



**Escola Nacional
de Saúde Pública**

UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Contribuição para o estudo da resistência antimicrobiana em
animais de companhia na Área Metropolitana de Lisboa**

21º Curso Mestrado em Saúde Pública

José Miguel Carreira Revez Pereira Coucelo

Novembro, 2023



Escola Nacional de Saúde Pública

UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Contribuição para o estudo da resistência antimicrobiana em Animais de Companhia na Área Metropolitana de Lisboa

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Saúde Pública, realizada sob a orientação científica de Professor Doutor

Paulo Sousa e Doutora Ana Lebre

Novembro, 2023

Agradecimentos

Gostaria de aproveitar este espaço para prestar breves agradecimentos.

Em primeiro lugar à minha família, que mesmo em tempos difíceis me continuaram a apoiar nesta jornada.

Ao professor Paulo Sousa, por ter aceitado o desafio de me orientar e não ter desistido de mim.

À Doutora Ana Lebre, pelo apoio na orientação do tema e objetivos desta dissertação.

Aos meus amigos, que mesmo em tantos momentos da minha ausência me continuaram a incentivar a completar este desafio.

Ao Fernando, sem o qual não saberia por onde começar. Obrigado por todo o teu apoio e amizade.

A todos os meus colegas de profissão que lutam diariamente pela melhoria dos cuidados de saúde animal e pelo reconhecimento da classe veterinária.

Ao Henrique Armés e a toda a equipa do Hospital Veterinário de São Bento, que me acompanharam desde o início desta aventura. Obrigado pela compreensão e apoio.

Ao laboratório DNATech, pela disponibilização dos dados que servem de base para todo este projeto.

A todos os meus colegas e professores da ENSP que contribuíram para a minha formação.

E por fim, a todos os profissionais de saúde que lutaram heroicamente durante o período da pandemia de Covid-19. Um profundo agradecimento.

Resumo

Introdução: A resistência antimicrobiana (RAM) afeta tanto humanos como animais e tem vindo a ser declarada como uma ameaça para a saúde pública a nível global. Em medicina veterinária, o uso de antibióticos para prevenir e tratar infeções bacterianas é comum, e frequentemente as escolhas da antibioterapia são similares às de medicina humana. Contudo, apesar desta crescente preocupação global, existem diversas lacunas por preencher. Considerando a possibilidade de transmissão de espécies bacterianas resistentes entre humanos e animais, e na ausência de um sistema de monitorização de resistências semelhante aos atualmente disponíveis em saúde humana, os estudos de avaliação de resistência a antibióticos em animais de companhia são uma das ferramentas disponíveis para medir a suscetibilidade das estirpes bacterianas aos antibióticos.

Métodos: Um estudo observacional, transversal, avaliando os resultados de 2517 culturas urinárias de cães e gatos com suspeita de infeção do trato urinário, avaliados em diferentes estabelecimentos veterinários na área metropolitana de Lisboa durante os anos de 2019 e 2020. A suscetibilidade a antibióticos foi realizada para 951 isolados bacterianos, e a prevalência de resistência a antibióticos foi determinada para um conjunto de 14 antibióticos selecionados para o estudo, que são representativos das classes mais importantes em medicina veterinária e em medicina humana.

Resultados: Além de terem sido encontradas diferenças entre os agentes bacterianos mais comuns entre cães e gato, são reportados níveis de resistência moderados a elevados para vários antibióticos considerados criticamente importantes em medicina humana e veterinária. Adicionalmente, foi encontrado um número significativo de isolados bacterianos descritos como multirresistentes e um elevado número de isolados *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina e *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes a meticilina.

Discussão e conclusão: Apesar dos atuais esforços de consciencialização para o uso racional de antibióticos com vista à redução da escalada da RAM, os resultados deste estudo ilustram como esta permanece um desafio na prática clínica de animais de companhia, e face aos riscos para a saúde pública, reforçam a necessidade de adotar meios de vigilância de resistência bacteriana mais robustos, e ao abrigo do conceito de “One Health”.

Palavras-chave: resistência antimicrobiana, Lisboa, medicina veterinária, sistemas de vigilância, One Health

Abstract

Introduction: Antimicrobial resistance (AMR) affects both humans and animals and has been declared a global threat to public health. In veterinary medicine, the use of antibiotics to prevent and treat bacterial infections is common, and the choices for antibiotic treatments are often similar to those in human medicine. However, despite this growing global concern, there are several gaps to be addressed. Considering the possibility of transmission of resistant bacterial species between humans and animals, and in the absence of a resistance surveillance system similar to those currently available in human health, studies evaluating antibiotic resistance in companion animals are one of the tools available to measure the susceptibility of bacterial strains to antibiotics.

Methods: An observational, cross-sectional study, evaluating the results of 2517 urine cultures from dogs and cats with suspected urinary tract infection, evaluated in different veterinary practices in the metropolitan area of Lisbon during the years 2019 and 2020. The antimicrobial susceptibility testing was carried out for 951 bacterial isolates, and the prevalence of antibiotic resistance was determined for a set of 14 antibiotics selected for the study, which are representative of the most important classes in veterinary and in human medicine.

Results: In addition to finding differences between the most common bacterial agents between dogs and cats, moderate to high levels of resistance are reported for several antibiotics considered critically important in human and veterinary medicine. Additionally, a significant number of bacterial isolates described as multiresistant and a high number of MRSA and MRSP isolates were found.

Discussion and Conclusion: Despite the current efforts to raise awareness on the rational use of antibiotics to prevent the escalation of AMR, the results of this study illustrate how this remains a challenge in companion animal clinical practice and considering the risks for public health they reinforce the need to adopt more robust means of bacterial resistance surveillance under the “One Health” concept.

Keywords: antimicrobial resistance, Lisbon, veterinary medicine, surveillance systems, One Health.

Índice

Agradecimentos.....	4
Resumo.....	5
Abstract.....	6
Lista de figuras.....	9
Lista de tabelas.....	10
Lista de abreviaturas	xi
1. Introdução.....	12
2. Resistência a antimicrobianos	14
2.1 Resistência intrínseca e resistência adquirida.....	15
2.1.2 Mecanismos de resistência aos antibióticos	16
3. Consumo de antibióticos em saúde humana e medicina veterinária.....	16
3.1 Consumo de antibióticos em saúde humana	18
3.2 Consumo de antibióticos em Medicina Veterinária	19
3.2.1 Animais de companhia	20
4. Sistemas de Vigilância de Resistência a Antibióticos	22
4.1 Sistemas de Vigilância de Resistência a Antibióticos em Saúde Humana	22
4.2 Sistemas de Vigilância de Resistência a Antibióticos em Medicina Veterinária	22
5. One Health.....	26
6. Finalidade e Objetivos	29
6.2 Objetivos	30
6.2.1 Objetivos secundários	30
6.3 Material e métodos	30
6.3.1 Desenho de estudo.....	30
6.3.2 População-alvo	30
6.3.3 População do estudo	31
6.3.4 Critérios de exclusão	31
6.3.5 Dimensão da Amostra	31
6.3.6 Instrumento de recolha.....	31
6.3.7 Variáveis de estudo	32
6.3.8 Estratégia de análise	33
6.3.9 Questões éticas	34
7 - Resultados	35
8 - Discussão.....	45
9 - Limitações do estudo	56
10 - Conclusões	57
11 - Referências bibliográficas	60
13 - Anexos.....	72

Anexo 1 – Descrição completa das espécies bacterianas isoladas nas uroculturas positivas na amostra de cães e gatos da AML em estudo.	72
Anexo 2 – Descrição dos antibióticos utilizados nos testes de susceptibilidade a antibióticos pelo laboratório DNATech por espécie bacteriana.	74
Anexo 3 – Racional para a selecção dos antibióticos a serem considerados no estudo de avaliação de resistências a antibióticos nas diferentes espécies bacterianas isoladas.	76
Anexo 4 –Descrição das variáveis de estudo e operacionalização das mesmas para análise no programa SPSS®	78
Anexo 5 – Sintaxe da codificação das variáveis em estudo utilizada no programa SPSS® para análise da resistência a antibióticos por espécie bacteriana com estimação de intervalo de confiança de 95%.....	79

Lista de figuras

Figura 1 - Processo de aquisição de resistências a antimicrobianos.	14
Figura 2 - Mecanismos de resistência a antibióticos.	16
Figura 3 - Distribuição por classe das vendas de antibióticos veterinários a animais de companhia na Europa no ano de 2020.	21

Lista de tabelas

Tabela 1 - Espécies bacterianas e antibióticos sugeridos para monitorização de RAM em cães e gatos na rede EARS-Vet.	26
Tabela 2 - Antibióticos considerados para análise no estudo.....	33
Tabela 3 - Frequência de espécies bacterianas isoladas nas uroculturas de cães e gatos... ..	36
Tabela 4 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>E. coli</i>	37
Tabela 5 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>Proteus mirabilis</i>	38
Tabela 6 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>Enterococcus sp.</i>	39
Tabela 7 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	40
Tabela 8 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	41
Tabela 9 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Tabela 10 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>Streptococcus agalactiae</i>	43
Tabela 11 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Tabela 12 - Frequência de ocorrência isolados MDR	44

Lista de abreviaturas

AML – Área Metropolitana de Lisboa

CAMV – *Centros de Atendimento Médico-Veterinário*

CDDEP – *Center for Disease Dynamics, Economics & Policy*

CE – Comissão Europeia

CIA – *Critically Important Antibiotic*

DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DGS – Direção Geral da Saúde

EARS-Net – *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*

EARS-Vet - *European Antimicrobial Resistance Surveillance network in Veterinary medicine*

ECDC – Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças

EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar

EMA – Agência Europeia de Medicamentos / European Medicines Agency

ESBL – *Extended Spectrum Beta-lactamases*

ESVAC – *European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations

ITU – Infecção do trato urinário

MRSA – *Methicilin resistant Staphylococcus aureus*

MRSP – *Methicilin resistant Staphylococcus pseudointermedius*

ODS – Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis

OIE/WOAH – Organização Mundial de Saúde Animal

OMS/WHO – Organização Mundial de Saúde

RAM – Resistência antimicrobiana

SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

TSA – *Teste Suscetibilidade a Antibióticos*

UE – *União Europeia*

VIH/SIDA – Vírus da Imunodeficiência Humana / Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

VRE – *Vancomycin Resistant Enterococcus*

1. Introdução

A partir do século XX, o desenvolvimento dos antimicrobianos levou à transformação da medicina moderna, e consequentemente da vida de milhares de pessoas de modo inigualável (1–5). Contudo, a crescente resistência de agentes patogénicos aos agentes antimicrobianos é considerada um dos maiores desafios do século XXI na área saúde pública (6–11).

A resistência aos antimicrobianos (RAM), e em particular aos antibióticos, compromete a prevenção e sucesso terapêutico de doenças infecciosas e representa, local e globalmente, um peso social e económico grave (12,13). Face ao insucesso terapêutico, estima-se a que na União Europeia (UE), a RAM seja responsável por cerca de 33.000 mortes por ano e comporte um peso económico de 1500 milhões de euros anuais em despesas relacionadas com a saúde e perdas de produtividade (12,14). A nível global, estima-se que possa resultar em 700.00 mortes anuais, e num cenário de inação, as previsões indicam que até 2050 a RAM possa ser responsável por cerca de 10 milhões de mortes e implicar custos de saúde a rondar os 100 triliões de dólares (12,13,15).

Podem apontar-se diversas causas para o crescimento acentuado e disseminação da RAM a nível global, nomeadamente pelo uso excessivo e frequentemente indiscriminado de antimicrobianos em medicina humana e veterinária (7,9,15–19).

No que concerne à medicina veterinária, o foco tem incidido particularmente na prescrição e consumo de antimicrobianos em animais de produção alimentar (5,7,11,17,18). Porém, o uso de antimicrobianos em medicina veterinária de animais de companhia pode ter igualmente um papel significativo no crescimento da RAM (20–27). Neste sentido, é necessária uma melhor compreensão do peso da RAM em animais de companhia, e igualmente do perigo de transmissão de resistências a antibióticos entre humanos e os seus animais de companhia, para o contexto geral da RAM. Neste momento os esforços a decorrer para contrabalançar o peso da RAM em animais de companhia estão ainda aquém da realidade existente para saúde humana. Neste aspeto, salienta-se a falta de estruturas de vigilância epidemiológica adequadas à realidade dos animais de companhia (20,21,27–29).

Recentemente, a pandemia por COVID-19 demonstrou que não existem fronteiras à disseminação de agentes infecciosos e à dimensão das suas consequências socioeconómicas (30,31).

Tratando-se de um problema complexo e multifacetado, várias entidades internacionais defendem que o combate à RAM será mais eficaz ao contemplar uma abordagem

multissectorial, em que a saúde humana, animal e ambiental são encaradas como “*Uma Só Saúde*” (8,12,14,20,21,27,32,33).

Esta dissertação pretende numa primeira parte, através de uma breve revisão bibliográfica, abordar alguns conceitos importantes para a compreensão da problemática da RAM em saúde humana e animal, e a importância de atuação sob o contexto da “*One Health*”. Na segunda parte da dissertação, será apresentado um estudo retrospectivo realizado pelo autor da dissertação, com o objetivo de avaliar o perfil de resistências a antibióticos em animais de companhia na Área Metropolitana de Lisboa (AML) durante os anos de 2019 e 2020, e assim contribuir para a melhor compreensão deste problema a nível nacional.

2. Resistência a antimicrobianos

A resistência a antimicrobianos engloba uma dificuldade crescente da eficácia de antibióticos, antiparasitários, antifúngicos e antivirais contra os respectivos agentes patogênicos a que são destinados (4,13).

A resistência é um fenômeno natural que permite a sobrevivência dos microrganismos ao longo do tempo. Frequentemente, ao longo de diferentes gerações os microrganismos podem sofrer mutações conferindo maior resistência às substâncias com que contactam. Contudo, o aumento do número destes microrganismos resistentes tem vindo a ser promovido pela atividade humana, através da utilização inadequada ou excessiva de antimicrobianos nas áreas da saúde, agricultura e medicina veterinária (3,4,13,34). Esta sobre-utilização ou utilização inapropriada destes antimicrobianos cria uma pressão seletiva sobre os microrganismos (Figura 1), permitindo a propagação de características que lhes conferem resistência. Por consequência, o aumento da resistência a antimicrobianos por parte dos microrganismos condiciona a eficácia das terapêuticas, e implica frequentemente a ocorrência de doença prolongada, com o prolongamento das hospitalizações e tratamentos, com tratamentos mais dispendiosos, e pode representar um maior risco de morte (4,34).

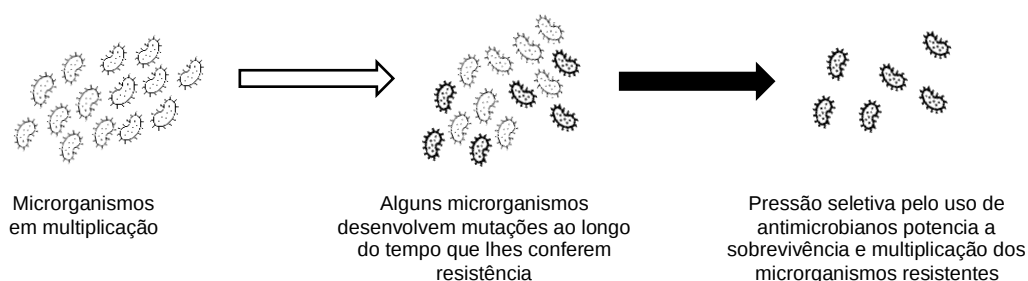


Figura 1 - Processo de aquisição de resistências a antimicrobianos. Ao longo do tempo os microrganismos podem desenvolver mutações que lhes conferem capacidade adaptativa e resistência a antimicrobianos, o que aliado a uma utilização incorreta de antimicrobianos causa uma pressão seletiva dos microrganismos, permitindo que aqueles que são resistentes se continuem a multiplicar e propagar as resistências.

Neste sentido, o custo da RAM para as economias nacionais e para os seus sistemas de saúde é também muito significativo (4,35).

Na ausência de ferramentas eficazes para a prevenção e tratamento adequado de infeções resistentes a antimicrobianos, doenças como a tuberculose, malária, VIH/SIDA e procedimentos médicos como cirurgias de rotina, quimioterapia e transplantes de órgãos podem tornar-se procedimentos de risco acrescido (4).

De todos os antimicrobianos atualmente utilizados, os antibióticos são o grupo com maior prescrição e consumo global (36), e segundo uma análise recente do *Global Research on Antimicrobial Resistance (GRAM) Project*, entre os anos 2000-2018 a taxa de consumo de antibióticos a nível mundial aumentou cerca de 46% (37)). Consequentemente, no contexto da RAM, a crescente resistência aos antibióticos, nomeadamente por bactérias clinicamente relevantes para a saúde humana, é alarmante e reafirma as ameaças à saúde pública (4,5,16,35).

Embora a resistência aos antibióticos afete tanto os países desenvolvidos como os países em desenvolvimento, estes números são desconhecidos para outras regiões. Contudo supõe-se que sejam superiores em países Africanos e Asiáticos (7,36).

Desta forma, a ênfase do combate à RAM recai largamente sobre os antibióticos, motivo pelo qual o seu uso deve contemplar as boas práticas de prescrição e prevenção de resistências bacterianas (3,7,33).

2.1 Resistência intrínseca e resistência adquirida

Essencialmente, podem ser considerados dois tipos distintos de resistência bacteriana a antibióticos: a resistência natural (ou intrínseca) e a resistência adquirida (38,39).

A resistência intrínseca advém de uma resistência inata de algumas bactérias para um ou mais antibióticos. Este tipo de resistência está geralmente relacionado com características genéticas e fisiológicas das bactérias, e dada a transmissão vertical de genes que codificam a resistência à descendência, tende a ser um traço comum a todas as bactérias de uma determinada espécie ou género (e é independente de exposição prévia a antibióticos) (40). Esta particularidade condiciona o espectro de ação dos diferentes antibióticos, e é um dos motivos pelos quais a resistência aos antibióticos deve ser apreciada ao nível de classes de antibióticos e não apenas a título individual (38–41).

Por outro lado, a resistência adquirida ocorre quando bactérias previamente sensíveis a um antibiótico desenvolvem ou adquirem mecanismos de resistência ao mesmo. Este tipo de resistência pode resultar de fenómenos de alteração da composição genética (através de mutações) ou pela aquisição de material genético exógeno (40,42).

A aquisição de material genético exógeno diz respeito à transferência não sexual de genes que codificam resistência antibiótica entre bactérias não relacionadas. Esta transferência horizontal de material genético pode ocorrer através de diferentes métodos como a transdução, conjugação e transformação (40,42).

2.1.2 Mecanismos de resistência aos antibióticos

Apesar das suas origens distintas, as resistências intrínsecas e adquiridas partilham os mesmos mecanismos de resistência e o mesmo objetivo - impedir a atuação dos antibióticos nos seus alvos. Destacam-se quatro mecanismos principais de resistência aos antibióticos: i) presença de enzimas que inativam ou modificam os antibióticos, ii) modificação do alvo dos antibióticos iii) redução da absorção intracelular do antibiótico ou iv) efluxo dos agentes antibióticos para o meio extracelular (38–40). Devido às suas diferenças estruturais, existe alguma variação nos tipos de mecanismos de resistência entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Enquanto bactérias Gram-negativas conseguem utilizar todos os mecanismos de resistência enumerados, as bactérias Gram-positivas utilizam de forma menos comum a redução da absorção intracelular de antibióticos e também não conseguem utilizar todos os mecanismos de efluxo de agentes antibióticos para o meio extracelular (40)

A figura 2 ilustra os diferentes mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos.

