

DECISÃO DA COMISSÃO

de 19 de Julho de 2007

relativa a uma participação financeira da Comunidade para a realização, nos Estados-Membros, de um estudo sobre a prevalência e a resistência antimicrobiana de *Campylobacter* spp. em bandos de frangos e sobre a prevalência de *Campylobacter* spp. e de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos

[notificada com o número C(2007) 3440]

(2007/516/CE)

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Europeia,

Tendo em conta a Decisão 90/424/CEE do Conselho, de 26 de Junho de 1990, relativa a determinadas despesas no domínio veterinário ⁽¹⁾, nomeadamente o artigo 20.º,

Considerando o seguinte:

- (1) A Decisão 90/424/CEE estabelece regras de participação financeira da Comunidade em acções veterinárias pontuais, incluindo acções de natureza técnica e científica. Prevê que a Comunidade realize ou ajude os Estados-Membros a realizar as acções técnicas e científicas necessárias ao desenvolvimento de legislação comunitária no domínio veterinário e ao desenvolvimento do ensino ou da formação veterinários.
- (2) Segundo o relatório da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) sobre as tendências e origens das zoonoses, dos agentes zoonóticos e da resistência antimicrobiana na Comunidade em 2005 ⁽²⁾, registou-se um total de 194 695 casos de campilobacteriose em seres humanos em 22 Estados-Membros. Considera-se a carne de frango como a fonte mais comum de infecção. Foram notificados, em carne de frango, níveis de amostras positivas que chegaram aos 66,4 %. Em bandos de frangos, 0,2 % a 86 % das amostras notificadas constituíam resultados positivos.
- (3) De salientar ainda que, segundo o relatório da EFSA, foi notificado em 2005 um total de 168 929 casos de salmonelose em seres humanos em 22 Estados-Membros. As taxas típicas de contaminação de carne fresca de aves de capoeira variam entre 4 % e 10 %, representando as taxas mais elevadas de todos os géneros alimentícios analisados.

- (4) A EFSA indica ainda no seu relatório que uma percentagem relativamente elevada de isolados de *Campylobacter* e de *Salmonella* provenientes de animais e de alimentos era resistente aos agentes antimicrobianos habitualmente utilizados no tratamento de doenças humanas. Este é em particular o caso da resistência às fluoroquinolonas em isolados de *Campylobacter* provenientes de aves de capoeira, em que a percentagem notificada de isolados resistentes à ciprofloxacina atingiu 94 %. As infecções de origem alimentar causadas por estas bactérias resistentes representam um risco particular para os humanos devido à possibilidade do fracasso do tratamento.

- (5) De acordo com a Decisão 2005/636/CE da Comissão, de 1 de Setembro de 2005, relativa a uma participação financeira da Comunidade para a realização, nos Estados-Membros, de um estudo de base sobre a prevalência de *Salmonella* spp. em bandos de frangos para assar de *Gallus gallus* ⁽³⁾, obtiveram-se informações comparáveis no tocante à prevalência de *Salmonella* nesses bandos. É, porém, muito difícil comparar prevalências de *Campylobacter* em bandos e carne de frango e de *Salmonella* em carne de frango com origem em diferentes Estados-Membros, visto não existir vigilância harmonizada.

- (6) Nos termos do artigo 5.º da Directiva 2003/99/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de Novembro de 2003, relativa à vigilância das zoonoses e dos agentes zoonóticos, que altera a Decisão 90/424/CEE do Conselho e revoga a Directiva 92/117/CEE do Conselho ⁽⁴⁾, podem ser estabelecidos programas coordenados de vigilância, em especial quando forem identificadas necessidades específicas, para a avaliação dos riscos e o estabelecimento de valores de referência relacionados com zoonoses e agentes zoonóticos a nível dos Estados-Membros.

- (7) A EFSA, em colaboração com peritos científicos, preparou especificações técnicas destinadas a um estudo de base sobre uma vigilância harmonizada de *Campylobacter* em bandos de frangos. Em 2006, organizou-se em todos os Estados-Membros uma formação destinada aos técnicos de laboratório sobre métodos de detecção de *Campylobacter* nesses bandos, estando programada para 2007 uma formação sobre o método de contagem de *Campylobacter* em carcaças.

⁽¹⁾ JO L 224 de 18.8.1990, p. 19. Decisão com a última redacção que lhe foi dada pela Decisão 2006/965/CE (JO L 397 de 30.12.2006, p. 22).

⁽²⁾ *The EFSA Journal* (2006) 94.

⁽³⁾ JO L 228 de 3.9.2005, p. 14.

⁽⁴⁾ JO L 325 de 12.12.2003, p. 31. Directiva alterada pela Directiva 2006/104/CE do Conselho (JO L 363 de 20.12.2006, p. 352).

