplinar, o projeto ALTERNATIVA reúne cinco instituições pertencentes a cinco Estados-membros - Portugal, Dinamarca, França, Itália e Grécia, organizada em cinco grupo de trabalho (WPs), cujo objetivo é desenvolver uma ferramenta de avaliação risco-benefício para escolhas alimentares, seguras, economicamente justas, acessíveis, nutricionalmente adequadas e saudáveis com menores impactos na sustentabilidade dos sistemas alimentares.

Por forma a cumprir com os seus objetivos, o projeto ALTERNATIVA propôs-se à realização de diferentes atividades, que se complementam para esse objetivo comum (figura 3).

Figura 3: ↓ Integração dos pilares *One Health* nas atividades desenvolvidas no projeto ALTERNATIVA.



1) Sessões de Formação

Esta atividade atua ao nível do conjunto dos domínios mentais individuais e visa a uniformidade do conhecimento, assim como a incorporação e ampliação do conhecimento de todos os parceiros envolvidos sobre as metodologias de ARB de alimentos e de avaliação da sustentabilidade. Esta atividade vai ao encontro do pilar Humano da *One Health* em todas as suas dimensões, além de que a transmissão do conhecimento, durante as sessões, tem em consideração a cultura em que os participantes se inserem assim como o senso individual que cada participante tem de si e a sua visão do mundo.

2) Criação de um protocolo de integração da avaliação de risco-benefício e da avaliação do impacto na sustentabilidade

No contexto *One Health*, esta atividade atua ao nível dos seus três pilares, Humano, Ambiental e Animal.

Esta atividade atua ao nível do pilar Humano, em todas as suas dimensões, através de uma avaliação mais abrangente

da saúde, que integre diferentes variáveis como nutrição, toxicologia, microbiologia e epidemiologia. Esta atividade atua, também, ao nível do pilar Ambiental, através da realização de uma avaliação da sustentabilidade ambiental, que inclui uma análise do ciclo de vida, cálculos de pegada de carbono, qualidade do ar, uso da terra, água e energia, biodiversidade, qualidade da água e alterações climáticas. Esta atividade eleva o conceito de sustentabilidade a um nível de maior abrangência, que se insere no pilar Humano da *One Health* ao incluir variáveis sociais e económicas, tais como valor agregado bruto, distribuição da margem bruta, valor de reputação, igualdade do género, coesão territorial, entre outros. O pilar Animal da *One Health* é tido em conta quando da avaliação da sustentabilidade ambiental onde é incluída a análise do bem-estar animal.

Este protocolo constitui uma ferramenta que contribui para a formulação de políticas e definição de estratégias, que atuem na promoção de sistemas alimentares seguros e sustentáveis.

3) Estudo de caso

Tratando-se o estudo de caso de uma aplicação prática do protocolo desenvolvido anteriormente, este estudo contempla a seleção da fonte alternativa de proteína considerada, neste caso, leguminosas, em relação à carne bovina, assim como os indicadores para a avaliação da sustentabilidade, recolha e harmonização dos dados necessários à execução da avaliação, avaliação dos impactos na saúde (atuação ao nível do pilar Humano da *One Health*) e avaliação da sustentabilidade (atuação ao nível do pilar Ambiental e Animal, que inclui os parâmetros mencionados anteriormente). O estudo de caso termina com a integração de todos os resultados e a comunicação dos mesmos.

4) Grupo focal

A criação de um grupo de discussão com interesse comum na integração da ARB e avaliação prática dos impactos na sustentabilidade, onde os interesses e necessidades de todos os envolvidos (avaliadores, gestores e comunicadores de risco) são consideradas, permite uma melhor preparação e previsão dos desafios globais resultantes da transformação dos sistemas alimentares e adoção de dietas sustentáveis.

O facto desta atividade atuar de forma transversal em relação às restantes atividades do projeto acaba por atuar também ao nível de todos os pilares da *One Health*, Humano, Ambiental e Animal, através do desenvolvimento de questionários, estabelecendo a ponte entre os aspetos técnicos/científicos e as necessidades reais dos formuladores de políticas.