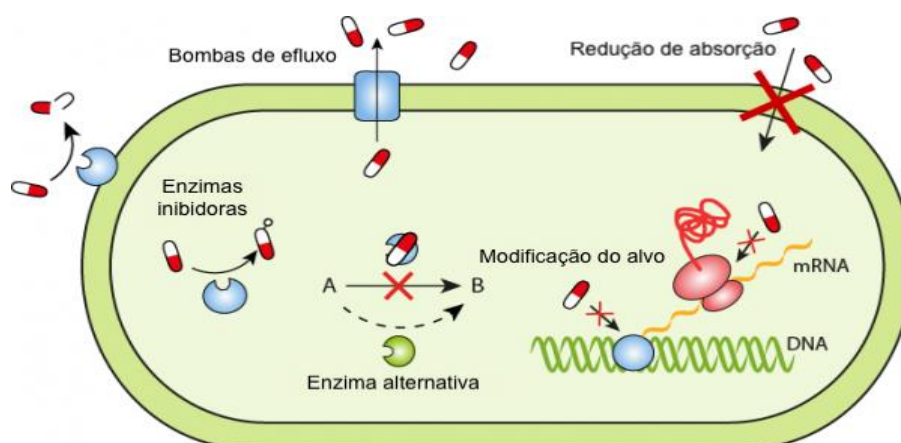


Figura 2 - Mecanismos de resistência a antibióticos. Adaptado de E. Wistrand-Yuen. Disponível em: <https://www.reactgroup.org/toolbox/understand/antibiotic-resistance/resistance-mechanisms-in-bacteria/>

3. Consumo de antibióticos em saúde humana e medicina veterinária

Dados do recente relatório do *Center for Disease Dynamics, Economics and Policy* (CDDEP) revelam um aumento global de 65% no consumo de antibióticos em humanos entre os anos 2000 e 2015, e prevê que este consumo possa aumentar até 200% entre os anos 2015 e 2030 (36). No entanto, é necessário ter em consideração a existência de importantes variações geográficas relativamente à prescrição, acesso e consumo de antibióticos, o que revela uma discrepância no recurso a antibióticos entre diferentes países (14,33,36,40,43).

Na sua revisão, Chokshi *et al* (43) descrevem diferentes condicionantes que contribuem para o desenvolvimento de resistência antibiótica, globalmente transversais, contudo

com diferentes graus de relevância entre países desenvolvidos e países em desenvolvimento. Em países em desenvolvimento é apontada a falta de mecanismos de vigilância de consumo de antibióticos e desenvolvimento de resistências, a baixa qualidade de antibióticos disponíveis, a falta de investimento na pesquisa de novos antibióticos, a má prescrição clínica e a facilidade de acesso a antibióticos (por vezes sem prescrição médica). Enquanto em países desenvolvidos os contribuidores para o desenvolvimento e disseminação de microrganismos resistentes relacionam-se com normas hospitalares de prescrição antibiótica pouco robustas e com o uso excessivo ou inadequado de antibióticos em meio hospitalar e em animais de produção. Em comum, a falta de investimento em investigação de novos antibióticos foi identificada como fator contribuinte para o desenvolvimento de resistências a antibióticos tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento.

Adicionalmente, Chokshi *et al* (43) mencionam também o importante papel das viagens intercontinentais na disseminação de resistências a antibióticos. Sendo comuns entre cidadãos de países desenvolvidos, permitem a disseminação a maior velocidade e em maior extensão de microrganismos resistentes aos antibióticos – transparecendo, em semelhança ao sucedido com a pandemia de COVID-19, que a disseminação de agentes patogénicos não enfrenta fronteiras geográficas (30).

Em medicina veterinária o uso de antibióticos em animais de companhia e animais de produção tem também importantes implicações para o desenvolvimento de resistências antibióticas (3,7,20,33). Por norma, em medicina veterinária o foco sobre uso de antibióticos incide sobretudo em animais de produção alimentar, nomeadamente pela quantidade significativa de antibióticos usados neste sector, na sua maioria das mesmas classes usadas em medicina humana, e pelo risco de disseminação de resíduos de antibióticos ou de agentes resistentes, através dos produtos alimentares (3,33,40,43).

Face ao crescimento acentuado de microrganismos resistentes a antibióticos, juntamente com o escasso desenvolvimento de novas substâncias, torna-se indispensável a sua utilização racional por forma a garantir a segurança da saúde pública (44,45). Neste sentido, é desejável que sejam incentivadas diferentes iniciativas que promovam a prevenção do desenvolvimento e disseminação de resistências aos antimicrobianos, por exemplo, através de programas de boas práticas de prescrição de antibióticos e outros antimicrobianos, através da educação dos prescritores, consumidores e restantes profissionais de saúde, ou pela implementação de programas de vigilância de prescrição de antibióticos e de microrganismos resistentes (7,27,33,35).

Em linha com os propósitos anteriormente descritos, diferentes grupos de trabalho da Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO) e da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE/WOAH) têm vindo a desenvolver e atualizar critérios de classificação de antibióticos consoante a sua importância para a saúde humana e animal, respetivamente. Nestas classificações, antibióticos criticamente importantes (CIA) têm indicações específicas para o seu uso em medicina humana ou medicina veterinária, ocorrendo em alguns casos a recomendação de restrição de uso em animais de forma a salvaguardar a saúde humana (5,11). Entre os antibióticos CIA de máxima prioridade para saúde humana destacam-se as cefalosporinas de 3^a, 4^a e 5^a geração, os macrólidos e as quinolonas. (46). Na classificação da OIE alguns antibióticos veterinários criticamente importantes (VCIA) são igualmente considerados como CIA em medicina humana, como é o caso das fluoroquinolonas e das cefalosporinas de 3^a e 4^a geração (47). A Agência Europeia de Medicamentos (EMA) organizou também esforços de categorização de classes de antibióticos utilizados em medicina veterinária, onde inclui antibióticos disponíveis para uso humano, repartindo os diferentes antibióticos por 4 classes com níveis decrescentes de prioridade: A, B, C e D (48).

3.1 Consumo de antibióticos em saúde humana

A relação entre o consumo de antibióticos e o desenvolvimento de resistências bacterianas aos mesmos é complexa, contudo evidente (6,12,33,34,49). Diferentes estudos mostram de forma consistente um aumento global do consumo de antibióticos em saúde humana, com importantes variações geográficas entre países de alto e baixo rendimento (36,37).

Segundo o estudo de *Browne et al* (37), as taxas de consumo de antibióticos em humanos a nível global aumentaram 46% entre os anos 2000 e 2018. Na análise de 204 países, as taxas mais altas de consumo de antibióticos por humanos foram encontradas na América do Norte, Europa e Médio Oriente, contrastando com baixas taxas de consumo em países da África subsariana e do Sudeste Asiático.

A nível Europeu existem também contrastes geográficos significativos nas taxas de consumo de antibióticos (49,50). Na Europa, o principal mecanismo de vigilância de consumo de antibióticos é realizado através da *European Surveillance of Antimicrobial Consumption* (ESAC-Net), gerida pelo ECDC (50).

Historicamente, a nível europeu são relatadas diferenças mais pronunciadas no consumo de antibióticos entre países do Norte e Sul da Europa, onde nestes últimos as taxas de consumo de antibióticos tendem a ser superiores (9,21,49,50).

3.2 Consumo de antibióticos em Medicina Veterinária

A utilização de antibióticos fora da esfera da saúde humana é um comum em áreas como a medicina veterinária, agricultura e aquacultura (7,20,33,42,51), e segundo dados do CDDEP (2021), prevê-se que a utilização de antibióticos em animais aumente cerca de 11,5% até 2030, possivelmente pelo aumento continuado da procura de proteína de origem animal (36).

Em consequência, o foco da utilização de antibióticos em medicina veterinária incide sobretudo no segmento de animais de produção (25,27,42,52), onde o consumo de antibióticos frequentemente excede o consumo gerado em saúde humana (51,53,54). Segundo o estudo de Van Boeckel *et al* (54), em 2013 o consumo global de antibióticos em animais de produção alimentar superou as 131 mil toneladas e previa um aumento do crescimento da resistência bacteriana nesta área. Semelhantemente, dados do segundo relatório conjunto da Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA)/ECDC/EMA (53) indicam que em 2014 cerca de dois terços da quantidade total de antimicrobianos consumidos na UE e Espaço Económico Europeu foram administrados a animais de produção alimentar.

Porém, o uso de antibióticos dentro da esfera da medicina veterinária contempla também a sua administração a animais de companhia e em ambos os segmentos é comum recorrer às mesmas classes de antibióticos utilizadas em saúde humana (7,19–21,27,55,56).

É de referir que a utilização de antibióticos nestas duas vertentes (animais de produção vs animais de companhia) difere de forma significativa. O uso de antibióticos em animais de companhia, como cães e gatos, é semelhante ao uso em saúde humana, sendo administrados de forma individual, com objetivos terapêuticos, e por vezes profiláticos (como em pós-cirurgia) (33), e segundo um estudo de Alcantara *et al* (19) a terapêutica é frequentemente empírica.

Já em animais de produção alimentar, a utilização de antibióticos é mais extensiva e contempla usos i) terapêuticos individuais, ii) metafiláticos, onde os antibióticos são administrados a grupos de animais onde coexistem animais saudáveis e doentes, iii) profiláticos e iv) enquanto agentes promotores de crescimento (33,40,51,52,56). Adicionalmente, o uso de antibióticos em animais de produção é utilizado erroneamente como mecanismo compensatório de baixas condições de higiene nos locais de produção (20,29,33,57). Deve referir-se, contudo, que no espaço europeu não é permitido o uso de antibióticos enquanto promotores de crescimento, e tem vindo a ser

alcançada uma redução no consumo e prescrição de antibióticos com fins metafiláticos e profiláticos (33,50,51).

Por outro lado, o número de animais de companhia tem vindo a aumentar de forma significativa ao longo das últimas décadas (19,27,55), acompanhando uma tendência crescente de antropomorfização dos animais (20). Segundo as estimativas da *European Pet Food Industry Federation* (FEDIAF), existem mais de 110 milhões de gatos e 90 milhões de cães em cerca de 80 milhões de lares pela Europa (58). Considerando o contacto íntimo, e um crescimento no número de infeções multirresistentes em animais de companhia, e a possibilidade da sua transmissão para humanos, o interesse na compreensão da utilização de antibióticos em clínica de animais de companhia tem vindo a aumentar (20–22,27,56).

Neste sentido, em sequência de esforços organizados pela CE, a EMA iniciou em 2009 o projeto *European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption* (ESVAC), com o objetivo de recolher e comunicar dados sobre a utilização de antimicrobianos em animais nos estados-membros da EU e no EEE (59). Similarmente, em 2010 a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), implementou o Plano Nacional de Monitorização do Consumo de Antimicrobianos, com vista a uma vigilância mais eficiente do consumo destas substâncias a nível nacional (60).

Relativamente a consumos de antimicrobianos, o relatório da ESVAC de 2021 mostra que em 2020, os 31 países participantes deste projeto reportaram vendas de 5577,8 toneladas de antibióticos, onde 98,7% (5057.4 toneladas) dizem respeito a animais de produção e 1,3% (70.4 toneladas) a animais de companhia (59).

3.2.1 Animais de companhia

No caso dos animais de companhia, a quantidade total de antibióticos é considerada através de formulações em comprimidos, uma vez que são quase exclusivas para este segmento. Apesar de também ser comum recorrer a formulações injetáveis em animais de companhia, estas não são contempladas na análise dos dados pela menor representatividade da biomassa deste grupo. Adicionalmente, na análise dos dados apenas são contemplados os antibióticos veterinários, e por isso vendas de antibióticos licenciados para humanos não são contabilizadas neste relatório (59). A figura 5 representa a variabilidade geográfica na prescrição das diferentes classes de antibióticos veterinários nos países europeus, sendo as maiores vendas respeitantes a classes de penicilinas (43,9%) e cefalosporinas de 1ª e 2ª geração (20,7%).

Em 2020, Portugal reportou vendas de 1.2 toneladas de antibióticos veterinários a animais de companhia, nomeadamente de cefalosporinas de 1ª e 2ª geração, seguido

de penicilinas (59) (figura 3). Em Janeiro de 2022 entrou em vigor nova legislação europeia (regulamentos 2019/4, de 11 de Dezembro de 2018 sobre a alimentação medicamentosa e o regulamento 2019/6 de 11 de Dezembro de 2018 sobre os medicamentos veterinários), que contemplam restrições ao uso de antimicrobianos em animais de produção, nomeadamente pela proibição do uso de alimentação medicamentosa com fins profiláticos ou o uso de antibióticos de forma rotineira como mecanismo compensatório de más condições sanitárias, e prevê um aumento da recolha de dados sobre o consumo de antimicrobianos nas diferentes espécies animais, incluindo, a partir de 2030, o reforço dos dados relativos a animais de companhia como cães e gatos (61).

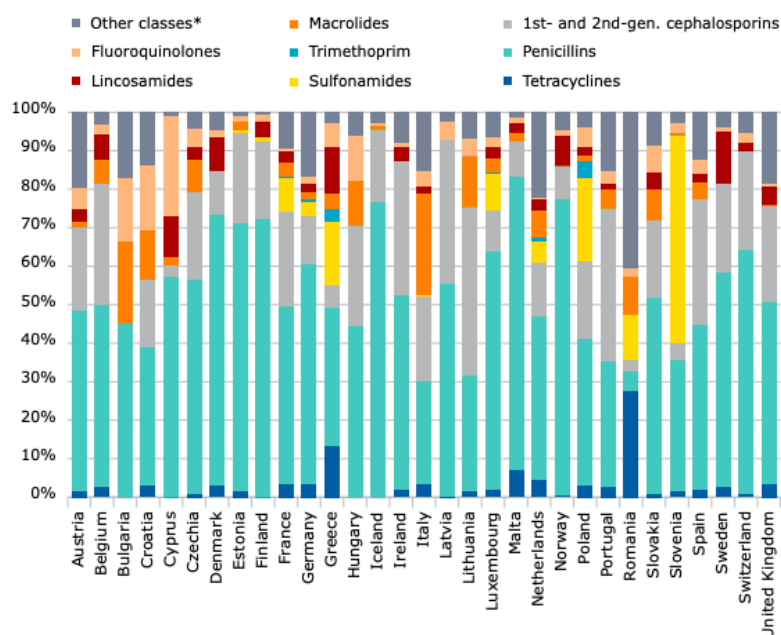


Figura 3 - Distribuição por classe das vendas de antibióticos veterinários a animais de companhia na Europa no ano de 2020 (59).

No que diz respeito a animais de companhia, o regulamento 2019/6 limita o uso de antibióticos em animais de companhia aos produtos veterinários disponíveis, recomendando seguir as boas práticas de prescrição veterinária ao abrigo da cascata de prescrição, de forma a evitar a prescrição de antibióticos humanos não licenciados para animais de companhia (61).

4. Sistemas de Vigilância de Resistência a Antibióticos

A luta contra a resistência a antimicrobianos não é eficaz sem sistemas de vigilância robustos, que contemplem os diferentes sectores onde os mesmos são administrados (6,27). O recurso a mecanismos de vigilância permite às autoridades de saúde identificar e monitorizar a prevalência de microrganismos altamente patogénicos e outros emergentes. Desta forma, os sistemas de vigilância de resistências a antimicrobianos são ferramentas essenciais para fazer face à ameaça crescente das resistências bacterianas aos antibióticos. Através da vigilância é possível acompanhar a magnitude e tendência das resistências aos antibióticos, e desenvolver mecanismos de atuação adequados e eficazes, com vista à minimização da propagação de infeções e resistências (27,29,44). Estes mecanismos são importantes de forma a aumentar a consciencialização em torno da problemática das resistências antimicrobianas por parte do público geral, de diferentes comunidades científicas e dos decisores políticos (4,27,35).

4.1 Sistemas de Vigilância de Resistência a Antibióticos em Saúde Humana

A nível Europeu, o *European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARS-Net)* é o sistema mais completo de vigilância de resistências antimicrobianas em humanos. O EARS-Net é uma rede internacional de sistemas de vigilância nacionais, que reúne dados de resistências a antibióticos nos vários países europeus. Atualmente, a EARS-NET está focada na identificação e monitorização da suscetibilidade antimicrobiana a oito bactérias que causam infeções em humanos: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter species*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*. Os dados analisados pelo EARS-Net contemplam apenas dados de isolados invasivos de amostras de sangue e líquido cefalorraquidiano, e os resultados dos testes de suscetibilidade a antibióticos são recolhidos pelas entidades nacionais e posteriormente enviados para o Sistema Europeu de Vigilância (TESSy) (62).

Em Portugal a Direção Geral da Saúde (DGS) através do seu Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos (PPCIRA) é a entidade que, em parceria com o Instituto Nacional Ricardo Jorge (INSA), coordena a vigilância EARS Net (6,63).

4.2 Sistemas de Vigilância de Resistência a Antibióticos em Medicina Veterinária

No sector da medicina veterinária, e a nível Europeu, além da vigilância do consumo de antimicrobianos em animais de produção, existem em vigor mecanismos de vigilância da RAM também dirigidos, maioritariamente, a animais de produção alimentar. Nestes,

o conhecimento das resistências bacterianas associadas à utilização de antibióticos é fundamental, uma vez que estas podem disseminar-se a humanos através do contacto direto, ambiental e via cadeia alimentar, através dos seus produtos alimentares derivados (7,33,53).

A Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) coordena os mecanismos de vigilância de bactérias comensais e zoonóticas em animais de produção alimentar (bovinos, aves e suínos) nos locais de abate e em géneros alimentícios, de acordo com a diretiva 2003/99/CE e da decisão 2020/1729 (6,53). Contudo, é de referir que esta vigilância incide maioritariamente sobre animais saudáveis, e não cobre isolados clínicos de animais de doentes (27,64).

Ao abrigo deste programa de vigilância são avaliadas as resistências de *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *E. coli* aos antibióticos comumente utilizados nestes animais. Adicionalmente, o ECDC, através da *Food and Waterborne diseases and Zoonosis Network* (FWD-Net), monitoriza a ocorrência da RAM em *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *E. coli* de humanos, e analisa estes dados em conjunto com a EFSA (64).

Segundo o relatório conjunto da EFSA e do ECDC (64), em 2020 a campilobacteriose foi a zoonose associada a consumo alimentar mais frequentemente reportada, e tanto aves como humanos mantêm níveis elevados de resistência à ciprofloxacina (fluoroquinolonas). O relatório descreve também níveis moderados a elevados de resistência às fluoroquinolonas para *Salmonella* spp. em animais de produção alimentar (aves poedeiras, perus de engorda, carcaças de aves). Por outro lado, é encontrada uma tendência decrescente na prevalência de *E. coli* produtoras de ESBL em animais de produção alimentar, e a resistência a carbapenemos em *E. coli* e *Salmonella* de animais de produção alimentar mantêm-se rara (64).

Previamente, uma análise conjunta da EMA, ECDC e EFSA (53), revelava uma associação entre a utilização de antibióticos e a RAM às classes de antimicrobianos utilizados, contudo indicando que a força relativa destas associações varia significativamente com a classe de antibióticos, microrganismos e sector. Tal como descrito para humanos, em animais a RAM varia significativamente por país e por classe de antibiótico.

4.2.1 Animais de companhia

A monitorização da RAM em animais de companhia está ainda aquém dos esforços desenvolvidos para outros segmentos de medicina veterinária (20–22,27,29). Nas últimas décadas o número e convívio com animais de companhia, como cães e gatos,

alterou-se de forma significativa nos países ocidentais. Atualmente, estimam-se cerca de 200 milhões de cães e gatos nos lares europeus (58), permanecendo a maior parte do seu tempo no interior dos domicílios, coabitando os espaços comuns e numa maior proximidade e interação com os seus tutores, estreitando as vias de transmissão de bactérias entre humanos e animais (20,22,24–26,65). Existem diversos estudos que demonstram as relações entre o contacto de humanos e animais de companhia e o risco de transmissão de bactérias MRSA (65), à partilha interespecie de bactérias resistentes a carbapenemos (66). Numa revisão de riscos de saúde pública associados à transferência de bactérias resistentes a antibióticos entre animais de companhia e humanos para a EMA, Pomba *et al* (22) descreve como perigos de transmissão com origem em animais de companhia para humanos, bactérias como i) MRSA, ii) *Staphylococcus pseudointermedius* resistente à meticilina (MRSP), iii) *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE), iv) Enterobacteriaceas produtoras de ESBL, v) bactérias Gram-negativas produtoras de carbapenemases e vi) *E. coli* resistentes a colistina.