- (8) A *task force* da EFSA sobre recolha de dados relativos a zoonoses adoptou, na reunião de 16 e 17 de Outubro de 2006, o relatório sobre as especificações técnicas propostas para um programa coordenado de vigilância de *Salmonella* e de *Campylobacter* em carne de frango na União Europeia ⁽¹⁾.
- (9) A *task force* adoptou também, em 20 de Fevereiro de 2007, um relatório que continha uma proposta de sistema harmonizado de vigilância da resistência antimicrobiana de *Salmonella* em galos e galinhas (*Gallus gallus*), perus e suínos e de *Campylobacter jejuni* e *C. coli* em frangos ⁽²⁾. O relatório apresenta recomendações sobre um sistema harmonizado de vigilância e uma metodologia harmonizada para os testes de susceptibilidade.
- (10) Nos termos do n.º 3 do artigo 7.º e da parte B do anexo II da Directiva 2003/99/CE, devem ser estabelecidas modalidades para a vigilância da resistência antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* e de *Campylobacter coli* em aves de capoeira. É necessário proceder à recolha de dados antes de se estabelecerem essas modalidades. Por conseguinte, devem ser incluídos no estudo os testes à resistência antimicrobiana, a fim de reunir os dados necessários.
- (11) Atendendo ao elevado número de casos de *Salmonella* e de *Campylobacter* registados em seres humanos, à importância dos frangos e da carne de frango como fonte de infecção e à crescente apreensão motivada pelo desenvolvimento da resistência antimicrobiana, devem colher-se dados comparáveis sobre a prevalência de *Campylobacter* em frangos e carne de frango e a prevalência de *Salmonella* em carne de frango nos Estados-Membros, a fim de ponderar a necessidade, a viabilidade, o custo e os benefícios de medidas de controlo a nível da Comunidade.
- (12) O estudo deve proporcionar as informações técnicas necessárias ao desenvolvimento de legislação comunitária no domínio veterinário, nomeadamente sobre a utilização de agentes antimicrobianos em programas de luta contra as zoonoses em aves de capoeira. Dada a importância de recolher dados comparáveis sobre a prevalência de *Salmonella* e de *Campylobacter* em frangos e carne de frango e sobre a resistência antimicrobiana de *Campylobacter* em bandos de frangos nos Estados-Membros, deve ser concedida a estes últimos uma participação financeira da Comunidade para executar o estudo, segundo requisitos específicos. É conveniente reembolsar 100 % das despesas efectuadas com os testes de laboratório, até um limite máximo. Todas as outras despesas, como as respeitantes à amostragem, a deslocações e despesas administrativas, não devem ser elegíveis para qualquer participação financeira da Comunidade.
- (13) A participação financeira da Comunidade é concedida desde que o estudo seja realizado de acordo com a legislação comunitária e cumpra determinadas condições.
- (14) A participação financeira da Comunidade é concedida se as acções previstas forem levadas a cabo com eficácia e as autoridades competentes fornecerem todas as informações necessárias dentro dos prazos fixados na presente decisão.
- (15) Por motivos de eficácia administrativa, todas as despesas apresentadas para beneficiar de uma participação financeira da Comunidade devem estar expressas em euros. Nos termos do Regulamento (CE) n.º 1290/2005 do Conselho, de 21 de Junho de 2005, relativo ao financiamento da política agrícola comum ⁽³⁾, a taxa de câmbio a aplicar às despesas efectuadas em moeda diferente do euro deve ser a taxa mais recente que o Banco Central Europeu tiver estabelecido antes do primeiro dia do mês em que o pedido é apresentado pelo Estado-Membro interessado.
- (16) As medidas previstas na presente decisão estão em conformidade com o parecer do Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal,

ADOPTOU A PRESENTE DECISÃO:

Artigo 1.º

Objecto e âmbito de aplicação

A presente decisão estabelece as regras relativas a uma participação financeira da Comunidade num estudo a efectuar pelos Estados-Membros sobre a prevalência de:

- a) *Campylobacter* spp. em bandos de frangos e respectiva resistência antimicrobiana; e
- b) *Campylobacter* spp. e *Salmonella* spp. em carcaças de frangos.

Artigo 2.º

Definições

Para efeitos da presente decisão, entende-se por:

- a) «Bando», todas as aves de capoeira (por exemplo, frangos) com o mesmo estatuto sanitário mantidas nas mesmas instalações ou no mesmo recinto e que constituam uma única unidade epidemiológica; no caso de aves de capoeira mantidas em baterias, o bando inclui o conjunto das aves que partilham o mesmo volume de ar;

⁽¹⁾ *The EFSA Journal* (2007) 96, p. 1-46.

⁽²⁾ *The EFSA Journal* (2006) 403, p. 1-62.

⁽³⁾ JO L 209 de 11.8.2005, p. 1. Regulamento com a última redacção que lhe foi dada pelo Regulamento (CE) n.º 378/2007 (JO L 95 de 5.4.2007, p. 1).

- b) «Lote para abate», remessa de frangos, criados no mesmo bando, enviada para um matadouro no mesmo dia;
- c) «Autoridade competente», a autoridade ou autoridades de um Estado-Membro designadas nos termos do artigo 3.º do Regulamento (CE) n.º 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho ⁽¹⁾.