_Conclusão

A mitigação das tendências adversas que a humanidade enfrenta está diretamente associada às nossas escolhas alimentares, influenciando os três pilares da abordagem *One Health*.

Através de uma abordagem holística, como a Avaliação de Risco-Benefício (ARB), que considere os múltiplos impactos e integre diferentes disciplinas (abordagem interdisciplinar) assim como outros grupos influentes na sociedade (transdis-

ciplinar), será possível enfrentar os desafios esperados com vista a tomar as melhores decisões e implementar as ações mais adequadas.

Neste sentido, o projeto ALTERNATIVA fornecerá ferramentas inovadoras para apoiar as melhores decisões sobre as dietas do futuro, garantindo a nutrição humana e a saúde planetária.

Financiamento:

Trabalho desenvolvido no âmbito do projeto projeto ALTERNATIVA – *Alternative sources of protein in European diets - integrating risk-benefit for health and sustainability* financiado pelas EFSA Partnering Grants (Grant Agreement Number – GP/EFSA/ENCO/2020/03 - GA 2).

The authors declare that this manuscript reflects only the authors' view and EFSA is not responsible for any use that may be made of the information it contains | Os autores declaram que este manuscrito reflete apenas a opinião dos autores e a EFSA não é responsável por qualquer uso que possa ser feito das informações nele contidas.

Referências bibliográficas:

- (1) dos S. Ribeiro C, van de Burgwal LHM, Regeer BJ. Overcoming challenges for designing and implementing the One Health approach: A systematic review of the literature. *One Heal.* 2019;7(April 2018):100085. <https://doi.org/10.1016/j.onehit.2019.100085>
- (2) Whitmee S, Haines A, Beyrer C, et al. Safeguarding human health in the Anthropocene epoch: Report of the Rockefeller Foundation-Lancet Commission on planetary health. *Lancet.* 2015;386(10007):1973-2028. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60901-1](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60901-1)
- (3) Rabinowitz PMG, Pappaioanou M, Bardosh KL, et al. A planetary vision for one health. *BMJ Glob Health.* 2018 Oct 2;3(5):e001137. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2018-001137>
- (4) Zinsstag J, Crump L, Schelling E, et al. Climate change and One Health. *FEMS Microbiol Lett.* 2018 Jun 1;365(11):fny085. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny085>
- (5) Kelly M, McCarthy S, Sahn LJ. Knowledge, attitudes and beliefs of patients and carers regarding medication adherence: a review of qualitative literature. *Eur J Clin Pharmacol.* 2014 Dec;70(12):1423-31. <https://doi.org/10.1007/s00228-014-1761-3>
- (6) Ross, H. One Health from a Social-Ecological Systems Perspective: Enriching Social and Cultural Dimensions. IN: Mackenzie J, Jeggo M, Daszak P, et al. (eds). *One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious Diseases. Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol 366. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. pp. 217-29. https://doi.org/10.1007/82_2012_275
- (7) Kirmayer LJ, Ban L. Cultural psychiatry: research strategies and future directions. *Adv Psychosom Med.* 2013;33:97-114. <https://doi.org/10.1159/000348742>
- (8) Kuo BC. Collectivism and coping: current theories, evidence, and measurements of collective coping. *Int J Psychol.* 2013;48(3):374-88. <https://doi.org/10.1080/00207594.2011.640681>
- (9) Humboldt-Dachroeden S, Mantovani A. Assessing Environmental Factors within the One Health Approach. *Medicina (Kaunas).* 2021 Mar 5;57(3):240. <https://doi.org/10.3390/medicina57030240>