O risco de transmissão de bactérias interespecíes é real (22), contudo a monitorização da RAM em animais de companhia é ainda uma falha a colmatar (21,26,27)

Num estudo multicêntrico de Marques *et al* (21) foram avaliadas as resistências antimicrobianas das bactérias de cães e gatos com infeções do trato urinário (ITU) em vários países europeus entre os anos 2012 e 2013. Além de *E. coli* ter sido descrita como a bactérias mais prevalente, nos países do Sul da Europa (Portugal, Espanha, Itália e Grécia) foi demonstrado um maior nível de resistência a antimicrobianos em todas as bactérias quando em comparação com os países do Norte de Europa (Dinamarca e Suécia). Adicionalmente, verificou-se um maior número de *E. coli* MDR nestes países do Sul da Europa. Posteriormente, num estudo retrospectivo abrangendo o período entre 1999-2014, Marques *et al* (67) descreveu também um aumento significativo da RAM em Enterobacterales uropatogénicas de animais de companhia (cães e gatos) em Lisboa e um crescimento de MRSP ao longo do período de tempo avaliado.

Na prática muito do conhecimento da RAM em animais de companhia advém de estudos como os descritos anteriormente, e ainda que alguns países tenham programas de vigilância onde possam estar incluídos dados de animais de companhia, frequentemente a variabilidade dos dados e de critérios de inclusão incapacita uma análise harmonizada e fidedigna (21,27).

Neste sentido, *Mader et al* (27,29), sugere que para um combate adequado à RAM, a realidade das redes de vigilância em medicina veterinária tem de ser ajustada de forma a contemplar a análise de isolados de animais clinicamente doentes, onde para além dos animais de produção alimentar se devem incluir os animais de companhia como cães e gatos. Assim, e de forma a fornecer dados que apoiem o uso adequado de antimicrobianos em medicina veterinária é proposta a construção de uma rede europeia de vigilância de RAM em medicina veterinária – a *European Antimicrobial Resistance Surveillance network in Veterinary Medicine (EARS-Vet)*. A proposta para a EARS-Vet surge de um acordo com a *EU Joint Action on Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections* (EU-JAMRAI) e está em linha com as regulações europeias de saúde animal e com a diretiva 2019/6, a propósito dos medicamentos veterinários, que realça a necessidade de dados sobre a RAM. Segundo estes autores, a EARS-Vet poderia ser integrada na EARS-Net, FWD-Net, na vigilância de RAM em bactérias zoonóticas da EFSA e na ESVAC (29).

A EARS-Vet tem como objetivos descrever a RAM, seguindo as tendências e avaliando a emergência de RAM em espécies bacterianas de animais na Europa. Com estes dados, a rede pode ser útil no aconselhamento de políticas para intervenções mais dirigidas e eficientes, tendo por base uma melhor compreensão da RAM e da sua evolução, bem como das relações entre o consumo de antimicrobianos e a RAM em animais e humanos (27,29)

Seguindo o proposto, nesta rede será monitorizada a RAM em seis espécies animais e para um total de 11 espécies bacterianas. No caso de animais de companhia (tabela 1), atendendo que lesões dermatológicas e infeções urinárias são condições frequentes, foram selecionadas para vigilância amostras de pele e urina, contemplando a monitorização da RAM em *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus pseudointermedius*, e em *E. coli*, respectivamente. Desta forma, a EARS-vet tem potencial para suprimir uma falha importante na monitorização da RAM na Europa, ao incluir os animais de companhia, as espécies bacterianas importantes nestas espécies e os antimicrobianos mais relevantes para a medicina veterinária, que não se encontram de momento cobertas pela rede EARS-Net ou no programa da EFSA (29).

Tabela 1 - Espécies bacterianas e antibióticos sugeridos para monitorização de RAM em cães e gatos na rede EARS-Vet. Adaptado de Mader *et al* (29). (AMN, Aminopenicilinas; AMC, Amoxicilina e Ácido Clavulânico; TMS, Trimetoprim-Sulfametoxazol)

Espécie animal	Amostra	Espécie bacteriana	Antibióticos a monitorizar												
			AMN	AMC	Penicilina	Fluoroquinol	Cefas 1 ^a , 3 ^a ,	Carbapenem	Gentamicina	Colistina	Tetracilina	TMS	Meticilina	Eritromicina	Lincomicina
Cão	Urina	<i>E. coli</i>	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
	Pele	<i>S. aureus</i> , <i>S. pseudointermedius</i>			✓	✓			✓		✓	✓	✓	✓	✓
Gato	Urina	<i>E. coli</i>	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓				
	Pele	<i>S. aureus</i> , <i>S. pseudintermedius</i>			✓	✓			✓		✓	✓	✓	✓	✓

5. One Health

A RAM é um assunto complexo e ultrapassa questões de ciência e evidência. É também um tema político, económico e comportamental, e vai além de consequências do uso ou abuso de antimicrobianos, com impactos nos diferentes segmentos de saúde humana, animal e ambiental (68). Onde quer que os antimicrobianos sejam usados, surgem reservatórios de resistência, em humanos e nos ambientes locais de hospitais ou da comunidade, em animais e nos ambientes de produção animal e agricultura, na água, no solo, vida selvagem e muitos outros nichos ecológicos (33).

Considerando a ameaça que a RAM representa para a saúde pública a nível mundial, quer em saúde humana como em saúde animal, e atendendo à complexidade da interação entre estes sistemas, é defendido que o meio mais adequado de lutar contra este tipo de emergências de saúde global é ao abrigo do conceito de “*One Health*” ou “Uma Saúde” (69). O conceito de “*One Health*” não é recente, e é descrito como “uma abordagem colaborativa, multisectorial, e transdisciplinar, a trabalhar local, regional, nacional e globalmente, para atingir a ótima saúde e bem-estar de animais, pessoas, plantas e do ambiente por todos partilhado, reconhecendo as suas interrelações inextrincáveis” (69).

A recente pandemia por Covid-19, manifestamente uma crise de saúde pública humana, resultante de um vírus com provável origem animal, reforça a validade do conceito de “One Health”, na compreensão e recursos para combater riscos de saúde globais. Atendendo às alterações no comportamento humano, à facilidade de viagens e comércio internacional, e ao perigo do aquecimento global, existem múltiplas oportunidades para outros agentes patogénicos colonizarem novos territórios e evoluírem para novas formas. Ao abrigo do conceito de “One Health”, estes riscos não são eficazmente resolvidos através de abordagens segmentárias e exigem esforços multisectoriais (70).

Neste sentido, têm sido observadas várias colaborações internacionais e interagências, por exemplo entre o ECDC, EFSA, ou FAO, OIE e OMS, onde são defendidas várias propostas de combate à RAM em saúde humana, em medicina veterinária e no ambiente, ao abrigo do conceito de “One Health”. No caso da RAM, as abordagens “One Health” defendem a prevenção e controlo adequado através do uso racional de antimicrobianos nestes segmentos, por forma a garantir a sua disponibilidade e conservar a eficácia destes agentes (4,53,70).

Em 2010 a FAO-OIE-OMS organizaram-se numa aliança tripartidária onde promoveram de forma sinérgica a os seus conhecimentos e meios de comunicação para fazer face às prioridades estabelecidas, nomeadamente a RAM, a raiva e a influenza animal (32). Em 2017, esta aliança reforçou a sua estratégia no combate à RAM, nomeadamente com foco no reforço de sistemas nacionais de saúde humana, animal e de segurança alimentar, no fortalecimento e modernização de sistemas de vigilância, em meios de previsão, preparação e resposta a doenças infecciosas negligenciadas, emergentes ou reemergentes (32).

Adicionalmente, em 2015 a OMS definia também o seu Plano Global de Ação contra a RAM, onde abraça o conceito de “One Health” nas estratégias dirigidas ao combate das resistências antimicrobianas, apelando aos estados-membros para considerarem o mesmo conceito aquando do planeamento dos seus planos nacionais (11).

Neste Plano Global de Ação da OMS são propostos 5 pontos de ação: 1) melhorar a perceção e compreensão da resistência antimicrobiana através de comunicação efetiva, educação e treino, 2) fortalecer o conhecimento e evidência através de vigilância e investigação, 3) reduzir a incidência de infeções através de cuidados sanitários eficientes, higiene e medidas de prevenção de infeção, 4) otimizar o uso de antimicrobianos em saúde humana e animal, e 5) desenvolver economia para investimento sustentável que considere as necessidades de todos os países, e

aumentar o investimento em novas substâncias, meios de diagnóstico, vacinas e outras intervenções (7,11,33).

De notar também que a RAM é considerada como um fator limitante para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela OMS para 2030, nomeadamente ao afetar o ODS 3 “Saúde de qualidade”. Contudo, a RAM tem também implicações nos ODS 1 “Erradicar a pobreza”, 2 “Erradicar a fome”, 6 “Água potável e saneamento”, 8 “Trabalho digno e crescimento económico”, 12 “Produção e consumo sustentáveis” e no ODS 17 “Parcerias para a implementação de objetivos”, onde se contempla uma abordagem “One Health” (4,71).

A nível Europeu, em 2017 a UE adotou um plano de ação sob o conceito de “One Health” para combater os efeitos da RAM. Este plano tem como objetivo geral a preservar a eficácia dos tratamentos em infeções de humanos e animais, e garante uma base de ação ampla e contínua para a redução da emergência e disseminação da RAM ao mesmo tempo que pretende promover o desenvolvimento e disponibilidade de novos medicamentos na UE (12).

A nível nacional, o atual Plano Nacional De Combate À Resistência Aos Antimicrobianos (PNCRAM), elaborado em 2018 e em vigor até 2022, foi desenvolvido sob o âmbito de uma abordagem “One Health” e sob esforços coordenados pela DGS, a DGAV e a Agência Portuguesa do Ambiente (APA). O PNCRAM adota para o panorama nacional as estratégias definidas pelo plano conjunto da OMS-OIE-FAO contemplando num único plano nacional metas para saúde humana, saúde animal e ambiente (45).

Em 2013, a DGAV teria já implementado o Plano de Ação Nacional para a Redução do Uso de Antibióticos nos Animais (PANRUAA) cujos objetivo seria a redução do uso de antibióticos em medicina veterinária, e nomeadamente em animais de produção alimentar, contudo manifestando a necessidade de uma abordagem conjunta com entidades de saúde humana (72). Atualmente, os planos da DGAV estão em linha com o PNCRAM.

6. Finalidade e Objetivos

Finalidade

As infecções do trato urinário são um dos principais motivos de apresentação clínica de animais de companhia em centros de atendimento médico-veterinários (CAMVs). São, igualmente, condições clínicas que muito frequentemente são sujeitas à prescrição e utilização de antibacterianos em medicina veterinária (20,21,73). De etiologia variada, as infecções bacterianas são as causas mais comuns de ITU em cães e gatos (74), e na sua terapêutica, é comum utilizar-se as mesmas das classes de antibióticos usadas em medicina humana (21,67). Considerando que durante as ITUs, animais de companhia como cães e gatos tendem a apresentar uma elevada carga de bactérias uropatogénicas na urina, a facilidade de disseminação destas bactérias é potenciada (21). Além disso, é também necessário considerar o papel dos animais de companhia saudáveis enquanto reservatórios de bactérias patogénicas e potenciais riscos para a saúde pública (21,22,75).

Vários estudos publicados revelam também o crescimento do desenvolvimento de bactérias multirresistentes em medicina veterinária, incluindo bactérias com potencial zoonótico, colocando em causa a saúde humana e o desenvolvimento de resistências a antibióticos em saúde humana (21,22,24–26,67).

A nível nacional Marques *et al* (21,67) relata *E. coli* como agente prevalente de ITU em cães e gatos, com elevados níveis de resistência a Amoxicilina e Ácido Clavulânico, Cefalosporinas de 3ª geração e a fluoroquinolonas, e uma prevalência crescente de *Enterobacterales* (67).

Atendendo a que a prescrição e consumo de antibióticos em medicina veterinária é uma necessidade para a prática clínica, torna-se imperativa a monitorização ativa do perfil de resistências a antibióticos em medicina veterinária (20,21,27,29). Na ausência de uma rede de vigilância de resistências a antibióticos em medicina veterinária a nível nacional, os estudos existentes nesta temática são fundamentais para a melhor compreensão do panorama nacional e definição de estratégias de ação contra o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos em medicina veterinária e medicina humana.

6.2 Objetivos

Este estudo tem como objetivo principal estimar a frequência de resistência a antibióticos comumente utilizados em medicina veterinária, pelas diferentes espécies bacterianas isoladas, em infeções do trato urinário detetadas em animais de companhia na Área Metropolitana de Lisboa.

6.2.1 Objetivos secundários

Como objetivos secundários deste estudo, salientam-se i) a caracterização dos agentes etiológicos das ITUs felinas e caninas na AML, ii) a determinação da frequência de resistência a antibióticos considerados criticamente importantes em medicina humana, e iii) a identificação de isolados bacterianos resistentes a antibióticos potencialmente zoonóticos, nomeadamente MRSA e MRSP.

6.3 Material e métodos

6.3.1 Desenho de estudo

O estudo em questão é considerado observacional, transversal e descritivo, embora com uma componente analítica. Uma vez que o objeto de estudo diz respeito a dados laboratoriais respeitantes a um período temporal compreendido entre os anos 2019 e 2020, o estudo assume também um carácter retrospectivo. O recurso a estudos observacionais, transversais e descritivos são apropriados quando se pretende recolher informações acerca de características, comportamentos ou taxas de prevalência de uma população num determinado período. Este desenho de estudo é menos invasivo e menos dispendioso do que outras metodologias, sendo por isso considerado uma ferramenta útil em investigações de saúde pública (76,77).

6.3.2 População-alvo

Cães e gatos domésticos (doravante denominados “animais de companhia”), examinados em CAMV's da Área Metropolitana de Lisboa e com amostras de urina submetidas para urocultura no laboratório DNATech (Lisboa, Portugal).

6.3.3 População do estudo

Todos os animais de companhia examinados em CAMVs da Área Metropolitana de Lisboa, com amostras de urina submetidas para urocultura no laboratório DNATech, e com resultado de urocultura positiva, durante o período entre 01 Janeiro de 2019 e 31 de Dezembro de 2020.

6.3.4 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo todos os animais de companhia com resultados de uroculturas negativas ou sem registos completos dos resultados de testes de suscetibilidade a antibióticos (TSA).

6.3.5 Dimensão da Amostra

A amostra efetiva consistiu em 2517 uroculturas de animais de companhia, contudo após aplicação dos critérios de exclusão a amostra final consistiu de 951 uroculturas positivas.

6.3.6 Instrumento de recolha

As amostras de urina dos animais de domésticos foram submetidas para urocultura ao laboratório DNATech pelos médicos veterinários dos CAMVs onde estes foram originalmente assistidos. Foram consideradas todas as amostras de urina enviadas para análise, independentemente do seu método de colheita. A identificação dos microrganismos foi realizada tanto por testes fenotípicos e meio visual após cultura e incubação, como por recurso ao aparelho VITEK II (Biomérieux[®]). O aparelho VITEK II (Biomérieux[®]) permite uma rápida identificação bacteriana e realização de TSA para os isolados clínicos mais comuns. Este aparelho analisa cartas de utilização única para a identificação dos microrganismos e para a realização dos TSA, o aparelho VITEK II (Biomérieux[®]) determina valores de concentração mínima inibitória para os antibióticos testados com base nas diretivas da EUCAST, indicado a suscetibilidade ou resistência a cada antibiótico testado. Os dados para o estudo foram cedidos pelo laboratório DNATech, sendo disponibilizados após exportação dos resultados das uroculturas e dos TSA executados pelo aparelho VITEK II (Biomérieux[®]), em formato .xlsx (Microsoft Excel[®]). A susceptibilidade aos antibióticos testados foi reportada como “Sensível”, “Intermédia” ou “Resistente”.

6.3.7 Variáveis de estudo

Para o estudo, os dados disponibilizados em formato .xlsx (Microsoft Excel®) foram organizados e as variáveis de interesse recodificadas de forma a permitirem a análise pretendida (anexo 4).

Dada a natureza retrospectiva do estudo e a diversidade dos antibióticos utilizados nos TSA, a escolha de antibióticos a incluir na análise do estudo foi realizada após organização dos dados, e procurou respeitar os seguintes aspetos:

1. incluir antibióticos comumente utilizados em prática clínica de medicina veterinária;
2. serem representativos das diferentes classes de antibióticos de interesse clínico em medicina veterinária e em medicina humana;
3. consideração pelas classes de antibióticos reportadas no relatório da EMA (2021) a propósito das vendas de antibióticos em animais de companhia em Portugal no ano de 2020;
4. consideração pela categorização da OMS da importância dos antibióticos para a saúde humana;
5. consideração por antibióticos/classes de antibióticos representadas nas redes EARS-Net e EARS-Vet.

Na ausência de indicações de antibióticos nestas redes para as espécies bacterianas encontradas no estudo ou de espécies bacterianas diferentes das contempladas nestas redes, procurou-se manter um conjunto de agentes antibióticos de interesse clínico em medicina veterinária que seguissem os critérios anteriormente descritos. Foram igualmente contempladas eventuais resistências intrínsecas aos antibióticos selecionados.

Para a análise em estudo foram selecionados 14 antibióticos (tabela 2): *amoxicilina* & *ácido clavulânico* (AMC), *ampicilina* (AMP), *metecilina* (MET), *cefalexina* (CFL), *cefalotina* (CFT), *cefovecina* (CFV), *ceftiofur* (CFF), *cefpodoxima* (CFP), *enrofloxacina* (ENR), *gentamicina* (GEN), *imipenem* (IMI), *trimetoprim-sulfametoxazol* (TPS), *tetraciclina* (TCN), *eritromicina* (ERM). A listagem completa de antibióticos utilizados nos TSA e o racional de inclusão de antibióticos na análise está descrita nos anexos 2 e 3, respetivamente.

A prevalência de resistência aos antibióticos foi classificada segundo os critérios da EFSA e ECDC em Rara < 0,1%, Muito baixa 0,1 – 1%, Baixa > 1 – 10%, Moderada > 10 – 20%, Alta > 20 – 50%, Muito alta > 50 – 70, Extremamente alta > 70% (EFSA, ECDC, 2018). As variáveis do estudo encontram-se descritas no anexo 4.

*Tabela 2 - Antibióticos considerados para análise no estudo. Classificação da OMS – CIA, “Critically Important Antibiotics”, HIA – “Highly Important Antibiotics” (OMS, 2017). *Testado em Staphylococcus spp. ** Testado apenas em bactérias Gram-positivas.*

<i>Grupo/classe antibiótico</i>	<i>Antibiótico selecionado</i>	<i>Designação</i>	<i>EARS-Net</i>	<i>EARS- Vet</i>	<i>Classificação OMS</i>
<i>Penicilinas</i>	Amoxicilina & Ácido Clavulânico	AMC	x	✓	HIA
	Ampicilina	AMP	✓	✓	HIA
	Meticilina*	MET	✓	✓	CIA
<i>Cefalosporinas 1ª G</i>	Cefalexina	CFL	x	✓	HIA
	Cefalotina	CFT			
<i>Cefalosporinas 3ª G</i>	Cefovecina	CFV			
	Ceftiofur	CFF	✓	✓	CIA
	Cefpodoxima	CFP			
<i>Fluoroquinolonas</i>	Enrofloxacin	ENR	✓	✓	CIA
<i>Aminoglicosídeos</i>	Gentamicina	GEN	✓	✓	CIA
<i>Carbapenemos</i>	Imipenem	IMI	✓	✓	CIA
<i>Sulfonamidas potenciadas</i>	Trimetoprim- Sulfametoxazol	TMP	✓	✓	HIA
<i>Tetraciclina</i>	Tetraciclina	TCN	x	✓	HIA
<i>Macrólidos**</i>	Eritromicina	ERM	✓	✓	CIA

6.3.8 Estratégia de análise

Após leitura e ordenação dos dados, classificaram-se os resultados de uroculturas em cada espécie, e nas uroculturas positivas (n=951) avaliou-se a prevalência dos agentes bacterianos por espécie animal. A posterior análise dos resultados incidiu apenas para isolados bacterianos em número igual ou superior a 10.

A identificação e classificação das resistências bacterianas aos antibióticos foi realizada para o conjunto de uroculturas positivas, independentemente da espécie animal onde os isolados foram identificados ou do ano da sua análise. Isolados pertencentes ao género *Staphylococcus* spp., nomeadamente *Staphylococcus intermedius* e

pseudintermedius são frequentemente difíceis de diferenciar sem recurso a técnicas moleculares, pelo que sem os mesmos é recomendado que isolados identificados como *Staphylococcus intermedius* sejam considerados como *Staphylococcus pseudintermedius* ou englobados no grupo SIG – *Staphylococcus Intermedius Group* (Schawrz, Kadlec, 2012). Desta forma, isolados bacterianos identificados como *Staphylococcus intermedius* (n=53) foram considerados como *Staphylococcus pseudintermedius*.