Artigo 3.º

Zoonoses e agentes zoonóticos abrangidos pelo estudo

Os Estados-Membros efectuam um estudo a fim de avaliar a prevalência das zoonoses e dos agentes zoonóticos a seguir indicados em amostras colhidas em matadouros aleatoriamente seleccionados em conformidade com o anexo I:

- a) *Campylobacter* spp. em bandos de frangos e respectiva resistência antimicrobiana;
- b) *Campylobacter* spp. em carcaças de frangos;
- c) *Salmonella* spp. em carcaças de frangos;

em matadouros de toda a Comunidade. Só são incluídos no estudo os frangos produzidos a partir do primeiro dia no Estado-Membro em causa.

Artigo 4.º

Realização da amostragem e das análises

1. A amostragem é efectuada pela autoridade competente ou sob a sua supervisão em conformidade com as especificações técnicas constantes do anexo I.
2. Os laboratórios nacionais de referência (LNR) para *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e resistência antimicrobiana realizam as partes pertinentes das análises a amostras e isolados.
3. No entanto, a autoridade competente pode decidir designar outros laboratórios envolvidos no controlo oficial de *Salmonella* spp., de *Campylobacter* spp. e da resistência antimicrobiana, para realizar as análises a amostras e isolados.

Nesses casos, os LNR devem prestar apoio e formação aos laboratórios designados e garantir que cumprem as regras em matéria de controlos de qualidade mediante a organização periódica de testes interlaboratoriais.

Os laboratórios designados em conformidade com o presente número que realizam os testes devem respeitar as seguintes condições:

- a) Possuir experiência comprovada da utilização dos métodos requeridos para os testes;
- b) Dispor de um sistema de garantia de qualidade que cumpra a norma EN/ISO 17025;
- c) Estar sujeitos à supervisão dos LNR pertinentes.

Artigo 5.º

Condições para a atribuição de uma participação financeira da Comunidade

1. A participação financeira da Comunidade nos custos de amostragem e análise será paga aos Estados-Membros até ao montante máximo total para o co-financiamento estabelecido no anexo II.
2. A participação financeira da Comunidade referida no n.º 1 será paga aos Estados-Membros se a execução do estudo estiver em conformidade com as disposições pertinentes da legislação comunitária, incluindo o respeito pelas regras de concorrência e de adjudicação de contratos públicos e sob reserva do respeito das seguintes condições:

- a) As disposições legislativas, regulamentares e administrativas necessárias à execução do estudo devem entrar em vigor, o mais tardar, em 31 de Dezembro de 2007;
- b) Deve ser apresentado à Comissão, o mais tardar em 31 de Maio de 2008, um relatório de progresso com as informações mencionadas no ponto 1 da parte E do anexo I e abrangendo os três primeiros meses do estudo;
- c) Deve ser apresentado à Comissão, o mais tardar em 28 de Fevereiro de 2009, um relatório final sobre a execução do estudo contendo todas as informações mencionadas nos pontos 1 e 2 da parte E do anexo I, as provas justificativas dos custos suportados pelos Estados-Membros com a amostragem e as análises e os resultados alcançados durante o período compreendido entre 1 de Janeiro e 31 de Dezembro de 2008; os elementos comprovativos das despesas efectuadas devem incluir, pelo menos, as informações previstas no anexo III;

- d) O estudo deve ser executado de maneira eficaz.

⁽¹⁾ JO L 325 de 12.12.2003, p. 1. Regulamento com a última redacção que lhe foi dada pelo Regulamento (CE) n.º 1791/2006 do Conselho (JO L 363 de 20.12.2006, p. 1).

3. Caso o relatório final mencionado na alínea c) do n.º 2 não seja apresentado até 28 de Fevereiro de 2009, proceder-se-á a uma redução progressiva da participação financeira da Comunidade, correspondente a 25 % do montante total em 30 de Março de 2009, de 50 % em 30 de Abril de 2009 e de 100 % em 30 de Maio de 2009.

Artigo 6.º

Montantes máximos a reembolsar

Os montantes máximos da participação financeira da Comunidade nos custos a reembolsar aos Estados-Membros pela amostragem e pelas análises abrangidas pelo estudo não devem ser superiores a:

- a) 20 EUR por cada teste de detecção de *Campylobacter* spp. e de *Salmonella* spp;
- b) 30 EUR por cada confirmação, especiação e contagem de isolados de *Campylobacter* spp. e pela serotipagem de isolados de *Salmonella* spp.;
- c) 30 EUR por cada teste de resistência antimicrobiana a isolados de *Campylobacter* provenientes de bandos de frangos.

Artigo 7.º

Recolha de dados, avaliação e apresentação de relatórios

1. A autoridade competente responsável pela preparação do relatório anual nacional, nos termos do n.º 1 do artigo 9.º da Directiva 2003/99/CE, recolhe e avalia os resultados da amostragem e das análises, no que diz respeito às prevalências de *Salmonella* e de *Campylobacter*, realizadas de acordo com o artigo 4.º da presente decisão, e apresenta à Comissão, o mais tardar em 28 de Fevereiro de 2009, todos os dados necessários e a respectiva avaliação pelo Estado-Membro. Os resultados dos testes à resistência antimicrobiana serão comunicados antes do final de Maio de 2009 no âmbito da apresentação anual de relatórios, em conformidade com o n.º 1 do artigo 9.º da Directiva 2003/99/CE.