artigos breves_ n. 8

- (10) Commission European. A European Green Deal - Striving to be the first climate-neutral continent [online]. (consul. 12/12/2022). https://commission.europa.eu/strategy-and-policy/priorities-2019-2024/european-green-deal_en
- (11) Thavamani A, Sferra TJ, Sankararaman S. Meet the Meat Alternatives: The Value of Alternative Protein Sources. *Curr Nutr Rep.* 2020 Dec;9(4):346-55. <https://doi.org/10.1007/s13668-020-00341-1>
- (12) Lynch H, Johnston C, Wharton C. Plant-Based Diets: Considerations for Environmental Impact, Protein Quality, and Exercise Performance. *Nutrients.* 2018 Dec 1;10(12):1841. <https://doi.org/10.3390/nu10121841>
- (13) Ivanovich CC, Sun T, Gordon DR, et al. Future Warming from Global Food Consumption. *Nature Climate Change.* 2022;13(3):297-302. <https://doi.org/10.1038/s41558-023-01605-8>
- (14) Fasolin LH, Pereira RN, Pinheiro AC, et al. Emergent food proteins - Towards sustainability, health and innovation. *Food Res Int.* 2019 Nov;125:108586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108586>
- (15) Henchion M, Hayes M, Mullen AM, et al. Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. *Foods.* 2017 Jul 20;6(7):53. <https://doi.org/10.3390/foods6070053>
- (16) Lonnie M, Hooker E, Brunstrom JM, et al. Protein for Life: Review of Optimal Protein Intake, Sustainable Dietary Sources and the Effect on Appetite in Ageing Adults. *Nutrients.* 2018 Mar 16;10(3):360. <https://doi.org/10.3390/nu10030360>
- (17) Admassu H, Gasmalla MAA, Yang R, et al. Bioactive Peptides Derived from Seaweed Protein and Their Health Benefits: Antihypertensive, Antioxidant, and Antidiabetic Properties. *J Food Sci.* 2018 Jan;83(1):6-16. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14011>
- (18) Souza Filho PF, Andersson D, Ferreira JA, et al. Mycoprotein: environmental impact and health aspects. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019 Sep 23;35(10):147. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2723-9>
- (19) van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, et al. Edible insects: future prospects for food and feed security. Rome: FAO, 2013.
- (20) Chen J, Fewtrell M, Kennedy G, et al. Nutrition challenges ahead. *EFSA J.* 2016 Jun;14(S1): e00504. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.s0504>
- (21) Loveday SM. Food Proteins: Technological, Nutritional, and Sustainability Attributes of Traditional and Emerging Proteins. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2019 Mar 25;10:311-339. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121128>
- (22) Lainé N, Morand S. Linking humans, their animals, and the environment again: a decolonized and more-than-human approach to "One Health". *Parasite.* 2020;27:55. <https://doi.org/10.1051/parasite/2020055>

ficha técnica

_Título: Boletim Epidemiológico Observações

_Periodicidade: Quadrimestral

_ISSN: 0874-2928, 2182-8873 (em linha)

_Numeração: 2ª série

Volume 12, número especial 15, 2023
One Health

_Diretor

Fernando de **Almeida**, Presidente do Conselho Diretivo do INSA

_Editores

Carlos **Matias Dias**, Departamento de Epidemiologia

Elvira **Silvestre**, Biblioteca da Saúde

_Conselho Editorial Científico

Carlos **Matias Dias**, Departamento de Epidemiologia

Luciana **Costa**, Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis

Jorge **Machado**, Departamento de Doenças Infeciosas

Manuela **Cano**, Departamento de Saúde Ambiental

Maria João **Silva**, Departamento de Genética Humana

Rita **Batista**, Departamento de Alimentação e Nutrição

Lúisa **Romão**, Conselho Científico do INSA

_Coordenação técnica Elvira **Silvestre**, Biblioteca da Saúde

_Composição e paginação Rodrigo **Jorge**, Biblioteca da Saúde
(segundo layout inicial de Nuno Almodovar Design, Lda.)

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2023.

Reprodução autorizada desde que a fonte seja citada, exceto para fins comerciais.
Isento de Registo na ERC ao abrigo do Decreto-Regulamento 8/99 de 9 de junho artº 12º nº1 a).

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Av. Padre Cruz, 1649-016 **Lisboa, Portugal**

Tel.: (+351) 217 519 200

Fax: (+351) 217 529 400

E-mail: info@insa.min-saude.pt

www.insa.pt