Os isolados bacterianos foram considerados como MDR quando apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico em três ou mais classes de antibióticos diferentes, como por exemplo a ampicilina (Penicilinas), enrofloxacina (Fluoroquinolonas) e gentamicina (Aminoglicosídeos) (55).

A resistência a antibióticos não foi avaliada para isolados com frequências de testagem a antibióticos inferiores a 50% do total de isolados para dada espécie bacteriana.

A análise estatística foi realizada com recurso ao software SPSS versão 28.0.1.1 (14). O teste de Qui-Quadrado foi aplicado para comparar a frequência de espécie bacteriana por espécie animal, utilizando um valor de alfa de 0.05. Esta escolha assenta na comparação de variáveis categóricas. Todas as frequências de resistência a antibióticos são apresentadas com intervalo de confiança de 95%, calculado para todos os isolados testados com os antibióticos selecionados.

6.3.9 Questões éticas

O consentimento dos clientes foi obtido aquando do ato clínico pelo médico veterinário assistente. Contudo, de forma a salvaguardar dados clínicos e cumprir medidas de proteção de dados pessoais, foram mantidos ocultos detalhes relativos à identificação de CAMVs, dos tutores de animais de companhia e dos próprios animais.

7 - Resultados

Durante os anos de 2019 e 2020 foram submetidas para urocultura e TSA cerca de 2517 amostras de urina de cães (n=1271) e gatos (n=1246) observados em CAMVs da AML. Do total de amostras submetidas, em 62% (n=1566) não houve qualquer multiplicação bacteriana. No conjunto de uroculturas positivas (n=951), a maioria correspondeu a uroculturas de cães (n=587), observando-se uma diferença estatisticamente significativa entre os resultados de uroculturas de cães e gatos ($p < 0,001$).

No total foram isoladas 25 espécies bacterianas (anexo 1), sendo a maioria correspondente a bactérias Gram-negativas (n=691). Considerando a espécie animal, as bactérias Gram-negativas ocorreram de forma estatisticamente significativa em número superior face a bactérias Gram-positivas, tanto em cães como em gatos ($p < 0,001$).

No conjunto de uroculturas positivas em estudo a espécie bacteriana mais frequente foi *E. coli* (n=482), seguida de *Proteus mirabilis* (n=120), *Enterococcus sp.* (n=105), *Staphylococcus pseudintermedius* (n=85), *Klebsiella pneumoniae* (n=65), *Staphylococcus aureus* (n=43), *Streptococcus agalactiae* (n=13) e *Pseudomonas aeruginosa* (n=12), entre outros isolados bacterianos em menor frequência.

Observando as frequências das diferentes espécies bacterianas por espécie animal (tabela 8), *E. coli* foi o isolado mais frequente tanto em cães como em gatos, tendo sido observável uma diferença estatisticamente significativa nas frequências das restantes espécies bacterianas por espécie animal ($p < 0,001$). No que concerne aos resultados positivos das uroculturas de cães, após *E. coli* (n=292) segue-se *P. mirabilis* (n=104), *Staphylococcus pseudintermedius* (n=59), *Enterococcus sp.* (n=50), *K. pneumoniae* (n=43), *Staphylococcus aureus* (n=15), *Streptococcus agalactiae* (n=10) e por fim *P. aeruginosa* (n=10). Quanto aos resultados das uroculturas positivas de gatos, depois de *E. coli* (n=190) segue-se de *Enterococcus sp.* (n=55), *Staphylococcus aureus* (n=28), *Staphylococcus pseudintermedius* (n=26), *K. pneumoniae* (n=22), *P. mirabilis* (n=16), *P. aeruginosa* (n=8) e por fim *Streptococcus agalactiae* (n=3).

Tabela 3 - Frequência de espécies bacterianas isoladas nas uroculturas de cães e gatos. p – valor de p obtido pelo teste Chi-Quadrado para comparação das frequências de microrganismos entre espécie animal.

Microrganismo	Espécie					
	Canina			Felina		
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%
<i>Escherichia coli</i>	292	49,70%	45,7% - 53,80%	190	52,20%	47,1% - 57,3%
<i>Proteus mirabilis</i>	104	17,70%	14,8% - 21%	16	4,40%	2,6% - 6,9%
<i>Enterococcus spp.</i>	50	8,50%	6,5% - 11%	55	15,10%	11,7% - 19,1%
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	59	10,10%	7,8% - 12,7%	26	7,10%	4,8% - 10,10%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	43	7,30%	5,4% - 9,6%	22	6,00%	3,9% - 8,8%
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	2,60%	1,5% - 4,1%	28	7,70%	5,3% - 10,8%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10	1,70%	0,9% - 3,0%	3	0,80%	0,2% - 2,2%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	0,70%	0,2% - 1,6%	8	2,20%	1% - 4,1%
<i>Outras</i>	10	1,70%	0,9% - 3%	16	4,40%	2,6% - 6,9%

Totais						
n= 951	Espécie	Gram +	%	Gram -	%	p
	Canina	135	33	452	77	< 0,001
	Felina	125	34	239	66	

Considerando a avaliação das resistências aos antibióticos em cada espécie bacteriana, em *E. coli* foi avaliada a resistência face a 12 dos 14 antibióticos selecionados para o estudo (tabela 4). As maiores frequências de resistência a antibióticos em *E. coli* foram detetadas para ampicilina (32,6%), tetraciclina (22,8%) e enrofloxacina (15,8%). Por outro lado, não foram identificadas resistências ao imipenem e são descritas baixas frequências de resistência para gentamicina (3,6%), ceftiofur (7,1%) e cefovecina (7,7%). Segundo a classificação da EFSA/ECDC, os níveis de resistência de *E. coli* para ampicilina podem ser enquadrados na categoria “Alta”, situando-se os outros antibióticos nas categorias de resistência “Baixa” (amoxicilina e ácido clavulânico, cefalosporinas de 3ª geração e gentamicina) e “Moderada” (cefalosporinas de 1ª geração, enrofloxacina e trimetropim/sulfametoxazol). No total, 95 dos 482 isolados de

E. coli (19,7%) manifestaram resistência a pelo menos um antibiótico de três ou mais categorias de antibióticos diferentes, sendo por isso classificados como MDR.

Tabela 4 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de *E. coli*

<i>E. coli</i>						
Antibiótico	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA/ECDC de risco para resistência
AMC	482	100%	40	8,3%	6,1 – 11%	Baixa
AMP	481	99,8%	157	32,6%	28,6 – 38,9%	Alta
CFL	481	99,8%	51	10,6%	8,1 – 13,6%	Moderada
CFT	480	99,6%	72	15%	12 – 18,4%	Moderada
CFV	481	99,8%	37	7,7%	5,6 – 10,3%	Baixa
CFF	482	100%	34	7,1%	5 – 9,6%	Baixa
CFP	482	100%	43	8,9%	6,6 – 11,7%	Baixa
IMI	481	99,8%	0	-	-	-
GEN	482	100%	14	3,6%	1,7 – 4,7%	Baixa
ENR	482	100%	74	15,8%	12,3 – 18,8%	Moderada
TCN	480	99,6%	111	22,8%	19,5 – 27,1%	Alta
TMP	480	99,6%	68	14,2%	11,3 – 17,5%	Moderada
Multirresistência			n	%MDR	IC 95%	
			95	19,7%	16,3-23,4%	

Relativamente a *Proteus mirabilis*, foi avaliada resistência face a 11 dos 14 antibióticos selecionados (tabela 5). No que diz respeito às resistências a antibióticos, *Proteus mirabilis* apresentou resistência total a tetraciclina (100%), verificando-se maiores frequências de resistência face aos antibióticos ampicilina (38,3%), imipenem (28,3%), trimetopim-sulfametoxazol (25,8%) e enrofloxacina (24,2%). As menores frequências de resistência ocorreram nos antibióticos ceftiofur e gentamicina (igualmente com 5%), cefovevina (5,8%) e cefpodoxima (7,5%). De acordo com a classificação da

EFSA/ECDC, a maioria dos antibióticos é descrito com nível de resistência classificado como “Baixa” (amoxicilina e ácido clavulânico, cefalosporinas de 3ª geração e gentamicina) ou “Alta” (ampicilina, imipenem, enrofloxacin e trimetoprim-sulfametoxazol). Dos 120 isolados de *Proteus mirabilis*, 45 (37,5%) apresentaram padrão de resistência consistente com multirresistência a antibióticos.

Tabela 5 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de Proteus mirabilis

<i>Proteus mirabilis</i>						
Antibiótico	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA/ECDC de risco para resistência
AMC	120	100%	10	8,3%	4,4 – 14,3%	Baixa
AMP	120	100%	46	38,3%	30 – 47,2%	Alta
CFT	120	100%	14	11,7%	6,8 – 18,3%	Moderada
CFV	120	100%	7	5,8%	2,6 – 11,1%	Baixa
CFF	120	100%	6	5%	2,1 – 10%	Baixa
CFP	120	100%	9	7,5%	3,8 – 13,2%	Baixa
IMI	120	100%	34	28,3%	20,9 – 36,8%	Alta
GEN	120	100%	6	5%	2,1 – 10%	Baixa
ENR	120	100%	29	24,2%	17,2 – 32,4%	Alta
TCN	120	100%	120	100%	-	Extremamente alta
TMP	120	100%	31	25,8%	18,6 – 34,2%	Alta
Multirresistência			n	%MDR	IC 95%	
			45	37,5%	29,2 – 46,4%	

Em *Enterococcus sp.* foram testados 4 dos 14 antibióticos selecionados para o estudo, (tabela 6). A maior frequência de resistência foi descrita para o antibiótico cefovecina (74%), seguindo-se eritromicina (28,8%) e enrofloxacin (14,6%). Face ao nível de resistência encontrado em cefovecina e ampicilina, estas podem ser descritas como “Extremamente Alta” e “Alta”, respetivamente. Foram ainda identificados 10 isolados de *Enterococcus sp.* com perfil de multirresistência face aos antibióticos em estudo.

Tabela 6 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de *Enterococcus sp.*

<i>Enterococcus sp</i>						
<i>Antibiótico</i>	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA/ECDC de risco para resistência
<i>AMP</i>	95	91,4%	9	9,5%	4,8 – 16,6%	Baixa
<i>CFV</i>	104	100%	77	74%	65 – 81,7%	Extremamente Alta
<i>ENR</i>	103	99%	15	14,6%	8,8 – 22,3%	Moderada
<i>ERM</i>	104	100%	30	28,8%	20,8 – 38%	Alta
Multirresistência			n	%MDR	IC 95%	
			10	9,6%	5,1 – 16,4%	

Relativamente a *Staphylococcus pseudintermedius* foram testados 7 dos 14 antibióticos seleccionados (tabela 7). As maiores frequências de resistência foram encontradas face a ampicilina (66,7%), metilina (30,5%), seguindo-se a resistência a cefovecina e enrofloxacin com 23,8% dos isolados resistentes a estes antibióticos. As menores frequências de resistência foram encontradas face a gentamicina (13,1%) e trimetoprim-sulfametoxazol. O nível de resistência face a ampicilina é descrito como “Extremamente Alta”, os de cefovecina, enrofloxacin, eritromicina e metilina na como “Alta”, e gentamicina e trimetoprim-sulfametoxazol são enquadrados no nível de resistência de categoria “Moderada”. Dos 85 isolados de *Staphylococcus pseudintermedius*, 22 foram identificados como multirresistentes aos antibióticos testados.

Tabela 7 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de *Staphylococcus pseudintermedius*

<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>						
<i>Antibiótico</i>	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA de risco para resistência
AMP	33	38,9%	22	66,7%	49,7 – 80,8%	Extremamente Alta
CFV	84	98,8%	20	23,8%	15,7 – 33,7%	Alta
GEN	84	98,8%	11	13,1%	7,2 – 21,5%	Moderada
ENR	84	98,8%	20	23,8%	15,7 – 33,7%	Alta
TMP	84	98,8%	14	16,7%	9,9 – 25,7%	Moderada
ERM	84	98,8%	21	25%	16,7-35%	Alta
MET	82	96,5%	25	30,5%	21,3 – 41%	Alta
Multirresistência			n	%MDR	IC 95%	
			22	26,2%	17,7 – 36,3%	

Em *Klebsiella pneumoniae* foram testados 12 dos 14 antibióticos selecionados (tabela 8). Para 9 dos 12 antibióticos testados, os isolados de *Klebsiella pneumoniae* mostraram frequências de resistência a antibióticos de classificação “Alta”. As maiores frequências de resistência ocorreram face a ampicilina (98,5%), cefalosporinas de 1ª geração (46,2%), seguindo-se enrofloxacina (29,2%) e as de cefalosporinas 3ª geração (27,7 – 29,2%), amoxicilina e ácido clavulânico (27,7%), trimetoprim-sulfametoxazol e por fim a gentamicina (12,3%). O antibiótico com frequência de resistência mais baixa foi o imipenem (3,1%). Considerando todos os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, 29,7% manifestaram resistência a três ou mais classes de antibióticos testados, sendo por isso classificados como MDR.

Tabela 8 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de *Klebsiella pneumoniae*

<i>Klebsiella pneumoniae</i>						
Antibiótico	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA/ECDC de risco para resistência
AMC	65	100%	18	27,7%	18 – 39,4%	Alta
AMP	65	100%	64	98,5%	93 – 99,8%	Extremamente Alta
CFL	65	100%	30	46,2%	34,4 – 58,2%	Alta
CFT	65	100%	30	46,2%	34,4 – 58,2%	Alta
CFV	65	100%	19	29,2%	19,3 – 41%	Alta
CFF	65	100%	18	27,7%	18 – 39,4%	Alta
CFP	65	100%	19	29,2%	19,3 – 41%	Alta
IMI	65	100%	2	3,1%	0,6 - 9,5%	Baixa
GEN	65	100%	8	12,3%	6 – 21,9%	Moderada
ENR	65	100%	19	29,2%	19,3 – 41%	Alta
TCN	65	100%	17	26,2%	16,7 – 37,7%	Alta
TMP	64	99%	15	23,4%	14,4 – 34,8%	Alta
Multirresistência			n	%MDR	IC 95%	
			22	33,8%	23,2 – 45,9%	

Já em *Staphylococcus aureus* (tabela 9), foram testados 8 dos 14 antibióticos selecionados. As maiores frequências de resistência a antibióticos encontraram-se face a ceftiofur (100%), ampicilina (57,6%), metilicina (48,8%), eritromicina (46,5%) e cefovecina (37,2%). Por outro lado, as menores frequências de resistência foram encontradas para os antibióticos gentamicina e trimetoprim-sulfametoxazol (9,3%), e enrofloxacin (7%), cujos níveis se enquadraram na classificação de resistência “Baixa”. De realçar que dos 43 isolados de *Staphylococcus aureus*, 20 (46,5%) correspondem a MRSA. Relativamente à presença de isolados multirresistentes, foram identificados 20

isolados de *Staphylococcus aureus* manifestaram resistência a um antibiótico em três ou mais classes de antibióticos testados.

Tabela 9 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de Staphylococcus aureus

<i>Staphylococcus aureus</i>						
<i>Antibiótico</i>	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA de risco para resistência
AMP	33	76,7%	22	57,6%	40,7 – 73,2%	Muito Alta
CFV	43	100%	20	37,2%	24 – 52,1%	Alta
CFF	16	37,2%	16	100%	-	Extremamente Alta
GEN	43	100%	4	9,3%	3,2 – 20,6%	Baixa
ENR	42	97,7%	3	7,1%	2,1 – 17,9%	Baixa
TMP	43	100%	4	9,3%	3,2 – 20,6%	Baixa
ERM	43	100%	20	46,5%	32,2 – 61,2%	Alta
MET	43	100%	21	48,8%	34,4 – 63,4%	Alta
<i>Multirresistência</i>			n	%MDR	IC 95%	
			20	46,5%	32,2 – 61,2%	

No que diz respeito a *Streptococcus agalactiae* (tabela 10) e *Pseudomonas aeruginosa* (tabela 16), ambas espécies bacterianas foram testadas com 5 dos 14 antibióticos selecionados, contudo, dado o baixo número de isolados testados com antibióticos (frequentemente em número inferior a 10), apenas são apresentados resultados parciais. Eritromicina foi testada em 12 dos 13 isolados de *Streptococcus agalactiae*, apresentando uma frequência de resistência de 33,3%.

Tabela 10 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de *Streptococcus agalactiae*

<i>Streptococcus agalactiae</i>						
<i>Antibiótico</i>	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA de risco para resistência
<i>ERM</i>	12	99%	4	33,3%	12,5 – 61,2%	Alta
<i>AMP</i>	8	-	0	-	-	-
<i>CFV</i>	7	-	1	-	-	-
<i>ENR</i>	7	-	2	-	-	-
<i>TCN</i>	6	-	2	-	-	-
<i>TMP</i>	6	-	0	-	-	-
Multirresistência			n	%MDR	IC 95%	
			0	-	-	

Já em *Pseudomonas aeruginosa* (tabela 11), a maior frequência de resistência foi encontrada face a cefovecina (100%), seguido de ENR (16,7%). Dentro dos isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, não foram manifestadas resistências aos antibióticos ampicilina, gentamicina ou imipenem, nem foram observados isolados com características de multirresistência face aos antibióticos em estudo.

Relativamente à frequência de ocorrência de resistência aos diferentes antibióticos selecionados (tabela 12), cerca de 60,4% dos isolados de *E. coli* mostraram-se totalmente suscetíveis aos antibióticos, ao passo que todos os isolados de *Proteus mirabilis* se mostraram resistentes a pelo menos um dos antibióticos em estudo. Quanto à ocorrência de isolados MDR, a espécie bacteriana com maior número de isolados MDR foi *E. coli* (n=95), contudo a maior frequência de isolados MDR surgiu em *Staphylococcus aureus*, seguindo-se *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *E. coli*, e por fim *Enterococcus* sp. Não foram detetados isolados MDR de *Streptococcus agalactiae* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabela 11 - Frequência de ocorrência de resistência aos antibióticos em isolados de *Pseudomonas aeruginosa*

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>						
Antibiótico	n testadas	% testagem	n resistentes	% resistência	IC 95% (%)	Classificação EFSA de risco para resistência
<i>CFV</i>	12	100%	12	100%	-	Extremamente Alta
<i>CFF</i>	12	100%	12	100%	-	Extremamente Alta
<i>IMI</i>	12	100%	0	-	-	-
<i>GEN</i>	12	100%	0	-	-	-
<i>ENR</i>	12	100%	2	16,7%	3,6 – 43,6%	Moderada
Multirresistência			n	%MDR	IC 95%	
			0	-	-	

Tabela 12 - Frequência de ocorrência isolados MDR

	Totalmente Suscetíveis			MDR		
	n	%	IC 95%	n	%	IC95%
<i>Escherichia coli</i>	291	60,4%	56-64%	95	19,7%	16,3-23,4%
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0%	-	45	37,5%	29,2-46,4%
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	33	39,3%	29,3-59,9%	22	26,2%	17,7-36,4%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1,5%	0,2-7%	22	33,8%	23,2-45,9%
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	41,9%	28-56,7%	20	46,5%	32,2-61,2%
<i>Enterococcus sp.</i>	16	15,4%	9,4-23,2%	10	9,6%	5,1-16,4%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	8	61,5%	35-83,5%	0	0%	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0%	-	0	0%	-

8 - Discussão

A preocupação com a crescente resistência bacteriana a antimicrobianos é transversal às áreas da saúde humana e animal, e perante o risco de falhas terapêuticas e consequente aumento de morbidade e mortalidade em ambos sectores, urge compreender e combater a RAM de forma sustentável ao abrigo do conceito de “uma saúde” (4,35,70). Face à inexistência de programas de monitorização da RAM em animais de companhia a nível nacional, o estudo em causa pretendeu estimar as frequências de resistência a antibióticos em bactérias isoladas de cães e gatos com ITU na AML.

As ITU são uma das principais condições médicas que justificam a apresentação de animais de companhia a CAMVs, com frequente prescrição de terapêutica antibiótica (21,67). Geralmente as ITU ocorrem por diminuição ou oposição aos mecanismos de defesa dos hospedeiros, estando descritos na literatura vários fatores de risco e predisponentes em animais de companhia, como alterações anatómicas das vias urinárias, retenção urinária, doença renal crónica, diabetes mellitus ou urolitíase, entre outras (78,79).