2. A Comissão transmite os resultados obtidos durante a execução do estudo, juntamente com os dados agregados nacionais e as respectivas avaliações pelos Estados-Membros, à Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, que os examinará.

Qualquer utilização dos dados apresentados pelos Estados-Membros para fins diferentes dos do estudo estará sujeita ao acordo prévio dos Estados-Membros.

3. Os dados nacionais agregados e os resultados serão postos à disposição do público de uma forma que assegure a sua confidencialidade.

Artigo 8.º

Taxa de câmbio aplicável às despesas

Sempre que as despesas de um Estado-Membro sejam efectuadas numa moeda que não o euro, o Estado-Membro em causa converte-a em euros aplicando a taxa de câmbio mais recente definida pelo Banco Central Europeu antes do primeiro dia do mês em que o Estado-Membro apresenta um pedido.

Artigo 9.º

Aplicação

A presente decisão é aplicável a partir de 1 de Janeiro de 2008.

Artigo 10.º

Destinatários

Os Estados-Membros são os destinatários da presente decisão.

Feito em Bruxelas, em 19 de Julho de 2007.

Pela Comissão

Markos KYPRIANOU

Membro da Comissão

ANEXO I

ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS REFERIDAS NO ARTIGO 4.º

PARTE A

Base de amostragem

A monitorização deve ser realizada em lotes para abate no matadouro, a fim de evitar efeitos relacionados com a idade.

Uma vez que se demonstrou que a prevalência de *Campylobacter* spp. varia significativamente com as estações do ano, deve proceder-se a uma estratificação. Para o efeito, deve dividir-se um período de 12 meses em 12 períodos de um mês. Em cada um desses períodos, deve colher-se 1/12 da dimensão total da amostra.

A amostragem deve basear-se ainda numa selecção aleatória, tanto em termos de matadouros e dias de amostragem em cada mês como em termos dos lotes que devem ser amostrados num dia de amostragem seleccionado. O programa de aleatorização deve, nomeadamente, garantir uma selecção de lotes para abate proporcional ao número de bandos engordados de acordo com diferentes tipos de produção (convencional, ao ar livre, biológica). Além disso, o estatuto de *Salmonella* spp. ou de *Campylobacter* spp., se conhecido no momento do abate, não deve falsear a aleatorização. A autoridade competente deve assumir a responsabilidade de elaborar um programa de aleatorização e garantir a sua correcta execução. Pode encontrar-se um exemplo de procedimento de aleatorização no relatório relativo às especificações técnicas propostas para um programa de monitorização coordenado para *Salmonella* e *Campylobacter* em carne de frango na União Europeia, elaborado pela *task force* da EFSA sobre recolha de dados relativos a zoonoses. Os pormenores do programa de aleatorização devem ser comunicados à Comissão.

PARTE B

Dimensão da amostra**1. Dimensão da amostra primária**

- a) A dimensão da amostra primária indica o número de lotes para abate a testar;
- b) Devem ser amostrados pelo menos 384 lotes para abate. A amostragem deve ser aproximadamente superior em 10 % ao número indicado, para prever a possibilidade de não-resposta;
- c) Em derrogação à alínea b), na Estónia, na Letónia e no Luxemburgo, o número de lotes para abate amostrado deve ser o seguinte ⁽¹⁾:
 - i) na Estónia, pelo menos 96 lotes para abate,
 - ii) na Letónia, pelo menos 120 lotes para abate,
 - iii) no Luxemburgo, pelo menos 12 lotes para abate.

2. Dimensão da amostra secundária

A dimensão da amostra secundária indica o número de frangos a amostrar por cada lote para abate. Esse número deve ser de 10 aves para a detecção de *Campylobacter* em cecos e de uma ave para a detecção de *Campylobacter* e de *Salmonella* em carcaças. As amostras de cecos e a amostra de carcaça devem provir do mesmo lote para abate.

PARTE C

Colheita, manuseamento e análise de espécimes para a detecção e os testes à resistência antimicrobiana de *Campylobacter* spp. em bandos de frangos**1. Colheita e transporte**

As espécies do género *Campylobacter* são organismos relativamente frágeis que morrem rapidamente fora do intestino do hospedeiro. Assim, devem tomar-se as devidas precauções para que as amostras sejam colhidas de forma adequada e analisadas rapidamente. Devem evitar-se temperaturas excessivas e o transporte deve ser o mais rápido possível.

As amostras a colher são cecos intactos. As amostras cecais devem ser colhidas aquando da evisceração.

⁽¹⁾ Estimativa: número de explorações (4 na Estónia, 5 na Letónia) × 2 bandos por exploração × 2 lotes para abate por bando × 6 ciclos por ano. No Luxemburgo, apenas são abatidos frangos de 3 bandos pequenos. De três em três meses deve ser amostrado um lote para abate de cada um deles.