Os agentes etiológicos mais comuns nas ITUs são bactérias, contudo, em menor proporção, fungos e vírus podem também ser responsáveis por ITUs em animais de companhia (55,78,80).

Na sua maioria as ITU são simples, causadas por um único agente patogénico e esporádicas (78,81). No entanto, podem ocorrer infeções por mais do que um agente patogénico, recidivas ou mesmo evoluir para uma condição recorrente e de carácter crónica, requerendo múltiplas terapêuticas (79,81).

Segundo a literatura, é descrito que em animais de companhia as ITU ocorrem com maior frequência em cães, sendo menos comuns em gatos (74,79). Os resultados do estudo vão ao encontro do descrito na literatura, com a maior fração de uroculturas positivas a ser representada pela espécie canina (n=587 vs 394 de felinos). Apesar de no estudo não ter sido contemplada a idade ou o sexo dos animais de companhia, é descrito que as ITU ocorrem com maior frequência em fêmeas e em animais de maior idade (78,79)

A descrição da etiologia de agentes bacterianos em ITUs de cães e gatos pode variar significativamente consoante as características do estudo em termos de dimensão amostral, localização geográfica ou de critérios de inclusão (55,75). No entanto, à semelhança do que ocorre em saúde humana, nas ITUs de animais de companhia as bactérias Gram-negativas tendem a ocorrer em maior frequência do que as bactérias

Gram-positivas, sendo *E. coli* o agente bacteriano predominante (21,55,73,78,79,82). O mesmo foi encontrado no estudo atual, onde dos 25 microrganismos identificados a maioria corresponde a bactérias Gram-negativas, sendo *E. coli* o agente bacteriano predominante em ambas espécies animais. As restantes bactérias isoladas são coincidentes com as reportadas na literatura e pertencem na sua maioria ao grupo *Enterobacteriaceae* (21,55,67,73,79,83), e tal como descrito na literatura, a sua frequência é algo variável. No estudo de Monteiro e Pereira (73), *E. coli* e *Klebsiella spp* foram os principais agentes isolados de animais de companhia na região de Lisboa; contudo, no presente estudo, tal como no estudo de Marques *et al* (67), referente à avaliação da evolução de resistência das bactérias a antibióticos em animais de companhia na região de Lisboa durante os anos 1999-2014, *E. coli* e *Proteus spp* foram os isolados mais frequentes de uroculturas de animais de companhia na AML. No entanto, no estudo desta dissertação, *Enterococcus spp.* e *S. pseudintermedius* surgem com ordens contrárias ao estudo anteriormente referido.

Relativamente às diferenças observadas nas frequências das espécies bacterianas por espécie animal, após *E. coli*, *Proteus spp.* costuma ser mais frequentemente isolado em cães (67), sendo consistente com os resultados apresentados. Nos gatos, observou-se que o 2º agente mais frequente após *E. coli* foi *Enterococcus spp.* e *S. aureus*, ambas espécies Gram-positivas mais frequentes em ITUs (55,83).

Segundo a literatura, em cães com ITUs complicadas ou recorrentes, poderá haver maior frequência de bactérias como *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus spp.* ou *Pseudomonas spp.* (75).

A interpretação das frequências de resistência pelos isolados bacterianos e comparação com outros estudos é desejável, contudo frequentemente complicada pela grande variabilidade dos desenhos de estudo, critérios de inclusão, antibióticos utilizados, *etc.* (21,27). Este é um dos argumentos de Mader *et al* (27), no sentido de definir critérios de inclusão que permitam uma harmonização de dados para a utilização da rede EARS-Vet.

Tal como em saúde humana o principal agente etiológico de ITUs em animais de companhia é *E. coli*, contudo tanto em medicina veterinária como em saúde humana existe alguma sobreposição das mesmas espécies bacterianas (21,55,67,84). Por exemplo, no estudo de Marinho (85), as ITUs em saúde humana, diagnosticadas em comunidade na região de Lisboa indicaram maior prevalência de *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*.

Atendendo que o interesse do estudo incide sobre a resistência a antibióticos, independentemente do agente microbiano implicado, a discussão apresentará a descrição das resistências por classes de antibióticos testados, nos diferentes isolados microbianos em estudo e testados para os antibióticos em causa.

Resistência a Antibióticos β -lactâmicos

Penicilinas

Relativamente às resistências aos antibióticos demonstradas pelos isolados bacterianos no estudo em discussão, e considerando que os antibióticos β -lactâmicos são dos principais antibióticos utilizados em animais de companhia (21,59), são descritas frequências de resistência preocupantes a antibióticos como a ampicilina, onde a resistência apenas foi descrita como “Baixa” em *Enterococcus sp.*, e classificada como “Extremamente Alta” em *Klebsiella pneumoniae* (98,5%) e *Staphylococcus pseudintermedius* (66,7%), “Muito Alta” em *Staphylococcus aureus* (57,6%), “Alta” em *Proteus spp.* (38,3%) e *E. coli* (32,6%).

Enquanto resultados como os de *Klebsiella spp.*, que é naturalmente resistente a penicilinas e facilmente adquire resistência a outros β -lactâmicos (86), e de *Proteus spp.* cujas estirpes podem ser altamente resistentes a β -lactâmicos (87) são esperadas, as restantes resistências encontradas em *E. coli* ou *Staphylococcus spp.* podem ser relacionadas com mecanismos de pressão seletiva e processos de resistência adquirida pelo uso de antimicrobianos (88–90). As frequências de resistência à ampicilina em *Enterococcus sp.* são um achado positivo, no sentido em que a resistência à ampicilina pode ser vista como um predecessor do aumento de taxas de *Enterococcus* resistentes à vancomicina ((55,91)). Infelizmente, no estudo atual os isolados de *Enterococcus sp.* não foram testados com vancomina como ocorre em saúde humana. A frequência de resistência de *E. coli* para ampicilina no presente estudo (32,6%) é consistente com o descrito por Franco (92), que relatou elevada frequência de resistência a ampicilina em isolados *E. coli* de animais de companhia da região de Lisboa, testados entre 1999-2014. Neste mesmo estudo, Franco descreve como outras resistências relevantes a resistência dos isolados de *E. coli* a amoxicilina & ácido clavulânico e a cefalosporinas de 3ª geração (entre as quais cefovecina). Relativamente a amoxicilina & ácido clavulânico, tanto os isolados de *E. coli* como de *Proteus spp.* apresentaram baixos níveis de resistência, inclusive inferiores aos reportados por Franco. Neste sentido, o fato dos isolados de *E. coli* no presente estudo apresentarem baixos níveis de resistência a amoxicilina e ácido clavulânico, e tal como relatado pelo estudo de Salas

(93), poderá sugerir que este antibiótico permanece uma boa escolha para uma terapêutica de primeira linha, para ITUs em animais de companhia na região da AML.

Cefalosporinas

Quanto às cefalosporinas de 1ª geração (cefalexina e cefalotina), com excepção de *K. pneumoniae* cuja frequência de resistência é classificada como “Alta”, *E. coli* e *Proteus spp.* demonstraram níveis moderados de resistência. Já perante cefalosporinas de 3ª geração (ceftiofur, cefpodoxima ou cefovecina), as frequências de resistências foram mais heterogêneas. Em isolados de *E. coli* e *Proteus spp.*, em contraste ao descrito por Marques *et al* (21) as frequências de resistência face a todas as cefalosporinas de 3ª geração testadas foram moderadas. No seu estudo, Franco (92) descreve um aumento de resistência a cefovecina em isolados de *E. coli*, contudo não foram avaliadas as resistências a cefalosporinas de 1ª geração. O mesmo ocorre nos estudos de Salas (93). Uma vez que as cefalosporinas de 1ª e 2ª geração foram a classe de antibióticos mais vendidas em medicina veterinária de animais de companhia em Portugal no ano de 2020 (59), fará sentido contemplar a monitorização de resistência a estes antibióticos. Assim, considerando que cefalosporinas de 1ª geração são anteriores à introdução de cefalosporinas como a cefovecina (3ª geração), pode sugerir-se que as maiores frequências de resistência estejam relacionadas com o volume do seu uso em clínica veterinária. Também é possível que as suas frequências de resistência sejam superiores pelo facto de serem classificadas com prioridade inferior às cefalosporinas de 3ª geração, e por isso utilizadas como antibióticos de primeira ou segunda-linha antes da prescrição de uma cefalosporina de 3ª geração (94). Adicionalmente, o conjunto de *Staphylococcus aureus* e *pseudintermedius*, juntamente com *K. pneumoniae* manifestaram níveis altos de resistência às cefalosporinas de 3ª geração. Além disso, em *Enterococcus spp.* a frequência de resistência foi classificada como “Extremamente Alta” e os isolados de *Pseudomonas spp.* demonstraram resistência total à cefovecina. Estes achados são compatíveis com o descrito na literatura, face à sua capacidade intrínseca e facilidade de adquirirem resistência a antibióticos como os β -lactâmicos (55,86,95–99).

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria gram-negativa, considerada como um agente patogénico oportunista, frequentemente associada a infeções nosocomiais e com crescente relevância clínica, sendo responsável por diversas infeções agudas e crónicas em humanos e animais de companhia, entre as quais ITUs, otites e pioderma (96,99–101). Estas infeções por *Pseudomonas aeruginosa* podem ser desafiantes, uma

vez que estas bactérias apresentam frequentemente altos níveis de resistência a uma variedade de antibióticos, entre os quais aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e β -lactâmicos. Nestas resistências participam diferentes mecanismos de resistência intrínseca (nomeadamente pela baixa permeabilidade da membrana externa, recurso a bombas de efluxo e produção de enzimas inibidoras de antibióticos, como ESBL) e adquirida (por mutações ou por transferência horizontal de genes) (96,99,101).

No seu estudo, Franco (92) descreve um aumento da resistência a cefovecina a partir do ano de 2007. Com efeito, a cefovecina foi introduzida no mercado veterinário em 2006 (102), e as suas propriedades farmacológicas tornam a sua utilização em medicina veterinária bastante apelativa em animais cujo temperamento ou facilidade de administração de antibióticos condicione a *compliance* à terapêutica (103). Sendo considerado um antibiótico pertencente a uma classe CIA para a saúde-humana, a sua utilização deve ser restrita e controlada (46,48). Curiosamente, o consumo de cefalosporinas de 3ª geração em animais de companhia não é, de momento, vigiado pela EMA, uma vez que apenas se encontram disponíveis formulações injetáveis e o sistema em curso apenas contempla a monitorização de vendas de formulações orais (59). Além disso, a venda de antimicrobianos humanos para uso em medicina veterinária continua a ser um desafio, que sem as normas instauradas no regulamento 2019/6 de 11 de dezembro de 2018, continuaria a prever-se um *gap* de informação potencialmente útil.

Meticilina

Relativamente à resistência ao antibiótico metilina, os achados são igualmente preocupantes. Em *Staphylococcus aureus*, quase metade dos isolados (21/43) foi identificado como MRSA e em *S. pseudintermedius*, cerca de 30,5% dos isolados foram identificados como MRSP. A prevalência de MRSA e MRSP em animais de companhia e profissionais de veterinária tem vindo a ganhar relevo ao longo dos últimos anos, nomeadamente pela possibilidade de transmissão interespecies destes agentes bacterianos (55,65,104–108). Por norma, MRSA é mais frequente em humanos e frequentemente associado a infeções nosocomiais, contudo a colonização e infeção de animais de companhia é possível, e por isso deve considerar-se um potencial zoonótico (55,65,104,109,110). Por consequência, a possibilidade dos animais de companhia atuarem como reservatórios no ambiente doméstico pode favorecer a colonização e de outros animais e humanos, e colocar indivíduos mais suscetíveis (crianças e pessoas imunodeprimidas) em maior risco de infeção (55,65,105). Geralmente, a resistência à

metecilina provém do gene *mecA*, podendo a sua transmissão ocorrer de forma horizontal ou vertical, e indicar resistência alargada à classe de β -lactâmicos (104,109,111), pelo que este achado poderá ter relevância para a saúde pública, considerando que os animais de companhia terão um papel na disseminação destes agentes em ambientes de prática veterinária, domésticos e para o próprio ambiente (21,22,106,109,111).

No estudo de Marques *et al* (67), cerca de 9.2% dos isolados de *Staphylococcus spp* (n=11/119) de cães e gatos na região de Lisboa entre os anos 1999-2014 foram classificados como MRSA; uma proporção inferior em comparação com os resultados do atual estudo (n=21/43) dos isolados analisados num período de 2 anos (2019-2020).

Relativamente a MRSP, *S. pseudintermedius* é um agente comensal da pele, vias respiratórias superiores e boca de cães saudáveis, e em menor grau de gatos, contudo é também um dos principais responsáveis por pioderma canino (104,108,111). Embora incomum em humanos, *S. pseudintermedius* pode ser transmitido por contacto direto ou indireto e mantém uma longevidade considerável em superfícies. Tal como sugerido para *S. aureus*, é apontado que o relacionamento próximo entre humanos e animais pode promover a sua transmissão, nomeadamente no meio hospitalar, e assim animais, humanos e o ambiente podem desempenhar papéis importantes na transmissão e persistência de MRSP em ambientes veterinários (111). Semelhantemente a *S. aureus*, a resistência à metecilina é resultante do gene *mecA*, que garante resistência a diversos β -lactâmicos, incluindo as cefalosporinas. Adicionalmente, é descrito que MRSP tem um espectro de resistência superior a isolados de MRSA, e tem sido descrito o aumento de MRSP com co-resistência a outros antibióticos de classes importantes (Perkins *et al*, 2020). Frequentemente, MRSP são mais adaptáveis aos hospedeiros e persistentes nos animais (55), contudo MRSP não aparenta ser um risco direto à saúde humana (109). É, no entanto, descrito um risco indireto para a saúde humana no sentido em que os tratamentos de MRSP em animais portadores de MRSA podem conduzir a resistências adicionais a antibióticos, comprometendo o sucesso da terapêutica de infeções por MRSA em humanos (55,109).

Tanto MRSA como MRSP já foram descritos em ITUs de animais de companhia na Europa, (55), e no estudo de Marques *et al* (67), foram encontrados isolados MRSP em animais de companhia na região de Lisboa, contudo em menor número do que no estudo atual.

Carbapenemos

Considerando a classe dos carbapenemos, os níveis de resistência a imipenem nos isolados bacterianos testados foram nulos ou baixos, à exceção de *Proteus mirabilis* onde 28,3% dos isolados manifestaram resistência a imipenem. *Proteus mirabilis* é um dos agentes patogênicos mais frequente em ITUs em saúde humana (10,87) e em cães, e as suas características celulares garantem uma resistência intrínseca ao imipenem (112). Adicionalmente, a emergência de *Proteus mirabilis* multirresistentes produtores de β -lactamases e carbapenemases tem sido descrita e a sua ocorrência compromete a eficácia da terapêutica antibiótica. Os carbapenemos permanecem, em vários países, como antibióticos de último recurso em saúde humana para tratamento de infeções por isolados pertencentes ao grupo *Enterobacteriaceae* produtores de ESBL (113), e o seu uso em medicina veterinária é interdito (48) e “off-label”. Os resultados nesta dissertação são coincidentes com os baixos níveis de resistência descritos na literatura (55). Sendo o imipenem um antibiótico considerando criticamente importante para a saúde humana, é importante vigiar e garantir que os níveis de resistência nestas espécies bacterianas se mantêm baixos.

Fluoroquinolonas

Quanto à classe das fluoroquinolonas, os isolados bacterianos testados para enrofloxacin demonstraram níveis de resistência altos a moderados. A exceção foi *Staphylococcus aureus*, que demonstrou frequências de resistência de 7,1%, sendo por isso a resistência destes isolados classificada como “Baixa”. As maiores frequências de resistência, classificadas como resistência “Alta”, foram encontradas em *Klebsiella pneumoniae* (29,2%), *Proteus mirabilis* (24,2%) e *S. pseudintermedius* (23,8%). Já *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* e *Enterococcus spp.* manifestaram níveis moderados de resistência. Apesar de haver descrições na literatura de aumentos de resistência de *E. coli* a fluoroquinolonas, no presente estudo *E. coli* manifestou frequências de resistência inferiores ao descrito por Marques *et al* (21). Por outro lado, no estudo anteriormente citado os isolados de *Proteus spp.* de cães e gatos da região de Lisboa tinham sido sinalizados com elevada resistência a fluoroquinolonas. Dentro do grupo das *Enterobacteriaceae*, é comum ocorrer resistência a diversos antibióticos, sendo que *Klebsiella pneumoniae* é uma das principais bactérias com maiores resistências a fluoroquinolonas (114). A resistência de *Pseudomonas aeruginosa* a fluoroquinolonas é também possível pela aquisição de material exógeno (96). Segundo os dados da EMA (59), em 2020 as fluoroquinolonas foram uma das principais classes de antibióticos

vendidas em Portugal em medicina veterinária de animais de companhia. Sendo a enrofloxacinum um antibiótico criticamente importante para a saúde humana, é fundamental assegurar a sua utilização criteriosa de forma a salvaguardar a sua eficácia futura tanto em saúde humana como em saúde animal (46,48).

Aminoglicosídeos

No que concerne à classe de aminoglicosídeos, antibióticos considerados como criticamente importantes para a saúde humana (46), as frequências de resistência dos isolados testados para gentamicina foram compatíveis com níveis de resistência baixos a moderados. Todos os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* testados demonstraram suscetibilidade a gentamicina; *E. coli*, *Proteus mirabilis* e *S. aureus* apresentaram frequências de resistência baixas (3,6%, 5% e 9,3%, respetivamente), enquanto *Klebsiella pneumoniae* e *S. pseudintermedius* manifestaram frequências de resistência de nível moderado (12,3% e 13,1%, respetivamente). *Pseudomonas aeruginosa* tem uma grande capacidade de resistência intrínseca a antibióticos, nomeadamente a β -lactâmicos, contudo a resistência a aminoglicosídeos é igualmente possível pela aquisição de material exógeno e a mecanismos endógenos com recurso a bombas de efluxo (96). O facto destes isolados de *Pseudomonas aeruginosa* não manifestarem resistência a gentamicina é positivo, contudo a sua interpretação deve ser cautelosa uma vez que o número de isolados (n=12) não é extenso. Por outro lado, as frequências de resistência de *E. coli* e *Proteus mirabilis* para gentamicina no atual estudo, foram inferiores ao reportadas por Marques *et al* (2016). De forma similar ao que ocorre com cefovecina, de momento não existem em Portugal formulações em comprimidos para o antibiótico gentamicina, pelo que o seu consumo não é atualmente monitorizado pela EMA.

Sulfonamidas potenciadas

Relativamente a trimetoprim-sulfametoxazol, as frequências de resistência dos isolados bacterianos em estudo apresentaram são consistentes com níveis de resistência moderados a altos. *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* apresentaram as maiores frequências de resistência a este antibiótico (28,2% e 23,4%, respetivamente). Em comparação com o descrito por Marques *et al* (21), no seu estudo as frequências de resistência para trimetoprim-sulfametoxazol em isolados de *E. coli* e *Proteus mirabilis* de cães e gatos da região de Lisboa eram superiores às do presente estudo. Por outro lado, em *Staphylococcus aureus*, a frequência de resistência foi classificada como baixa

(9,3%). Não sendo considerado um antibiótico criticamente importante pela OMS (46), a sua utilização deve permanecer cautelosa, uma vez que é útil em diversas infeções complicadas envolvendo o trato genito-urinário (55) e é inclusive uma das opções terapêuticas sugeridas para tratamento de infeções por MRSA em saúde humana (115,116).

Tetraciclinas

No que diz respeito à tetraciclina, *Proteus mirabilis* é intrinsecamente resistente a este antibiótico (87,113). Relativamente aos isolados de *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli*, ambos apresentaram frequências de resistência compatíveis com níveis de resistência altos (26,2% e 22,8%, respetivamente). Embora a tetraciclina não seja utilizada na terapêutica de infeções por *E. coli* em humanos, a resistência a tetraciclina pode ser comum em isolados de *E. coli*, sugerindo o efeito da pressão de seleção sobre *E. coli* comensais durante o tratamento para outros agentes bacterianos em humanos ou animais (117). Considerando os dados do relatório de vendas e consumo de antibióticos veterinários em Portugal no ano 2020, as tetraciclinas foram uma das classes de antibióticos com maior representação no sector de animais de companhia (59). Atendendo que o consumo de antibióticos de determinada classe pode potenciar o desenvolvimento de resistências bacterianas aos antibióticos dessa classe (118), tal como sugerido por Marques *et al* (67), a frequência de doenças associadas a carraças em Portugal, cuja terapêutica é realizada com recurso a antibióticos como a doxiciclina (classe das tetraciclinas), poderá argumentar a favor dos níveis de resistência a tetraciclina encontrados também neste estudo.

Macrólidos

Quanto à classe de macrólidos, todas as espécies bacterianas testadas para eritromicina manifestaram frequências de resistência em níveis altos. *Staphylococcus aureus* apresentou a maior frequência de resistência (46,5%). A eritromicina não é um antibiótico comum para o tratamento de infeções por *Staphylococcus spp*, contudo a utilização de outros antibióticos da classe dos macrólidos como claritromicina ou azitromicina podem ser utilizados na terapêutica de infeções por *S. aureus* ou para tratamento de outros agentes patogénicos, e assim aumentar a pressão seletiva para resistência sobre esta classe de antibióticos em isolados de *S. aureus* (90,119). Com efeito, a venda de antibióticos da classe dos macrólidos foi a 3ª maior classe de antibióticos consumida em Portugal no sector da medicina veterinária de animais de

companhia no ano de 2021 (59), pelo que não se pode descartar a possibilidade da sua utilização potenciar o desenvolvimento de resistência nas diferentes espécies bacterianas encontradas no estudo. Adicionalmente, a eritromicina pode ser utilizada para prever a resistência a lincosamidas em estafilococos, pelo que esta classe deve ser evitada na eventualidade de haver resistência a eritromicina (55).

Multirresistência

No total foram identificados 214 isolados bacterianos MDR, e com exceção de *Streptococcus agalactiae* e *Pseudomonas aeruginosa*, foram detetados isolados MDR em todas as espécies bacterianas em estudo. O maior número de isolados MDR surge em *Staphylococcus aureus* (46.5%), em *Proteus mirabilis* (37.5%) em *Klebsiella pneumoniae* (33.8%). Anteriormente, foi descrita uma frequência elevada de isolados de *E. coli* e *Proteus* MDR em cães e gatos na região de Lisboa por Marques *et al* (2016; 2018). A emergência e disseminação de isolados MDR produtores de β -lactamases tem vindo a aumentar em animais de companhia, e tal deve ser encarado como uma preocupação de saúde pública (8,21,22,26,39,87,97), uma vez que a resistência a múltiplos antibióticos dificulta o sucesso terapêutico, perturba a microbiota comensal e facilita a colonização bacteriana de outros animais e eventualmente de pessoas que contactem com eles (22,55,120).

Adicionalmente, a disseminação de bactérias MDR pode potenciar o uso de antibióticos menos comuns ou frequentemente reservados para uso em medicina humana, contribuindo para o aumento de resistência a essas classes de antibióticos (21,55).

Não sendo possível realizar uma comparação robusta dos resultados desta dissertação com dados da frequência de resistência a antibióticos em saúde humana, ao avaliar os dados das resistências dos isolados bacterianos em Portugal no ano de 2020, é interessante encontrar semelhanças nos níveis de resistência a antibióticos de algumas espécies bacterianas, como níveis elevados de resistência a aminopenicilinas e baixos níveis de resistência a carbapenemos em *E. coli*, os elevados níveis de resistência a fluoroquinolonas e cefalosporinas de 3ª geração em *Klebsiella pneumoniae* ou mesmo a proporção de isolados MRSA (121).

Com a criação da rede EARS-Vet pretende-se colmatar uma falha na monitorização da RAM em medicina veterinária, e aproximar a saúde animal da saúde humana (27,29). Contudo, seria útil contemplar simultaneamente outros passos de forma a permitir uma compreensão mais alargada dos efeitos do consumo de antibióticos em medicina veterinária de animais de companhia. A não monitorização das vendas de antibióticos

considerados criticamente importantes para saúde humana em medicina de animais de companhia, como a cefovecina ou a gentamicina pela EMA, é também uma postura que deve ser contemplada. Atualmente a rede contempla apenas formulações orais, em comprimido (59), e ambas formulações dos antibióticos anteriormente mencionados encontram-se em injetável multidose. Além disso, tal como sucede em saúde humana, a título nacional e europeu, a testagem de isolados de *Enterococcus spp.* para vancomicina poderá ser útil na identificação de isolados VRE em medicina veterinária. Tal como descrito anteriormente, a resistência a ampicilina pode preceder o aparecimento de resistência à vancomicina, e sendo este um antibiótico criticamente importante para a saúde humana (46) a sua monitorização em animais de companhia deverá ser avaliada (91,122,123).

Por outro lado, o número de isolados MDR, MRSA e MRSP vão ao encontro do descrito na literatura, que referem um aumento da ocorrência de isolados multirresistentes em animais de companhia (21,22,39,55,97,124).

Neste aspeto, as interações próximas entre humanos e os animais de companhia permite as oportunidades para transferências de microrganismos, incluindo de agentes MDR (55,125). Do ponto de vista “*One Health*” há que considerar as implicações desta interação para os donos de animais de companhia e profissionais de medicina veterinária. Está descrito que o risco de animais de companhia serem colonizados com bactérias MDR aumenta com o contacto com ambientes veterinários, internamentos, cirurgias e pela realização de terapêuticas antibióticas prévias, e que profissionais de veterinária que trabalham em ambientes de clínica podem apresentar taxas de colonização de MRSA a rondar os 7-13% (55).

Uma das ferramentas cruciais no combate à RAM é a correta prescrição antibiótica (46,55,126–128). Contudo, existem evidências de que poucos veterinários seguem protocolos de prescrição antibiótica (55). No seu estudo, Alcantara *et al* (19) demonstra que 82% de médicos veterinários portugueses inquiridos no seu estudo (n=417) indicam não seguirem um protocolo de prescrição antibiótica interno no seu local de trabalho, e frequentemente recorrem a terapêutica empírica sem recurso a urocultura e TSA.

Desta forma, e considerando que não existe uma rede de vigilância de resistências a antibióticos em medicina veterinária de animais de companhia a nível nacional, os estudos de prevalência de resistências a antibióticos são importantes para o conhecimento das tendências de resistência e apoiar a decisão dos médicos veterinários numa prescrição adequada de antibióticos (21,27,55,93).

9 - Limitações do estudo

Devem ser referidas algumas limitações deste trabalho, nomeadamente as relacionadas com as particularidades de estudos retrospectivos. Neste estudo pretendeu-se estimar as frequências de resistência a antibióticos em cães e gatos da região da AML, contudo não foi possível diferenciar os animais por sexo, idade, presença de comorbidades ou conhecimento de terapêutica antibiótica prévia. Conforme descrito na literatura, as ITUs tendem a ser mais frequentes na presença de comorbidades, e a realização de terapêutica antibiótica prévia pode influenciar os perfis de resistência bacterianos (93,129). Adicionalmente, não foi explorado o método de colheita de urina para a realização de urocultura. Idealmente, as amostras urinárias devem ser colhidas de forma asséptica através de cistocentese de forma a evitar a sua contaminação (75). Por outro lado, os TSA das uroculturas não foram discriminados por espécie animal nem por ano, impossibilitando a sua avaliação separada e avaliação temporal da resistência aos antibióticos pelos isolados bacterianos. Neste aspeto, deve ser referida também a heterogeneidade da testagem dos diferentes antibióticos. As diferentes espécies bacterianas não foram todas testadas com os mesmos antibióticos, o que condiciona a interpretação de resultados. Neste estudo, a multirresistência a antibióticos foi definida como resistência a pelo menos um antibiótico de três ou mais classes distintas. Este critério pode condicionar a frequência de isolados MDR identificados, uma vez que os isolados bacterianos podem manifestar resistência a outro antibiótico que o não selecionado dentro de uma mesma classe.

Por fim, a comparação com outros estudos similares é frequentemente condicionada pela falta de harmonização dos diferentes critérios utilizados, desde o período temporal, dimensão amostral, à consideração de múltiplos locais de infeção ou pela variedade de agentes bacterianos ou de antibióticos estudados, entre outros (21,27,75).

10 - Conclusões

Face aos resultados do estudo, foram encontradas elevadas frequências de resistência aos antibióticos testados nos diversos isolados bacterianos presentes da amostra em estudo, incluindo a antibióticos considerados criticamente importantes em saúde humana, nomeadamente em *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus pseudointermedius*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Tal como indicado na literatura, os resultados do estudo apoiam a indicação de que na AML, *E. coli* é o agente bacteriano mais frequente em ITU em animais de companhia, e os baixos níveis de resistência à combinação antibiótica de amoxicilina & ácido clavulânico sugerem que permanece como uma boa escolha terapêutica para este agente. Nos isolados de *E. coli* e *Proteus mirabilis* em estudo, foram encontrados níveis de resistência mais baixos do que os descritos na literatura para os antibióticos enrofloxacin e gentamicina. Contudo, os níveis de resistência a antibióticos encontrados neste estudo mostram a necessidade de manter uma vigilância activa sobre as resistências aos antibióticos comumente utilizados em medicina veterinária de animais de companhia, nomeadamente aos antibióticos considerados criticamente importantes para a saúde humana. Por outro lado, foram demonstrados níveis de resistência elevados a antibióticos como ampicilina, tetraciclina, eritromicina e cefalosporinas de 3ª geração em várias espécies bacterianas.

A identificação de isolados bacterianos MRSA e MRSP acompanham a descrição de uma crescente tendência de organismos multirresistentes em animais de companhia e incentiva, por um lado, à necessidade de procurar medidas que promovam a redução do desenvolvimento de resistências antimicrobianas no sector veterinário, e por outro à melhor compreensão do papel que a interação entre humanos e animais pode ter na transferência de agentes bacterianos e de mecanismos de resistência entre ambos. A ponderação de registo e notificação de isolados MRSA ou MRSP em animais de companhia a entidades de saúde veterinária ou humana poderia ser uma ferramenta útil para o acompanhamento deste cenário.

Atendendo ao facto do conceito de “*One Health*” ser altamente abrangente, possibilita a colaboração entre as mais diversas entidades. A utilização de uma rede de vigilância europeia para a resistência aos antimicrobianos em medicina veterinária, como a EARS-Vet, será uma mais-valia para a comunidade veterinária, no sentido em que permitiria ter um conhecimento mais aprofundado e harmonizado do panorama europeu face ao desafio das resistências a antibióticos. Contudo são igualmente incentivadas iniciativas que promovam uma vigilância da resistência a antimicrobianos em medicina veterinária

a título nacional, perspetivando a inclusão de outros agentes bacterianos e de outros antibióticos, atualmente não contemplados na rede EARS-Vet.

Incentiva-se também o combate à RAM sob uma abordagem “*One Health*”, apelando à cooperação entre diferentes sectores com capacidade de trabalhar de forma integrada na consciencialização da RAM em profissionais de saúde humana e animal, estudantes das áreas da saúde e ambiente, e do público em geral.

11 - Referências bibliográficas

1. Adedeji WA. THE TREASURE CALLED ANTIBIOTICS. *Ann Ib Postgrad Med*. 2016 Dec;14(2):56–7.
2. Aminov RI. A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Front Microbio* [Internet]. 2010 [cited 2023 Oct 15];1. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2010.00134/abstract>
3. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015 Apr;40(4):277–83.
4. World Health Organization. Antibiotic resistance [Internet]. WHO; 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
5. World Organization for Animal Health. The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobial [Internet]. 2016. Available from: https://rr-africa.woah.org/wp-content/uploads/2019/09/en_oie-amrstrategy.pdf
6. European Food Safety Authority, European Centre For Disease Prevention And Control. European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and Food in 2018/2019 [Internet]. Zenodo; 2021 [cited 2023 Jul 10]. Available from: <https://zenodo.org/record/4557180>
7. Harbarth S, Balkhy HH, Goossens H, Jarlier V, Kluytmans J, Laxminarayan R, et al. Antimicrobial resistance: one world, one fight! *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015 Dec;4(1):49.
8. Hernando-Amado S, Coque TM, Baquero F, Martínez JL. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nat Microbiol*. 2019 Aug 22;4(9):1432–42.
9. Loureiro RJ, Roque F, Teixeira Rodrigues A, Herdeiro MT, Ramalheira E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*. 2016 Jan;34(1):77–84.
10. Vidal HES. Agentes etiológicos de infecções urinárias em ambulatório. (Dissertação de Mestrado) Universidade de Aveiro; 2015. Available from: <http://hdl.handle.net/10773/15777>
11. World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance [Internet]. 2015 [cited 2023 Jul 10]. Available from: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241509763>
12. Comissão Europeia. A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR) [Internet]. Comissão Europeia; 2017. Available from: https://health.ec.europa.eu/system/files/2020-01/amr_2017_action-plan_0.pdf
13. O'Neill J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. Wellcome Trust and HM Government. [Internet]. Wellcome Trust and HM Government.; 2016 p. 84. Available from: https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

14. Comissão Europeia. EU Action on Antimicrobial Resistance [Internet]. Comissão Europeia; 2022. Available from: https://health.ec.europa.eu/antimicrobial-resistance/eu-action-antimicrobial-resistance_en
15. Kroemer S, El Garch F, Galland D, Petit JL, Woehrle F, Boulouis HJ. Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from infections in cats and dogs throughout Europe (2002–2009). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2014 Mar;37(2):97–108.
16. Michael CA, Dominey-Howes D, Labbate M. The antimicrobial resistance crisis: causes, consequences, and management. *Front Public Health*. 2014;2:145.
17. Correia MCMA. Padrão de Prescrição de Antibióticos em Produção Animal, em Portugal e a Problemática das Resistências aos Antimicrobianos [Internet]. ICBAS- Universidade do Porto; 2017 [cited 2023 Jul 10]. Available from: https://sigarra.up.pt/icbas/pt/pub_geral.pub_view?pi_pub_base_id=201117
18. Amaro A, Correia I, Clemente L. Resistência aos antibióticos em bactérias com origem em animais da cadeia alimentar. *Vida Rural*. 2019;(Julho/Agosto):42–5.
19. Alcantara GLC, Pinello KC, Severo M, Niza-Ribeiro J. Antimicrobial resistance in companion animals – Veterinarians’ attitudes and prescription drivers in Portugal. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2021 Jun;76:101640.
20. Guardabassi L. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria: Review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004 Jul 1;54(2):321–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15254022/>.
21. Marques C, Gama LT, Belas A, Bergström K, Beurlet S, Briend-Marchal A, et al. European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Vet Res*. 2016 Dec;12(1):213.
22. Pomba C, Rantala M, Greko C, Baptiste KE, Catry B, Van Duijkeren E, et al. Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *J Antimicrob Chemother*. 2016 Dec 20;dkw481.
23. Meade E, Slattery MA, Garvey M. Antimicrobial resistance: An agent in zoonotic disease and increased morbidity. *Journal of Clinical and Experimental Toxicology* [Internet]. 2017 [cited 2023 Jul 10];1(1). Available from: <https://www.alliedacademies.org/abstract/antimicrobial-resistance-an-agent-in-zoonotic-disease-and-increased-morbidity-9144.html>
24. Kaspar U, Von Lützu A, Schlattmann A, Roesler U, Köck R, Becker K. Zoonotic multidrug-resistant microorganisms among small companion animals in Germany. Friedrich A, editor. *PLoS ONE*. 2018 Dec 7;13(12):e0208364.
25. Joosten P, Ceccarelli D, Odent E, Sarrazin S, Graveland H, Van Gompel L, et al. Antimicrobial Usage and Resistance in Companion Animals: A Cross-Sectional Study in Three European Countries. *Antibiotics*. 2020 Feb 16;9(2):87.
26. Belas A. Extended-spectrum-beta-lactamases, cephalosporinases and carbapenemase-producing *Escherichia coli* in the human-dog interface [PhD thesis]. FMV-Universidade de Lisboa; 2021. Available from: <http://hdl.handle.net/10400.5/21237>

27. Mader R, Damborg P, Amat JP, Bengtsson B, Bourély C, Broens EM, et al. Building the European Antimicrobial Resistance Surveillance network in veterinary medicine (EARS-Vet). *Eurosurveillance* [Internet]. 2021 Jan 28 [cited 2023 Jul 10];26(4). Available from: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.4.2001359>
28. Ponte MHST da. Surveillance of antimicrobial consumption in animals [Internet] [PhD thesis]. 2017 [cited 2023 Jul 10]. Available from: <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/28892>
29. Mader R, EU-JAMRAI, Demay C, Jouvin-Marche E, Ploy MC, Barraud O, et al. Defining the scope of the European Antimicrobial Resistance Surveillance network in Veterinary medicine (EARS-Vet): a bottom-up and One Health approach. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2022 Feb 23;77(3):816–26.
30. Jorwal P, Bharadwaj S, Jorwal P. One health approach and COVID-19: A perspective. *J Family Med Prim Care*. 2020 Dec;9(12):5888–91.
31. Monnet DL, Harbarth S. Will coronavirus disease (COVID-19) have an impact on antimicrobial resistance? *Euro Surveill*. 2020 Nov;25(45):2001886.
32. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Organisation for Animal Health, World Health Organization. The Tripartite's Commitment Providing multi-sectoral, collaborative leadership in addressing health challenges [Internet]. 2017. Available from: <https://www.woah.org/app/uploads/2018/05/tripartite-2017.pdf>
33. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. Aarestrup FM, Schwarz S, Shen J, Cavaco L, editors. *Microbiol Spectr*. 2018 Apr 6;6(2):6.2.10.
34. European Centre for Disease Prevention and Control. Factsheet for experts - Antimicrobial resistance [Internet]. ECDC; 2008. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance/facts/factsheets/experts>
35. World Health Organization. Antibiotic resistance [Internet]. 2020 [cited 2023 Jul 10]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
36. Sriram A, Kalanxhi E, Kapoor G, Craig J, Balasubramanian R, Brar S, et al. State of the world's antibiotics 2021: A global analysis of antimicrobial resistance and its drivers. [Internet]. Center for Disease Dynamics, Economics & Policy; 2021. Available from: <https://onehealthtrust.org/wp-content/uploads/2021/02/The-State-of-the-Worlds-Antibiotics-in-2021.pdf>
37. Browne AJ, Chipeta MG, Haines-Woodhouse G, Kumaran EPA, Hamadani BHK, Zaraa S, et al. Global antibiotic consumption and usage in humans, 2000–18: a spatial modelling study. *The Lancet Planetary Health*. 2021 Dec;5(12):e893–904.
38. Périchon B, Courvalin P, Stratton CW. Antibiotic Resistance☆. In: Reference Module in Biomedical Sciences [Internet]. Elsevier; 2015 [cited 2023 Oct 15]. p. B9780128012383023850. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128012383023850>

39. Dowling A, O'Dwyer J, Adley C. Antibiotics: Mode of action and mechanisms of resistance. In: Antimicrobial research: Novel bioknowledge and education programs. A. Méndez-Vilas, Ed. 2017. p. 536–45.
40. C Reygaert W. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*. 2018;4(3):482–501.
41. Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*. 2013 Aug;303(6–7):287–92.
42. Regea G. Review on Antibiotics Resistance and its Economic Impacts. *J of Pharmacol & Clin Res* [Internet]. 2018;5(5). Available from: <https://juniperpublishers.com/jpcr/pdf/JPCR.MS.ID.555675.pdf>
43. Chokshi A, Sifri Z, Cennimo D, Horng H. Global Contributors to Antibiotic Resistance. *J Glob Infect Dis*. 2019;11(1):36–42.
44. Sousa P. Sistemas de Vigilância das Resistências aos Antibióticos [Internet] [Dissertação de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas]. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve; 2015. Available from: <https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/8418/1/TESE%20FINAL%2016.11.pdf>
45. Direção Geral da Saúde, Programa de Prevenção e Controlo das Infecções e Resistência aos Antimicrobianos, Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Agência Portuguesa do Ambiente. PLANO NACIONAL DE COMBATE À RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS 2019-2023 ÂMBITO DO CONCEITO “UMA SÓ SAÚDE” [Internet]. Direção Geral da Saúde (DGS); 2019. Available from: <https://www.sip-spp.pt/media/2lhh2pox/antimicrobianos-programa-de-prevencao-e-controlo-de-infecoes-e-de-resistencias-2019-2023-dgs.pdf>
46. World Health Organization. Critically important antimicrobials for human medicine, 6th revision. [Internet]. World Health Organization; 2019. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-eng.pdf?sequence=1>
47. World Organisation for Animal Health. OIE LIST OF ANTIMICROBIAL AGENTS OF VETERINARY IMPORTANCE [Internet]. World Organisation for Animal Health; 2021. Available from: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/06/a-oie-list-antimicrobials-june2021.pdf>
48. European Medicines Agency. Categorisation of antibiotics in the European Union [Internet]. 2019. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific_en.pdf
49. Machowska A, Stålsby Lundborg C. Drivers of Irrational Use of Antibiotics in Europe. *IJERPH*. 2018 Dec 23;16(1):27.
50. European Centre for Disease Prevention and Control., World Health Organization. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022: 2020 data. [Internet]. LU: Publications Office; 2022 [cited 2023 Jul 10]. Available from: <https://data.europa.eu/doi/10.2900/112339>