As amostras serão colhidas apenas por pessoal com formação em procedimentos normalizados de amostragem. O principal objectivo consiste em minimizar a contaminação externa do conteúdo cecal durante a amostragem. A melhor maneira de o conseguir é através de uma cuidadosa tracção manual na junção com o intestino. Deve colher-se um ceco intacto por ave, e os amostradores devem comprovar que o ceco está cheio ou, caso contrário, rejeitá-lo. As aves devem ser amostradas, de preferência, aleatoriamente em todo o lote (evitando a primeira parte do lote), colhendo amostras de aves não consecutivas. Os 10 cecos colhidos podem ser colocados num único saco/embalagem estéril para transporte.

A autoridade competente deve registar num formulário de amostragem todas as informações importantes que se possam obter da amostra, a fim de poder respeitar os requisitos da parte E respeitantes aos relatórios. Cada amostra e respectivo formulário devem ser rotulados com um número único, que deve ser utilizado desde a fase da amostragem até à fase dos testes. A autoridade competente deve providenciar a implementação e a utilização de um sistema de numeração única. Para a amostra de carcaça, deve utilizar-se o mesmo identificador do lote para abate.

As amostras cecais constituídas por cecos intactos devem ser transportadas para o laboratório no prazo de 24 horas (ou seja, por correio expresso ou serviço postal privado) e ser aí imediatamente analisadas. Caso não seja possível, as amostras devem ser mantidas refrigeradas, pelo menos até serem transportadas para o laboratório, devendo ser analisadas num prazo não superior a 72-80 horas após a amostragem. No laboratório, as amostras que não puderem ser testadas no dia de chegada devem ser mantidas refrigeradas até serem analisadas.

No laboratório, o conteúdo cecal deve ser assepticamente retirado e reunido numa amostra composta.

2. Método de diagnóstico

2.1. Cultura

A cultura directa de um meio selectivo proporciona uma boa estimativa da prevalência de *Campylobacter*. A cultura directa da amostra deve ser realizada num meio selectivo adequado a *Campylobacter*, (ou seja, meio selectivo modificado isento de sangue para *Campylobacter* (CCDA), Karmali ou Preston Agar).

As placas devem ser incubadas a $41,5 \pm 1$ °C, em atmosfera de microaerofilia, durante pelo menos 48 +/- 2 horas. O crescimento pode ser detectado após 24 horas.

Pode obter-se a atmosfera de microaerofilia em incubadoras de microaerofilia à venda no mercado (mistura gasosa 10 % CO₂/6 % O₂). Caso essas incubadoras não estejam disponíveis, podem utilizar-se sistemas de cultura de microaerofilia, por exemplo, jarras de gás. Há no mercado sistemas de envelope de gás (*gas pack*) que proporcionam uma atmosfera de microaerofilia adequada.

Para cada lote de amostras colocadas em cultura devem ser incluídos controlos positivos e negativos adequados.

2.2. Confirmação e especiação do género *Campylobacter*

O isolamento e a confirmação dos organismos *Campylobacter* deve realizar-se de acordo com a norma ISO 10272-1:2006(E). Deve ser especiado pelo menos um isolado de *Campylobacter* por lote, utilizando-se métodos fenotípicos descritos na norma ISO 10272-1:2006(E) ou métodos moleculares publicados, como por exemplo as técnicas de reacção de polimerização em cadeia (PCR). Deve indicar-se o método utilizado. O isolado especiado deve ser utilizado para posteriores testes antimicrobianos.

Caso o laboratório tenha pouca experiência em especiação, deve armazenar o isolado do modo indicado em 2.4 enquanto aguarda formação suplementar ou enviá-lo para um laboratório mais experiente após consulta do laboratório comunitário de referência para *Campylobacter*.

2.3. Controlo de qualidade

Para efeitos de garantia da qualidade, deve ser enviada ao laboratório comunitário de referência para *Campylobacter* uma percentagem de isolados de *Campylobacter* spp. constituída por, no máximo, oito isolados para que se proceda à confirmação e à especiação.

Essa percentagem de isolados deve ser enviada ao laboratório, quer num só lote quer trimestralmente. Se os isolados tiverem de ser transportados entre laboratórios, devem utilizar-se condições adequadas (por exemplo, meio de transporte com carvão).

2.4. Armazenamento

Deve ser armazenado no LNR pelo menos um isolado por amostra positiva, recorrendo ao método normal para a colecção de culturas do LNR, desde que garanta a viabilidade das estirpes durante, pelo menos, dois anos.

2.5. Testes à resistência antimicrobiana

O número de isolados de *Campylobacter* a incluir na vigilância da resistência antimicrobiana por Estado-Membro deve ser de 170. Não se deve incluir na vigilância mais de um isolado por espécie de *Campylobacter* proveniente do mesmo lote para abate.

Nos Estados-Membros em que, num determinado ano, esteja disponível um número de isolados inferior à dimensão prevista da amostra, todos esses isolados deverão ser incluídos na vigilância da resistência antimicrobiana.

Nos Estados-Membros em que está disponível um número de isolados superior, usam-se todos os isolados ou uma selecção aleatória representativa de dimensão igual ou superior à prevista para a amostra.