51. Mann A, Nehra K, Rana JS, Dahiya T. Antibiotic resistance in agriculture: Perspectives on upcoming strategies to overcome upsurge in resistance. *Current Research in Microbial Sciences*. 2021 Dec;2:100030.
52. Fair RJ, Tor Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspect Medicin Chem*. 2014;6:25–64.
53. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA), European Medicines Agency (EMA). ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals. EFS2 [Internet]. 2017 Jul [cited 2023 Oct 17];15(7). Available from: <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2017.4872>
54. Van Boeckel TP, Glennon EE, Chen D, Gilbert M, Robinson TP, Grenfell BT, et al. Reducing antimicrobial use in food animals. *Science*. 2017 Sep 29;357(6358):1350–2.
55. Brissot H, Cervantes S, Guardabassi L, Hibbert A, Lefebvre H, Mateus A, et al. Guidance for the rational use of antimicrobials Recommendations for dogs and cats. 2nd Edition. Ceva Santé Animale; 2016.
56. Palma E, Tilocca B, Roncada P. Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: An Overview. *IJMS*. 2020 Mar 11;21(6):1914.
57. Collignon P, Voss A. China, what antibiotics and what volumes are used in food production animals? *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015 Dec;4(1):16.
58. European Pet Food Industry Federation. European Facts and Figures 2021 [Internet]. 2022. Available from: <https://www.dropbox.com/s/h3vapzfju5j8vei/Facts%20and%20Figures%202021.pdf?dl=0>
59. European Medicines Agency. Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2021 :trends from 2010 to 2021 : twelfth ESVAC report. [Internet]. LU: Publications Office; 2022 [cited 2023 Oct 18]. Available from: <https://data.europa.eu/doi/10.2809/291108>
60. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Plano de Atividades da DGAV para 2017 [Internet]. DGAV; 2017. Available from: https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/03/Plano_atividades_2017.pdf
61. Parlamento Europeu. REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) 2022/1255 DA COMISSÃO de 19 de julho de 2022 que designa antimicrobianos ou grupos de antimicrobianos reservados ao tratamento de determinadas infeções nos seres humanos, em conformidade com o Regulamento (UE) 2019/6 do Parlamento Europeu e do Conselho [Internet]. 2022. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022R1255&from=EN>
62. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial consumption in the EU/EEA (ESAC-Net) Annual Epidemiological Report for 2021 [Internet]. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2022. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/ESAC-Net_AER_2021_final-rev.pdf

63. Direção Geral da Saúde. Norma 004/2013; Vigilância Epidemiológica das Resistências aos Antimicrobianos [Internet]. Direção Geral da Saúde; 2013. Available from: <https://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i018609.pdf>
64. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. EFS2 [Internet]. 2022 Dec [cited 2023 Oct 19];20(12). Available from: <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2022.7666>
65. Loeffler A, Lloyd DH. Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community? Epidemiol Infect. 2010 May;138(5):595–605.
66. Grönthal T, Österblad M, Eklund M, Jalava J, Nykäsenoja S, Pekkanen K, et al. Sharing more than friendship – transmission of NDM-5 ST167 and CTX-M-9 ST69 *Escherichia coli* between dogs and humans in a family, Finland, 2015. Eurosurveillance [Internet]. 2018 Jul 5 [cited 2023 Oct 19];23(27). Available from: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.27.1700497>
67. Marques C, Belas A, Franco A, Aboim C, Gama LT, Pomba C. Increase in antimicrobial resistance and emergence of major international high-risk clonal lineages in dogs and cats with urinary tract infection: 16 year retrospective study. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2018 Feb 1;73(2):377–84.
68. Choffnes ER, Relman DA, Mack A, Institute of Medicine (U.S.), Institute of Medicine (U.S.), National Academies Press (U.S.), editors. Antibiotic resistance: implications for global health and novel intervention strategies: workshop summary. Washington, D.C: National Academies Press; 2010. 474 p.
69. Brown HL, Passey JL, Getino M, Pursley I, Basu P, Horton DL, et al. The One Health European Joint Programme (OHEJP), 2018–2022: an exemplary One Health initiative. Journal of Medical Microbiology. 2020 Aug 1;69(8):1037–9.
70. World Organization for Animal Health. One Health. 2022. One Health. Available from: <https://www.woah.org/en/what-we-do/global-initiatives/one-health/>
71. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Organisation for Animal Health. Antimicrobial Resistance and the United Nations Sustainable Development Cooperation Framework Guidance for United Nations Country Teams. Geneva: World Health Organization; 2021.
72. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. PLANO DE AÇÃO NACIONAL PARA A REDUÇÃO DO USO DE ANTIBIÓTICOS NOS ANIMAIS [Internet]. Direção Geral de Alimentação e Veterinária; 2013. Available from: <https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/03/PANRUA-PLANO-DE-ACCAO-2014.pdf>
73. Monteiro M, Pereira H. Caracterização Das Infecções Do Trato Urinário De Origem Microbiana-Casuística De Um Hospital Veterinário Em Lisboa. 1 [Internet]. 2013 Sep 10 [cited 2023 Jul 10];6. Available from: <https://revistas.ulusofona.pt/index.php/rlcmv/article/view/3742>
74. Nelson RW, Couto CG. Small Animal Internal Medicine - E-Book. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019.

75. Marques C, Belas A, Pomba C. Antimicrobial Resistance Trends in Dogs and Cats with Urinary Tract Infection. In: Freitas Duarte A, Lopes Da Costa L, editors. *Advances in Animal Health, Medicine and Production* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2023 Jul 10]. p. 246–64. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-61981-7_13
76. Omair A. Selecting the appropriate study design for your research: Descriptive study designs. *J Health Spec*. 2015;3(3):153.
77. Abbott KV, Barton FB, Terhorst L, Shembel A. Retrospective Studies: A Fresh Look. *Am J Speech Lang Pathol*. 2016 May;25(2):157–63.
78. Byron JK. Urinary Tract Infection. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2019 Mar;49(2):211–21.
79. Dorsch R, Teichmann-Knorrn S, Sjetne Lund H. Urinary tract infection and subclinical bacteriuria in cats: A clinical update. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2019 Nov;21(11):1023–38.
80. Bartges JW. Diagnosis of urinary tract infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2004 Jul;34(4):923–33.
81. Weese JS, Blondeau J, Boothe D, Guardabassi LG, Gumley N, Papich M, et al. International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *The Veterinary Journal*. 2019 May;247:8–25.
82. Carvalho I, Alonso CA, Pimenta P, Cunha R, Martins C, Silva V, et al. Resistência a antibióticos em *Klebsiella pneumoniae* isolada de animais de companhia em Portugal. In 2018.
83. Smee N, Loyd K, Grauer G. UTIs in Small Animal Patients: Part 1: Etiology and Pathogenesis. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 2013 Jan 1;49(1):1–7.
84. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*. 2015 May;13(5):269–84.
85. Machado G, Marinho A, Afonso J, et al. Infecções do trato urinário nos cuidados de saúde primários: estado da arte. *RPMGF*. 2022 Apr 29;38(2):137–45.
86. Bouza E. *Klebsiella* and *Enterobacter*: Antibiotic resistance and treatment implications. *Seminars in Respiratory Infections*. 2002 Sep;17(3):215–30.
87. Shelenkov A, Petrova L, Fomina V, Zamyatin M, Mikhaylova Y, Akimkin V. Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Strain with Cointegrate Plasmid. *Microorganisms*. 2020 Nov;8(11):1775.
88. Paterson DL. Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *The American Journal of Medicine*. 2006 Jun;119(6):S20–8.
89. Hollenbeck BL, Rice LB. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence*. 2012 Aug 15;3(5):421–569.

90. Foster TJ. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews*. 2017 May 1;41(3):430–49.
91. Delgado M, Neto I, Correia JHD, Pomba C. Antimicrobial resistance and evaluation of susceptibility testing among pathogenic enterococci isolated from dogs and cats. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2007 Jul;30(1):98–100.
92. Franco A da S. Infecção do trato urinário por *Escherichia coli* em cães e gatos: mecanismos moleculares de resistência aos antibióticos β -lactâmicos. [Internet] [Masters Dissertation]. FMV-Universidade de Lisboa; 2017. Available from: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/13676>
93. Salas CSS. Caracterização da Infecção do Trato Urinário em Cães e Gatos e utilização de 'Formula For Rational Antimicrobial Therapy' Na Avaliação da Antibioterapia Empírica em Portugal. [Internet] [Masters Dissertation]. FMV-Universidade de Lisboa; 2021. Available from: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/21235>
94. Goggs R, Menard JM, Altier C, Cummings KJ, Jacob ME, Lalonde-Paul DF, et al. Patterns of antimicrobial drug use in veterinary primary care and specialty practice: A 6-year multi-institution study. *J Vet Intern Med*. 2021 May;35(3):1496–508.
95. Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J R Soc Med*. 2002;95(Suppl 41):22–6.
96. Poole K. *Pseudomonas Aeruginosa*: Resistance to the Max. *Front Microbio* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jul 10];2. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2011.00065/abstract>
97. Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2014 Oct;12(10):1221–36.
98. Kaur D, Chate S. Study of antibiotic resistance pattern in methicillin resistant *staphylococcus aureus* with special reference to newer antibiotic. *J Global Infect Dis*. 2015;7(2):78.
99. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*. 2019 Jan;37(1):177–92.
100. Bernal-Rosas Y, Osorio-Muñoz K, Torres-Garcia O. *Pseudomonas aeruginosa*: an emerging nosocomial trouble in veterinary. *Revista MVZ Córdoba*. 2015;20(1):4937–46.
101. Eliasi UL, Sebola D, Oguttu JW, Qekwana DN. Antimicrobial resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine clinical cases at a veterinary academic hospital in South Africa. *J S Afr Vet Assoc* [Internet]. 2020 Sep 22 [cited 2023 Jul 17];91. Available from: <https://journals.jsava.aosis.co.za/index.php/jsava/article/view/2052>
102. European Medicines Agency. Convenia: European Public Assessment Report Summary for the public. [Internet]. 2013. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/convenia-epar-summary-public_en.pdf

103. Viviano KR. Practical Antimicrobial Therapy. In: August's Consultations in Feline Internal Medicine, Volume 7 [Internet]. Elsevier; 2016 [cited 2023 Jul 10]. p. 57–63. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323226523000049>
104. Duquette RA, Nuttall TJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? Journal of Small Animal Practice. 2004 Dec;45(12):591–7.
105. Lloyd DH. Reservoirs of Antimicrobial Resistance in Pet Animals. Clinical Infectious Diseases. 2007 Sep 1;45(Supplement_2):S148–52.
106. Weese JS, Blondeau JM, Boothe D, Breitschwerdt EB, Guardabassi L, Hillier A, et al. Antimicrobial Use Guidelines for Treatment of Urinary Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. Veterinary Medicine International. 2011;2011:1–9.
107. Neradova K, Jakubu V, Pomorska K, Zemlickova H. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in veterinary professionals in 2017 in the Czech Republic. BMC Vet Res. 2020 Dec;16(1):4.
108. Brister J. MRSA vs. MRSP in Dogs and Cats [Internet]. VIN; 2020. Available from: <https://www.vin.com/vetzinsight/default.aspx?pid=756&catId=-1&id=9718905>
109. European Medicines Agency. Reflection paper on meticillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* [Internet]. 2011. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-meticillin-resistant-staphylococcus-pseudintermedius_en.pdf
110. Ireland M, Kollmann L, Scheftel, Joni. MRSA Management: Protecting Pets, People, and Progress. Today's Veterinary Practice. 2018;(May/June):77–80.
111. Perkins AV, Sellon DC, Gay JM, Lofgren ET, Moore DA, Jones LP, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* on hand-contact and animal-contact surfaces in companion animal community hospitals. Can Vet J. 2020 Jun;61(6):613–20.
112. Bontron S, Poirel L, Kieffer N, Savov E, Trifonova A, Todorova I, et al. Increased Resistance to Carbapenems in *Proteus mirabilis* Mediated by Amplification of the *bla*_{VIM-1}-Carrying and IS 26 -Associated Class 1 Integron. Microbial Drug Resistance. 2019 Jun;25(5):663–7.
113. Girlich D, Bonnin RA, Dortet L, Naas T. Genetics of Acquired Antibiotic Resistance Genes in *Proteus* spp. Front Microbiol. 2020 Feb 21;11:256.
114. Hooper DC, Jacoby GA. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. Annals of the New York Academy of Sciences. 2015 Sep;1354(1):12–31.
115. Luna CM, Rodríguez-Noriega E, Bavestrello L, Gotuzzo E. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. Braz J Infect Dis. 2010 Dec;14:119–27.
116. Paul M, Bishara J, Yahav D, Goldberg E, Neuberger A, Ghanem-Zoubi N, et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole versus vancomycin for severe infections caused by methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: randomised controlled trial. BMJ. 2015 May 14;350(may14 24):h2219–h2219.

117. Karami N, Nowrouzian F, Adlerberth I, Wold AE. Tetracycline resistance in *Escherichia coli* and persistence in the infantile colonic microbiota. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Jan;50(1):156–61.
118. Thomas MG, Smith AJ, Tilyard M. Rising antimicrobial resistance: a strong reason to reduce excessive antimicrobial consumption in New Zealand. *N Z Med J*. 2014 May 23;127(1394):72–84.
119. Piątkowska E, Piątkowski J, Przondo-Mordarska A. The strongest resistance of *Staphylococcus aureus* to erythromycin is caused by decreasing uptake of the antibiotic into the cells. *Cellular and Molecular Biology Letters* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2023 Jul 17];17(4). Available from: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.2478/s11658-012-0034-3/html>
120. Wong C, Epstein SE, Westropp JL. Antimicrobial Susceptibility Patterns in Urinary Tract Infections in Dogs (2010–2013). *J Vet Intern Med*. 2015 Jul;29(4):1045–52.
121. WHO Regional Office for Europe, European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 – 2020 data. [Internet]. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022 p. 164. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Joint-WHO-ECDC-AMR-report-2022.pdf>
122. Herrero IA, Fernández-Garayzábal JF, Moreno MA, Domínguez L. Dogs Should Be Included in Surveillance Programs for Vancomycin-Resistant Enterococci. *J Clin Microbiol*. 2004 Mar;42(3):1384–5.
123. Wada Y, Irekeola AA, E.A.R. ENS, Yusof W, Lih Huey L, Ladan Muhammad S, et al. Prevalence of Vancomycin-Resistant Enterococcus (VRE) in Companion Animals: The First Meta-Analysis and Systematic Review. *Antibiotics*. 2021 Jan 31;10(2):138.
124. Hernandez J, Bota D, Farbos M, Bernardin F, Ragetly G, Médaille C. Risk factors for urinary tract infection with multiple drug-resistant *Escherichia coli* in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2014 Feb;16(2):75–81.
125. Walther B, Tedin K, Lübke-Becker A. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Veterinary Microbiology*. 2017 Feb;200:71–8.
126. Guardabassi L, Prescott JF. Antimicrobial Stewardship in Small Animal Veterinary Practice. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2015 Mar;45(2):361–76.
127. Lloyd DH, Page SW. Antimicrobial Stewardship in Veterinary Medicine. Aarestrup FM, Schwarz S, Shen J, Cavaco L, editors. *Microbiol Spectr*. 2018 Jun;6(3):6.3.03.
128. Prescott J. Veterinary Antimicrobial Stewardship in Australia. *Can Vet J*. 2019 Mar;60(3):246–8.
129. Windahl U. Bacterial Infections in Dogs with Special Reference to Urinary Tract Infections, Surgical Site Infections and Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* [Internet]. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science -

Uppsala; 2015. Available from:
https://pub.epsilon.slu.se/12200/1/windahl_u_150508.pdf

13 - Anexos

Anexo 1 – Descrição completa das espécies bacterianas isoladas nas uroculturas positivas na amostra de cães e gatos da AML em estudo.

<i>Microorganismo</i>	<i>Gram</i>	<i>n</i> <i>Can</i>	<i>%</i> <i>Can</i>	<i>n Fel</i>	<i>% Fel</i>	<i>Total</i>	<i>% Total</i> <i>Microorganismos</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	1	0,1	0	0,0	1	0,1
<i>Pseudomonas putida</i>	-	1	0,1	0	0,0	1	0,1
<i>Serratia fonticola</i>	-	1	0,1	0	0,0	1	0,1
<i>Staphylococcus hominis</i> <i>ssp hominis</i>	+	0	0,0	1	0,1	1	0,1
<i>Staphylococcus sciuri</i>	+	0	0,0	1	0,1	1	0,1
<i>Staphylococcus simulans</i>	+	0	0,0	1	0,1	1	0,1
<i>Staphylococcus warneri</i>	+	0	0,0	1	0,1	1	0,1
<i>Streptococcus</i> <i>constellatus</i>	+	1	0,1	0	0,0	1	0,1
<i>Staphylococcus</i> <i>saprophyticus</i>	+	0	0,0	1	0,1	1	0,1
<i>Coagulase negative</i> <i>Staphylococcus</i>	+	0	0,0	2	0,2	2	0,2
<i>Enterobacter amnigenus</i>	-	2	0,2	0	0,0	2	0,2
<i>Serratia plymuthica</i>	-	1	0,1	1	0,1	2	0,2
<i>Staphylococcus lentus</i>	+	0	0,0	2	0,2	2	0,2
<i>Streptococcus canis</i>	+	0	0,0	2	0,2	2	0,2
<i>Serratia marcescens</i>	-	1	0,1	1	0,1	2	0,2
<i>Staphylococcus</i> <i>chromogenes</i>	+	0	0,0	2	0,2	2	0,2
<i>Enterobacter cloacae</i> <i>complex</i>	-	2	0,2	1	0,1	3	0,3
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	-	4	0,4	8	0,8	12	1,3

<i>Streptococcus agalactiae</i>	+	10	1,1	3	0,3	13	1,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	15	1,6	28	2,9	43	4,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	43	4,5	22	2,3	65	6,8
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	+	59	5,2	26	2,7	85	7,9
<i>Enterococcus sp.</i>	+	50	5,3	55	5,8	105	11,0
<i>Proteus mirabilis</i>	-	104	10,9	16	1,7	120	12,6
<i>Escherichia coli</i>	-	292	30,7	190	20,0	482	50,7

Totaux

n= 951	Espèce	Gram +	%	Gram -	%	p
	Canina	135	33	452	77	< 0,001
	Felina	125	34	239	66	

Anexo 2 – Descrição dos antibióticos utilizados nos testes de susceptibilidade a antibióticos pelo laboratório DNATech por espécie bacteriana.