Os Estados-Membros devem testar pelo menos os agentes antimicrobianos que estão especificados no quadro 1, usando os valores-limite apresentados, e uma gama de concentrações adequada para determinar a susceptibilidade de *Campylobacter*.

Quadro 1

	Agente antimicrobiano	Valor-limite (mg/L) R >
<i>Campylobacter jejuni</i>	Eritromicina	4
	Ciprofloxacina	1
	Tetraciclina	2
	Estreptomicina	2
	Gentamicina	1
<i>Campylobacter coli</i>	Eritromicina	16
	Ciprofloxacina	1
	Tetraciclina	2
	Estreptomicina	4
	Gentamicina	2

Os métodos de diluição devem ser realizados de acordo com os métodos descritos nas Directrizes M31-A3, 3ª edição, *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals* e nas Directrizes M100-S16, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing* do CLSI; *Sixteenth International Supplement*.

PARTE D

Colheita, manuseamento e análise de espécimes para a detecção de *Campylobacter* spp. e de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos

1. Colheita e transporte

Deve recolher-se uma carcaça inteira por lote para abate imediatamente após a refrigeração, mas antes de qualquer outro tratamento subsequente, tal como a congelação, o corte ou a embalagem. Em alguns matadouros, isto pode significar que as amostras são colhidas após a pré-refrigeração, quando se tratar do último passo antes dos tratamentos seguintes.

A amostra colhida deve ser colocada num saco de plástico estéril individual para evitar a contaminação cruzada e deve ser enviada ao laboratório onde se procederá à amostragem da pele.

Deve evitar-se que haja contaminação cruzada por outras carcaças ou amostras de cecos durante a recolha das carcaças. Por conseguinte, devem ser tomadas precauções em todas as fases para assegurar que o equipamento utilizado durante a amostragem, o transporte e o armazenamento não esteja contaminado pelos agentes patogénicos investigados no estudo.

A autoridade competente deve registar num formulário de amostragem todas as informações importantes que se possam obter da amostra, a fim de poder respeitar os requisitos de informação da parte E.

Cada amostra e respectivo formulário devem ser rotulados com um número único, que deve ser utilizado desde a fase da amostragem até à fase dos testes. A autoridade competente deve providenciar a implementação e a utilização de um sistema de numeração única. Para as amostras dos cecos, deve utilizar-se o mesmo identificador do lote para abate.

As amostras devem ser mantidas a temperaturas compreendidas entre + 2 e + 8 °C e devem estar isentas de contaminação externa durante o transporte.

Idealmente, todas as amostras devem chegar ao laboratório nas 24 horas seguintes à sua colheita. Em situações excepcionais (por exemplo, viagens longas, fins-de-semana e feriados) esse período pode ser alargado até 80 horas.

Caso sejam utilizados laboratórios diferentes para os testes a *Campylobacter* e a *Salmonella*, o laboratório que realiza os testes a *Campylobacter* deve ter prioridade na recepção da amostra.

2. Amostragem no laboratório e métodos analíticos

2.1. Recepção das amostras

Ao receberem as amostras, os laboratórios devem verificar as informações registadas pelo amostrador e preencher as secções pertinentes do formulário de amostragem.

As amostras serão mantidas a + 2-8 °C no laboratório, e o processo laboratorial deve começar o mais rapidamente possível após a chegada das amostras ao laboratório e num prazo não superior a 72-80 horas após a colheita.

2.2. Preparação das amostras

Todas as amostras recebidas devem ser examinadas para assegurar que a embalagem de transporte está intacta antes da realização dos testes.

O manuseamento de ser feito de forma a evitar, em todas as fases, a contaminação cruzada entre amostras e a partir do ambiente circundante.

Com luvas descartáveis, o técnico deve retirar o frango do saco, tendo o cuidado de não contaminar a superfície exterior do frango.

Utilizando um instrumento esterilizado e em condições de assepsia, a pele do pescoço deve ser removida, caso esteja presente, bem como a pele de um dos lados da carcaça evitando a gordura, juntando uma porção para teste de 27 g, colocando-a em seguida num saco de *Stomacher* (ou *Pulsifier*).

2.3. Suspensão inicial

A porção para teste de 27 g deve ser transferida para 9 volumes (243 ml) de água peptonada tamponada (BPW), à temperatura ambiente. A mistura deve ser tratada num *Stomacher* ou *Pulsifier* durante aproximadamente um minuto (são necessários 27 g para realizar em paralelo, a partir de uma amostra, as análises para detecção de *Salmonella* spp. e de *Campylobacter* spp.). Deve evitar-se a formação de espuma, retirando a maior quantidade de ar possível do saco de *Stomacher*.

Esta suspensão inicial deve ser usada do seguinte modo:

- a) Devem ser transferidos 10 ml (~1g) para 90 ml de um meio de enriquecimento para detecção de *Campylobacter* spp.;
- b) Devem transferir-se 10 ml (~1g) para um tubo vazio esterilizado; é utilizado 1 ml para contagem de *Campylobacter* spp. em placas selectivas.

O resto da suspensão inicial (250 ml ~ 25g) deve ser utilizado para detecção de *Salmonella* spp.

2.4. Métodos de detecção e identificação de *Salmonella* spp.

2.4.1. Detecção de *Salmonella* spp.

A detecção de *Salmonella* spp. deve efectuar-se de acordo com a norma ISO 6579-2002 (E). «Microbiologia de alimentos para consumo humano e para alimentação animal — Método horizontal para a detecção de *Salmonella* spp.».

2.4.2. Serotipagem de *Salmonella* spp.

O laboratório nacional de referência para *Salmonella* deve, para cada amostra positiva, fazer a tipagem de, pelo menos, um isolado utilizando o método de Kaufmann-White.

Para efeitos de garantia da qualidade, deve ser enviada ao laboratório comunitário de referência para *Salmonella* uma percentagem dos isolados não tipáveis, constituída por, no máximo, 16 isolados não tipáveis. Essa percentagem de isolados deve ser enviada ao laboratório trimestralmente.

2.4.3. Fagotipagem de *Salmonella* spp.

Recomenda-se a fagotipagem de pelo menos um isolado de cada amostra positiva de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, usando o protocolo definido pela Health Protection Agency (HPA), Colindale, Londres.

2.5. Métodos de detecção, identificação e quantificação de *Campylobacter* spp.

2.5.1. Detecção de *Campylobacter* spp.

O isolamento e a confirmação dos organismos *Campylobacter* deve realizar-se de acordo com a norma ISO 10272-1:2006(E). Deve ser especiado pelo menos um isolado de *Campylobacter* por lote, utilizando-se métodos fenotípicos descritos na norma ISO 10272-1:2006(E) ou métodos moleculares publicados, como por exemplo as técnicas de reacção de polimerização em cadeia (PCR). Deve indicar-se o método utilizado.

Para efeitos de garantia da qualidade, deve ser enviada ao laboratório comunitário de referência para *Campylobacter* uma percentagem de isolados de *Campylobacter* spp. constituída por, no máximo, oito isolados para que se proceda à confirmação e à especiação.

Essa percentagem de isolados deve ser enviada ao laboratório trimestralmente. Se os isolados tiverem de ser transportados entre laboratórios, devem utilizar-se condições adequadas (por exemplo, meio de transporte com carvão).

2.5.2. Quantificação de *Campylobacter* spp.

A detecção quantitativa de *Campylobacter* spp. deve efectuar-se de acordo com a norma ISO/TS 10272-2:2006 «Microbiologia de alimentos para consumo humano e para alimentação animal — Método horizontal para a detecção e contagem de *Campylobacter* spp. Parte 2: Técnica para a contagem de colónias». Partindo de 10 ml de suspensão inicial, examina-se 0,1 ml desta suspensão e de diluições subsequentes por forma a permitir uma contagem até 10^6 ufc/g. Além disso, examina-se 1 ml de suspensão inicial não diluída para obter um limite de contagem de 10 ufc/g. Todas as determinações em placa devem fazer-se em duplicado.

A fim de permitir a comparação e a apreciação correcta dos dados (em futuras avaliações dos riscos) deve estimar-se, em cada laboratório, a incerteza da medição (IM) do método de determinação quantitativa.

Para estimar a IM usa-se a especificação técnica ISO/TS 19036:2006, com a excepção de que, para esta estimativa, usam-se as diluições em paralelo da suspensão inicial.

A IM é derivada a partir do desvio padrão da reprodutibilidade interna do laboratório. Os dados para a estimativa da IM devem ser recolhidos entre Maio e Setembro para assegurar que se dispõe de amostras positivas. Devem examinar-se um total de 12 amostras positivas preparadas por diluição, em duplicado e em paralelo, a partir dos 10 ml de suspensão inicial. Os dados brutos da estimativa da IM devem ser comunicados em separado, como parte da descrição geral da implementação do estudo, tal como previsto na parte E.

3. Armazenamento dos isolados

Recomenda-se o armazenamento de um subconjunto representativo de isolados a fim de permitir, por exemplo, uma análise posterior da susceptibilidade antimicrobiana. Armazena-se um isolado por cada amostra positiva. Deve dar-se preferência ao isolado de *Campylobacter* obtido a partir da análise quantitativa. Os isolados devem ser armazenados no LNR, recorrendo ao método normal para a colecção de culturas do LNR, desde que garanta a viabilidade das estirpes durante, pelo menos, dois anos.

PARTE E

Relatórios

Devem elaborar-se relatórios que incluam, no mínimo, as seguintes informações:

1. Descrição geral da implementação de estudo

— Matadouros: total por país e quantos foram objecto de amostragem;

- Dimensão da amostra primária utilizada;
- Descrição dos procedimentos de estratificação e aleatorização;
- Descrição das actividades de controlo de qualidade, incluindo um relatório sobre as 12 estimativas da IM por laboratório para a quantificação de *Campylobacter*;
- Resultados globais.

2. Informações específicas relativamente aos dados de prevalência

Os Estados-Membros devem apresentar os resultados do estudo sob a forma de dados em bruto, recorrendo a um dicionário de dados e às fichas de recolha de dados facultadas pela Comissão.