Antibiótico	<i>E. coli</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pseudointer</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Amicacina	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	x	✓
Tobramicina	✓	✓	x	✓	✓	x	x	x	x
Gentamicina	✓	✓	x	✓	✓	✓	x	x	✓
Neomicina	✓	✓	x	✓	x	x	x	x	x
Amoxicilina	x	x	✓	x	✓	✓	x	✓	x
Amox + Ác.Clav.	✓	✓	x	✓	✓	x	✓	x	x
Ampicilina	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x
Penicilina G	x	x	✓	x	✓	✓	✓	✓	x
Meticilina	x	x	x	x	✓	✓	✓	x	x
Tetraciclina	✓	✓	x	✓	x	x	x	✓	x
Tigeciclina	x	x	x	x	x	x	x	✓	x
Minociclina	x	x	✓	x	✓	✓	✓	✓	x
Doxiciclina	✓	✓	✓	✓	x	✓	x	x	x
Imipenem	✓	✓	x	✓	x	x	x	x	✓
Meropenem	✓	✓	x	✓	x	x	x	x	x
Trimetoprim-Sulfametoxazol	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	x	x
Clindamicina	x	x	x	x	✓	✓	✓	✓	x
Eritromicina	x	x	x	x	✓	✓	✓	✓	x
Enrofloxacin	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Marbofloxacin	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pradofloxacin	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓	x	x

<i>Levofloxacin</i>	x	x	x	x	✓	x	x	x	x
<i>Ciprofloxacin</i>	x	x	x	x	✓	x	x	x	x
<i>Linezolid</i>	x	x	x	x	x	x	x	✓	x
<i>Cefalotin</i>	✓	✓	x	✓	x	x	x	x	x
<i>Cefalexin</i>	✓	x	x	✓	x	✓	x	x	x
<i>Cefovecin</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Cefotaxim</i>	✓	✓	x	✓	x	x	x	x	✓
<i>Ceftiofur</i>	✓	✓	x	✓	x	✓	x	x	x
<i>Ceftriaxon</i>	✓	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Cefpodoxim</i>	✓	✓	x	✓	x	x	x	x	x
<i>Ceftazidim</i>	✓	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Cefadroxil</i>	✓	✓	x	✓	x	x	x	x	x
<i>Cefoperazon</i>	x	x	✓	x	✓	✓	x	x	x
<i>Vancomicin</i>	x	x	x	x	x	x	x	✓	x
<i>Nitrofurantoin</i>	✓	x	✓	✓	x	✓	x	✓	x
<i>Cloranfenicol</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	x
<i>Florfenicol</i>	x	x	✓	x	✓	✓	x	x	x

Anexo 3 – Racional para a selecção dos antibióticos a serem considerados no estudo de avaliação de resistências a antibióticos nas diferentes espécies bacterianas isoladas.

<i>Antibiótico</i>	<i>Racional</i>
<i>Amoxicilina & Ácido Clavulânico</i>	Comum em clínica de animais de companhia; Comum em medicina humana; Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Recomendado no tratamento de ITU's em animais de companhia; Permite comparação com estudos existentes;
<i>Ampicilina</i>	Utilizado em clínica de animais de companhia; Comum em medicina humana; Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Pode prever susceptibilidade a amoxicilina em todas as espécies bacterianas e à penicilina em estafilococos Gram-positivos (55);
<i>Cefalosporinas de 1ª geração (Cefalexina + Cefalotina)</i>	Cefalexina é de uso comum em clínica de animais de companhia; Cefalotina pode prever susceptibilidade a cefalosporinas de 1ª geração (55). Grupo presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Classe principal de antibióticos vendidos no sector de medicina veterinária de animais de companhia em Portugal no ano de 2020 (59);
<i>Cefalosporinas de 3ª geração (Cefovecina, Ceftiofur, Cefpodoxima)</i>	Comuns em clínica de animais de companhia; Comuns em medicina humana; Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Presente na lista da EARS-Net de antibióticos a monitorizar; Cefovecina é licenciada apenas para uso veterinário; Ceftiofur pode ser prescrito por médicos veterinários para uso em animais (off-label), ao abrigo da cascata de prescrição; Cefpodoxima pode prever resistência a outras cefalosporinas de 3ª geração (55)
<i>Meticilina</i>	Antibiótico criticamente importante para a saúde humana (46) Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Presente na lista da EARS-Net de antibióticos a monitorizar; Identificação de isolados MRSA e MRSP;
<i>Imipenem</i>	Antibiótico criticamente importante para a saúde humana (46) Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Presente na lista da EARS-Net de antibióticos a monitorizar;
<i>Gentamicina</i>	Comum em medicina humana; Utilizado em medicina veterinária de animais de companhia; Antibiótico criticamente importante para a saúde humana (46) Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Presente na lista da EARS-Net de antibióticos a monitorizar;

<i>Enrofloxacin</i>	Utilizado em clínica de animais de companhia; Classe de uso comum em medicina humana; Antibiótico criticamente importante para a saúde humana (46) Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Presente na lista da EARS-Net de antibióticos a monitorizar; Pode ser usado para prever a suscetibilidade a outras fluoroquinolonas de uso veterinário (55)
<i>Eritromicina</i>	Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Presente na lista da EARS-Net de antibióticos a monitorizar; Pode indicar suscetibilidade a lincosamidas em estafilococos (55) Antibiótico criticamente importante para a saúde humana (46)
<i>Trimetoprim-sulfametoxazol</i>	Comum em clínica de animais de companhia; Comum em medicina humana; Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar;
<i>Tetraciclina</i>	Uso comum em medicina veterinária; Presente na lista da EARS-Vet de antibióticos a monitorizar; Classe com representação nos antibióticos mais vendidos a animais de companhia em Portugal em 2020 (59).

Anexo 4 –Descrição das variáveis de estudo e operacionalização das mesmas para análise no programa SPSS®

Variável	Tipo	Valores	Recodificação em SPSS
Espécie Animal	Categórica	“Cão”, “Gato”	n/a
Resultado de Cultura	Categórica	“Positiva”, “Negativa”	n/a
Espécie microbiana	Nominal	“E. coli”	1
		“Proteus mirabilis”	2
		“Staphylococcus pseudointermedius”	3
		“Klebsiella pneumoniae”	4
		“Staphylococcus aureus”	5
		“Enterococcus sp”	6
		“Streptococcus agalactiae”	7
		“Pseudomonas aeruginosa”	8
Classificação bacteriana	Categórica	“Gram +”	
		“Gram –”	n/a
Antibiótico	Nominal	Amoxicilina & Ácido Clavulânico (AMC)	1
			2
		Ampicilina (AMP)	3
		Cefalexina (CFL)	4
		Cefalotina (CFT)	5
		Cefovecina (CFV)	6
		Ceftiofur (CFF)	7
		Cefpodoxima (CFP)	8
		Imipenem (IMI)	9
		Gentamicina (GEN)	10
		Enrofloxacin (ENR)	11
		Tetraciclina (TCN)	12
		Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP)	13
		Eritromicina (ERM)	14
		Meticilina (MET)	
Susceptibilidade	Categórica	“Sensível”,	1
		“Resistente”	0
Frequência de resistência	Numérica	0 – 100%	n/a
Classificação de resistência	Nominal, categórica	“Rara”, “Muito Baixa”, “Baixa”, “Moderada”, “Alta”, “Extremamente Alta”	n/a

Anexo 5 – Sintaxe da codificação das variáveis em estudo utilizada no programa SPSS® para análise da resistência a antibióticos por espécie bacteriana com estimação de intervalo de confiança de 95%.

* Encoding: UTF-8.

COMPUTE Resist_AMC = 0.

```
if(Resist_1="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_2="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_3="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_4="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_5="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_6="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_7="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_8="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_9="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_10="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_11="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_12="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_13="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_14="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_15="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" | Resist_16="Amoxicilina+Ácido Clavulânico" |
Resist_17="Amoxicilina+Ácido Clavulânico") Resist_AMC = 1.
```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_AMP = 0.

```
if(Resist_1="Ampicilina" | Resist_2="Ampicilina" | Resist_3="Ampicilina" | Resist_4="Ampicilina" |
Resist_5="Ampicilina" | Resist_6="Ampicilina" | Resist_7="Ampicilina" | Resist_8="Ampicilina" |
Resist_9="Ampicilina" | Resist_10="Ampicilina" | Resist_11="Ampicilina" | Resist_12="Ampicilina" |
Resist_13="Ampicilina" | Resist_14="Ampicilina" | Resist_15="Ampicilina" | Resist_16="Ampicilina" |
Resist_17="Ampicilina") Resist_AMP = 1.
```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_CFL = 0.

```
if(Resist_1="Cefalexina" | Resist_2="Cefalexina" | Resist_3="Cefalexina" | Resist_4="Cefalexina" |
Resist_5="Cefalexina" | Resist_6="Cefalexina" | Resist_7="Cefalexina" | Resist_8="Cefalexina" |
Resist_9="Cefalexina" | Resist_10="Cefalexina" | Resist_11="Cefalexina" | Resist_12="Cefalexina" |
Resist_13="Cefalexina" | Resist_14="Cefalexina" | Resist_15="Cefalexina" | Resist_16="Cefalexina" |
Resist_17="Cefalexina") Resist_CFL = 1.
```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_CFT = 0.

```
if(Resist_1="Cefalotina" | Resist_2="Cefalotina" | Resist_3="Cefalotina" | Resist_4="Cefalotina" |
Resist_5="Cefalotina" | Resist_6="Cefalotina" | Resist_7="Cefalotina" | Resist_8="Cefalotina" |
Resist_9="Cefalotina" | Resist_10="Cefalotina" | Resist_11="Cefalotina" | Resist_12="Cefalotina" |
Resist_13="Cefalotina" | Resist_14="Cefalotina" | Resist_15="Cefalotina" | Resist_16="Cefalotina" |
Resist_17="Cefalotina") Resist_CFT = 1.
```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_CFV = 0.

```

if(Resist_1="Cefovecina" | Resist_2="Cefovecina" | Resist_3="Cefovecina" | Resist_4="Cefovecina" |
Resist_5="Cefovecina" | Resist_6="Cefovecina" | Resist_7="Cefovecina" | Resist_8="Cefovecina" |
Resist_9="Cefovecina" | Resist_10="Cefovecina" | Resist_11="Cefovecina" | Resist_12="Cefovecina" |
Resist_13="Cefovecina" | Resist_14="Cefovecina" | Resist_15="Cefovecina" | Resist_16="Cefovecina" |
Resist_17="Cefovecina") Resist_CFV = 1.

```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_CFF = 0.

```

if(Resist_1="Ceftiofur" | Resist_2="Ceftiofur" | Resist_3="Ceftiofur" | Resist_4="Ceftiofur" |
Resist_5="Ceftiofur" | Resist_6="Ceftiofur" | Resist_7="Ceftiofur" | Resist_8="Ceftiofur" |
Resist_9="Ceftiofur" | Resist_10="Ceftiofur" | Resist_11="Ceftiofur" | Resist_12="Ceftiofur" |
Resist_13="Ceftiofur" | Resist_14="Ceftiofur" | Resist_15="Ceftiofur" | Resist_16="Ceftiofur" |
Resist_17="Ceftiofur") Resist_CFF = 1.

```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_CFP = 0.

```

if(Resist_1="Cefpodoxima" | Resist_2="Cefpodoxima" | Resist_3="Cefpodoxima" | Resist_4="Cefpodoxima"
| Resist_5="Cefpodoxima" | Resist_6="Cefpodoxima" | Resist_7="Cefpodoxima" | Resist_8="Cefpodoxima"
| Resist_9="Cefpodoxima" | Resist_10="Cefpodoxima" | Resist_11="Cefpodoxima" |
Resist_12="Cefpodoxima" | Resist_13="Cefpodoxima" | Resist_14="Cefpodoxima" |
Resist_15="Cefpodoxima" | Resist_16="Cefpodoxima" | Resist_17="Cefpodoxima") Resist_CFP = 1.

```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_IMI = 0.

```

if(Resist_1="Imipenem" | Resist_2="Imipenem" | Resist_3="Imipenem" | Resist_4="Imipenem" |
Resist_5="Imipenem" | Resist_6="Imipenem" | Resist_7="Imipenem" | Resist_8="Imipenem" |
Resist_9="Imipenem" | Resist_10="Imipenem" | Resist_11="Imipenem" | Resist_12="Imipenem" |
Resist_13="Imipenem" | Resist_14="Imipenem" | Resist_15="Imipenem" | Resist_16="Imipenem" |
Resist_17="Imipenem") Resist_IMI = 1.

```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_GEN = 0.

```

if(Resist_1="Gentamicina" | Resist_2="Gentamicina" | Resist_3="Gentamicina" | Resist_4="Gentamicina" |
Resist_5="Gentamicina" | Resist_6="Gentamicina" | Resist_7="Gentamicina" | Resist_8="Gentamicina" |
Resist_9="Gentamicina" | Resist_10="Gentamicina" | Resist_11="Gentamicina" | Resist_12="Gentamicina"
| Resist_13="Gentamicina" | Resist_14="Gentamicina" | Resist_15="Gentamicina" |
Resist_16="Gentamicina" | Resist_17="Gentamicina") Resist_GEN = 1.

```

EXECUTE.

COMPUTE Resist_ENR = 0.

```

if(Resist_1="Enrofloxacin" | Resist_2="Enrofloxacin" | Resist_3="Enrofloxacin" |
Resist_4="Enrofloxacin" | Resist_5="Enrofloxacin" | Resist_6="Enrofloxacin" | Resist_7="Enrofloxacin"
| Resist_8="Enrofloxacin" | Resist_9="Enrofloxacin" | Resist_10="Enrofloxacin" |
Resist_11="Enrofloxacin" | Resist_12="Enrofloxacin" | Resist_13="Enrofloxacin" |

```

Resist_14="Enrofloxacina" | Resist_15="Enrofloxacina" | Resist_16="Enrofloxacina" |
Resist_17="Enrofloxacina") Resist_ENR = 1.

EXECUTE.

COMPUTE Resist_TCN = 0.

if(Resist_1="Tetraciclina" | Resist_2="Tetraciclina" | Resist_3="Tetraciclina" | Resist_4="Tetraciclina" |
Resist_5="Tetraciclina" | Resist_6="Tetraciclina" | Resist_7="Tetraciclina" | Resist_8="Tetraciclina" |
Resist_9="Tetraciclina" | Resist_10="Tetraciclina" | Resist_11="Tetraciclina" | Resist_12="Tetraciclina" |
Resist_13="Tetraciclina" | Resist_14="Tetraciclina" | Resist_15="Tetraciclina" | Resist_16="Tetraciclina" |
Resist_17="Tetraciclina") Resist_TCN = 1.

EXECUTE.

COMPUTE Resist_TMP = 0.

if(Resist_1="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_2="Trimetoprim-Sulfametoxazol" |
Resist_3="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_4="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_5="Trimetoprim-
Sulfametoxazol" | Resist_6="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_7="Trimetoprim-Sulfametoxazol" |
Resist_8="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_9="Trimetoprim-Sulfametoxazol" |
Resist_10="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_11="Trimetoprim-Sulfametoxazol" |
Resist_12="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_13="Trimetoprim-Sulfametoxazol" |
Resist_14="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_15="Trimetoprim-Sulfametoxazol" |
Resist_16="Trimetoprim-Sulfametoxazol" | Resist_17="Trimetoprim-Sulfametoxazol") Resist_TMP = 1.

EXECUTE.

COMPUTE Resist_ERM = 0.

if(Resist_1="Eritromicina" | Resist_2="Eritromicina" | Resist_3="Eritromicina" | Resist_4="Eritromicina" |
Resist_5="Eritromicina" | Resist_6="Eritromicina" | Resist_7="Eritromicina" | Resist_8="Eritromicina" |
Resist_9="Eritromicina" | Resist_10="Eritromicina" | Resist_11="Eritromicina" | Resist_12="Eritromicina" |
Resist_13="Eritromicina" | Resist_14="Eritromicina" | Resist_15="Eritromicina" | Resist_16="Eritromicina" |
Resist_17="Eritromicina") Resist_ERM = 1.

EXECUTE.

COMPUTE Resist_MET = 0.

if(Resist_1="Meticilina" | Resist_2="Meticilina" | Resist_3="Meticilina" | Resist_4="Meticilina" |
Resist_5="Meticilina" | Resist_6="Meticilina" | Resist_7="Meticilina" | Resist_8="Meticilina" |
Resist_9="Meticilina" | Resist_10="Meticilina" | Resist_11="Meticilina" | Resist_12="Meticilina" |
Resist_13="Meticilina" | Resist_14="Meticilina" | Resist_15="Meticilina" | Resist_16="Meticilina" |
Resist_17="Meticilina") Resist_MET = 1.

EXECUTE.

DATASET ACTIVATE DataSet1.

* Custom Tables.

CTABLES

```
/VLABELS VARIABLES=Resist_AMC Resist_AMP Resist_CFL Resist_CFT Resist_CFV Resist_CFF  
Resist_CFP
```

```
Resist_IMI Resist_GEN Resist_ENR Resist_TCN Resist_TMP Resist_ERM MO_isol_2 Resist_MET  
MO_isol_2
```

```
DISPLAY=LABEL
```

```
/TABLE Resist_AMC + Resist_AMP + Resist_CFL + Resist_CFT + Resist_CFV + Resist_CFF +  
Resist_CFP +
```

```
Resist_IMI + Resist_GEN + Resist_ENR + Resist_TCN + Resist_TMP + Resist_ERM + Resist_MET BY  
MO_isol_2 [COUNT
```

```
F40.0, COLPCT.COUNT PCT40.1, COLPCT.COUNT.LCL PCT40.1, COLPCT.COUNT.UCL PCT40.1]
```

```
/CATEGORIES VARIABLES=Resist_AMC Resist_AMP Resist_CFL Resist_CFT Resist_CFV Resist_CFF
```

```
Resist_CFP Resist_IMI Resist_GEN Resist_ENR Resist_TCN Resist_TMP Resist_ERM Resist_MET  
ORDER=A KEY=VALUE
```

```
EMPTY=INCLUDE
```

```
/CATEGORIES VARIABLES=MO_isol_2 ORDER=A KEY=VALUE EMPTY=EXCLUDE
```

```
/CRITERIA CILEVEL=95.
```

```
DATASET ACTIVATE ConjuntodeDados1.
```

* Tabelas customizadas.

```
CTABLES
```

```
/VLABELS VARIABLES=Resist_AMC_1 Resist_AMP_2 Resist_CFL_3 Resist_CFT_4 Resist_CFV_5  
Resist_CFF_6
```

```
Resist_CFP_7 Resist_IMI_8 Resist_GEN_9 Resist_ENR_10 Resist_TCN_11 Resist_TMP_12  
Resist_ERM_13
```

```
Resist_MET_14 Microrganismoisolado
```

```
DISPLAY=LABEL
```

```
/TABLE Resist_AMC_1 + Resist_AMP_2 + Resist_CFL_3 + Resist_CFT_4 + Resist_CFV_5 +  
Resist_CFF_6 +
```

```
Resist_CFP_7 + Resist_IMI_8 + Resist_GEN_9 + Resist_ENR_10 + Resist_TCN_11 + Resist_TMP_12  
+
```

```
Resist_ERM_13 + Resist_MET_14 BY Microrganismoisolado [COUNT F40.0, COLPCT.COUNT  
PCT40.1,
```

```
COLPCT.COUNT.LCL PCT40.1, COLPCT.COUNT.UCL PCT40.1]
```

```
/CATEGORIES VARIABLES=Resist_AMC_1 Resist_AMP_2 Resist_CFL_3 Resist_CFT_4 Resist_CFV_5
```

```
Resist_CFF_6 Resist_CFP_7 Resist_IMI_8 Resist_GEN_9 Resist_ENR_10 Resist_TCN_11  
Resist_TMP_12
```

```
Resist_ERM_13 Resist_MET_14 ORDER=A KEY=VALUE EMPTY=EXCLUDE TOTAL=YES  
POSITION=AFTER
```

```
/CATEGORIES VARIABLES=Microorganismoisolado ORDER=A KEY=VALUE EMPTY=EXCLUDE
```

```
/CRITERIA CILEVEL=95.
```

```
* Encoding: UTF-8.
```

```
DATASET ACTIVATE ConjuntodeDados1.
```

```
COMPUTE
```

```
MRT_SOMA=SUM(Resist_AMC_1,Resist_AMP_2,Resist_CFL_3,Resist_CFT_4,Resist_C  
FF_6,
```

```
Resist_CFP_7,Resist_IMI_8,Resist_GEN_9,Resist_ENR_10,Resist_TCN_11,Resist_TMP_12,Resist_ER  
M_13,
```

```
Resist_MET_14).
```

```
EXECUTE.
```

```
RECODE MRT_SOMA (0=0) (1=1) (2=2) (3=3) (SYSMIS=SYSMIS) (ELSE=3) INTO MRT_3mais.
```

```
VARIABLE LABELS MRT_3mais 'Multiresistente 3 ou mais'.
```

```
EXECUTE.
```