Estes dados devem incluir, pelo menos:

- Nome/código do matadouro;
- Identificador do lote para abate;
- Nome/código da exploração de origem do lote para abate;
- Dimensão da exploração, se se souber;
- Estatuto do bando em termos de vacinação contra *Salmonella*, se se souber;
- Idade dos frangos aquando a amostragem (abate);
- Informações sobre se se trata do primeiro ou de um lote subsequente a ser abatido no bando em causa (antes do despovoamento ou não);
- Tipo de produção (ou seja, convencional, ao ar livre, biológica);
- Resultados de anteriores testes para detecção de *Salmonella* e *Campylobacter* no mesmo bando;
- Data da amostragem;
- Número de aves abatidas por ano no mesmo matadouro;
- Tipo de método de refrigeração utilizado (ar, imersão, *spray*);
- Pormenores do protocolo de transporte (segundo especificado: S/N);
- Data de recepção no laboratório;
- Data de realização dos testes;
- Identificação do laboratório;
- Tipo de amostra;
- Descrição dos métodos de cultura utilizados, em particular o ou os meios selectivos;
- Isolado de *Campylobacter*: método utilizado para especiação;

- *Campylobacter*: resultado dos testes bacteriológicos, incluindo a especificação a partir da amostra cecal;
 - *Campylobacter*: resultado dos testes bacteriológicos, incluindo a especificação e a quantificação a partir da amostra de carcaça;
 - *Salmonella*: resultado do teste bacteriológico e da serotipagem;
 - Tempo decorrido entre a colheita da amostra e a análise (por período de 12 h).
3. Informações específicas relativamente ao teste de resistência antimicrobiana de isolados de *Campylobacter* de amostras cecais

Os resultados da vigilância da resistência antimicrobiana devem ser avaliados e comunicados, em conformidade com o artigo 9.º da Directiva 2003/99/CE, no relatório anual sobre as tendências e origens das zoonoses, dos agentes zoonóticos e da resistência antimicrobiana.

Sem prejuízo das disposições do anexo IV da Directiva 2003/99/CE, devem ser comunicadas as seguintes informações:

- Origem dos isolados, ou seja, estudo de base, programa de controlo, vigilância passiva;
 - Número de isolados testados em termos de susceptibilidade, por espécie de *Campylobacter*;
 - Número de isolados detectados como resistentes, por agente antimicrobiano e por espécie de *Campylobacter*; e
 - Número de isolados totalmente susceptíveis e número de isolados resistentes a um, dois, três, quatro e a mais de quatro dos agentes antimicrobianos constantes do quadro 1, por espécie de *Campylobacter*.
-

ANEXO II

Participação financeira máxima da Comunidade a atribuir aos Estados-Membros

(EUR)

Estado-Membro	Montante total máximo do co-financiamento de amostragens e análises
Bélgica - BE	58 092
Bulgária - BG	58 092
República Checa - CZ	58 092
Dinamarca - DK	58 092
Alemanha - DE	58 092
Estónia - EE	14 688
Irlanda - IE	58 092
Grécia - EL	58 092
Espanha - ES	58 092
França - FR	58 092
Itália - IT	58 092
Chipre - CY	58 092
Letónia - LV	18 360
Lituânia - LT	58 092
Luxemburgo - LU	1 836
Hungria - HU	58 092
Malta - MT	58 092
Países Baixos - NL	58 092
Áustria - AT	58 092
Polónia - PL	58 092
Portugal - PT	58 092
Roménia - RO	58 092
Eslovénia - SI	58 092
Eslováquia - SK	58 092
Finlândia - FI	58 092
Suécia - SE	58 092
Reino Unido - UK	58 092
Total	1 429 092

ANEXO III

Relatório financeiro certificado sobre a realização de um estudo sobre a prevalência e a resistência antimicrobiana de *Campylobacter* spp. em bandos de frangos e sobre a prevalência de *Campylobacter* spp. e de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos

Período de incidência: de a

Declaração das despesas efectuadas com o estudo e elegíveis para participação financeira da Comunidade

Número de referência da decisão da Comissão relativa à participação financeira da Comunidade:

.....

Despesas relativas a funções em/por	Número de testes	Despesas totais com a realização de testes efectuadas durante o período de incidência (moeda nacional)
Detecção bacteriológica de <i>Campylobacter</i> spp.		
Detecção bacteriológica de <i>Salmonella</i> spp.		
Confirmação de <i>Campylobacter</i> spp.		
Especiação de isolados de <i>Campylobacter</i>		
Contagem de isolados de <i>Campylobacter</i>		
Serotipagem de isolados de <i>Salmonella</i>		
Testes à resistência antimicrobiana de isolados de <i>Campylobacter</i>		

Declaração do beneficiário

Certificamos que

- as despesas referidas supra são verdadeiras e estão relacionadas com as tarefas definidas na decisão, tendo sido essenciais para a realização dessas tarefas;
- todos os documentos justificativos das despesas estão disponíveis para efeitos de auditoria;
- não foi solicitada mais nenhuma participação comunitária para este programa.

Data:

Responsável financeiro:

Assinatura:
