

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

EDUARDA CRISTINA ALVES LOURENZATTO

PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Campylobacter jejuni* ORIUNDA DE ABATEDOUROS DE CARNE AVÍCOLA DA REGIÃO SUL DO BRASIL

Uberlândia
2022

EDUARDA CRISTINA ALVES LOURENZATTO

Perfil de resistência antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* oriunda de abatedouros de carne avícola da região sul do Brasil

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a obtenção do título de licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Roberta Torres de Melo.

Uberlândia

2022

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus, por ter me guiado e dado forças durante minha trajetória na graduação.

Aos meus pais, Álvaro e Lourdes por terem dedicado tantos recursos aos meus estudos, sem o apoio de vocês eu não teria chegado até aqui.

Ao meu amigo Phelipe, sem ele eu não teria a oportunidade de conhecer o Laboratório de Biotecnologia Aplicada (LABIO).

À minha orientadora Dr. Roberta Torres de Melo por ter me recebido e dedicado atenção durante as pesquisas, assim como, por todo o aprendizado e experiências que pude vivenciar.

À coordenadora do laboratório, professora Dr. Daise Aparecida Rossi, por todo tempo disponibilizado às minhas dúvidas.

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia Aplicada (LABIO), em especial à Micaela, Gabriela, Luma e Mariana, pelo companheirismo nas horas de estudos e práticas, pelas amizades feitas ali e que continuarão fora dali e por todo o conhecimento adquirido.

Aos técnicos e terceirizados que dispenderam tantas horas me auxiliando.

Aos membros do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pelo fornecimentos das cepas utilizadas nesse estudo.

Por fim, agradeço imensamente a Dr. Roberta Torres de Melo, a Dr. Lizandra Ferreira de Almeida e Borges e a Me. Micaela Guidotti Takeuchi por terem aceitado gentilmente o convite para compor a banca.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	2
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	4
2.1 AMOSTRAS.....	4
2.2 REATIVAÇÃO DAS CEPAS.....	4
2.3 PREPARAÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS E DOS COMPOSTOS.....	4
2.4 TESTE DE CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA (CIM) E BACTERICIDA (CBM) MÍNIMA.....	5
2.5 EFEITO ISOLADO E SINÉRGICO DOS COMPOSTOS METÁLICOS.....	5
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	6
3 RESULTADOS.....	6
4 DISCUSSÃO.....	7
5 CONCLUSÃO.....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13

1 **Perfil de resistência antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* oriunda de abatedouros de**
2 **carne avícola da região sul do Brasil**

3 Eduarda Cristina Alves Lourenzatto^a, Wendell Guerra^b, Daise Aparecida Rossi^c, Roberta Torres
4 de Melo^d

5 ^a Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

6 ^d Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

7 ^c Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas
8 Gerais, Brasil.

9 ^d Laboratório de Epidemiologia Molecular, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de
10 Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

11 *autor correspondente: roberta-melo@hotmail.com. Rua Ceará s/n, Blobo 2D sala 43, Campus
12 Umuarama, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

13 **Resumo**

14 **Objetivos:** Nossa abordagem incluiu a caracterização de parâmetros epidemiológicos e
15 a determinação do perfil de resistência de *C. jejuni* isoladas de carcaça de frangos a
16 antimicrobianos de primeira escolha no tratamento e a três compostos metálicos de
17 maneira isolada e em sinergismo aos antibióticos.

18 **Métodos:** Foram utilizadas 235 cepas de *C. jejuni* cedidas pelo Ministério da
19 Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), oriundas de frigoríficos do Sul do país.
20 Após reativação, as cepas foram submetidas à avaliação do perfil de susceptibilidade
21 antimicrobiana a ciprofloxacina (CIP), eritromicina (ERI), a dois complexos de cobre e
22 um complexo de platina pelo método de concentração inibitória e bactericida mínimas
23 (CIM/CBM). As análises foram feitas de forma isolada e conjugada.

24 **Resultado:** Detectamos que 53/235 (22,55%) cepas apresentaram co-resistência a CIP e
25 ERI. A resistência isolada à CIP foi maior (28,93% - 68/235) do que a ERI (12,76% -
26 30/235). A análise epidemiológica demonstrou que a co-sensibilidade foi destacada nos
27 três estados (p=0,0023), a resistência a CIP foi mais evidente no estado II (p<0,0001),

28 assim como uma maior susceptibilidade a ERI no estado III ($p=0,0028$). Os compostos
29 de cobre demonstraram efeito positivo no controle das três linhagens resistentes
30 selecionadas, já o composto de platina evidenciou seu efeito sinérgico com a CIP.

31 **Conclusão:** A co-resistência às drogas de escolha para tratamento da campilobacteriose
32 alertam para a emergência do problema no país. A efetividade dos compostos metálicos
33 no controle das linhagens mais resistentes traz a perspectiva de uma futura forma de
34 controle de *C. jejuni*.

35 **Palavras Chave:** Campilobacteriose, Ciprofloxacina, Compostos metálicos,
36 Eritromicina, Susceptibilidade antimicrobiana.

37 1. Introdução

38 *Campylobacter jejuni* é uma bactéria Gram negativa, não formadora de esporos,
39 pertencente à família *Campylobacteriaceae* que apresenta flagelo polar e morfologia de
40 bastonetes curvos em espiral ou em S [1]. São capazes de sobreviver à acidez estomacal
41 e à alcalinidade dos sais biliares, seguido da colonização do íleo e cólon e consequente
42 adesão e invasão das células intestinais, causando perturbações nas funções [2]. A
43 espécie *C. jejuni* tem como reservatório principal o trato gastrointestinal das aves onde
44 há multiplicação elevada desse micro-organismo sem desencadear resposta imunológica
45 no animal [3].

46 A infecção por *C. jejuni* é a causa mais comum de doenças gastrointestinais alimentares
47 agudas em humanos, em países desenvolvidos, em sua maioria contraídas pela ingestão
48 de produtos de origem animal, principalmente os de origem avícola [4], [5], [6], [7]. A
49 doença apresenta período de incubação de 2 a 4 dias e sintomas como dor abdominal,
50 diarreia geralmente sanguinolenta, febre, náusea e vômito [8]. Além das doenças
51 gastrointestinais, *C. jejuni* pode desencadear o desenvolvimento de síndromes auto-
52 imunes, como a síndrome de Guillain-Barré (SGB) [9].

53 No ano de 2019, a campilobacteriose foi responsável por 50% das notificações de
54 zoonoses gastrointestinais com mais de 220 mil casos confirmados na União Europeia
55 [10]. Nos Estados Unidos estima-se que cerca de 1,5 milhões de pessoas adoeçam de
56 infecções por *Campylobacter* spp. todos os anos [11]. Já no Brasil não há confirmações
57 de surtos por campilobacteriose em virtude da baixa notificação e pela desarticulação de
58 medidas e ações, além da dificuldade de isolamento para caracterização [12], [13]. A

59 importância do Brasil nesse contexto ocorre devido a posição de maior exportador de
60 carne de frango mundial, com 4.231 toneladas no ano de 2020 e com uma produtividade
61 crescente, atingindo no ano de 2020 a maior produção desde 2010. Apesar disso,
62 também não há dados oficiais a respeito da contaminação de carcaças de frangos [13],
63 [14], [15].

64 Paralelamente ao problema da subnotificação, temos a acentuada utilização de
65 antimicrobianos, relacionada ao uso indiscriminado no tratamento, metafilaxia e
66 profilaxia [16]. A resistência antimicrobiana (AMR) é classificada pela OMS como um
67 dos maiores problemas para a saúde pública mundial, além disso estima-se um aumento
68 no gasto anual de 1,2 trilhões de dólares para o desenvolvimento de novas drogas
69 eficazes no ano de 2050 [17]. Esse cenário promoveu a definição de gêneros bacterianos
70 classificados como de prioridade alta no desenvolvimento de novos medicamentos, dos
71 quais *Campylobacter* spp. está incluída [18].

72 Os principais grupos de antimicrobianos utilizados contra *Campylobacter* spp. são
73 macrolídeos e quinolonas, sendo exemplos desses grupos a eritromicina e
74 ciprofloxacina, respectivamente [19]. Os macrolídeos atuam sobre a síntese proteica
75 dependente de RNA, pois se ligam aos receptores da porção 50S do ribossomo e
76 impedem o processo de transpeptidação e translocação [20]. No caso das quinolonas há
77 a inibição da enzima topoisomerase II, que participa da duplicação do DNA bacteriano,
78 dessa forma a atuação do fármaco cessa a multiplicação bacteriana [21]. Ambos são
79 considerados de importância crítica para a medicina humana [22], no entanto, há
80 descrições de resistência à ciprofloxacina em 19 países da Europa e para eritromicina
81 em 16 desses países com casos de resistência mútua [23]. No Brasil, esse perfil de
82 resistência também é identificado em pesquisas pontuais, sendo avaliado pequenos lotes
83 em municípios isolados [15], [24], [25].

84 Diante dessa problemática, vê-se a necessidade de estudos acerca do monitoramento
85 quanto à resistência desse micro-organismo em um quantitativo expressivo e
86 representativo do país, além de avaliar a eficiência de drogas emergentes no controle
87 desse patógeno. Dessa forma, complexos metálicos vem sendo desenvolvidos para
88 diversas utilidades médicas, incluindo tratamentos de câncer e ação antimicrobiana para
89 diversas espécies, com destaque para os compostos de cobre e platina [26], [27], [28].

90 Considerando a atual realidade apresentada referente à resistência antimicrobiana, à
91 posição de destaque do país na exportação de carne de frango e este sendo o principal
92 veículo de transmissão de campilobacteriose aos humanos, aliados ao restrito
93 conhecimento acerca desse patógeno no Brasil, nossa abordagem incluiu avaliar a
94 situação de resistência de cepas representativas do território nacional frente aos
95 antimicrobianos eritromicina e ciprofloxacina, assim como determinar o efeito de novos
96 compostos metálicos em bactérias resistentes sob a óptica de antimicrobianos viáveis
97 além de uma análise epidemiológica acerca dos perfis de resistência identificados.

98

99 2. Métodos

100

101 2.1 Amostras

102 Foram utilizadas 235 cepas de *C. jejuni* previamente isoladas e identificadas e
103 pertencentes ao estudo exploratório realizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e
104 Abastecimento e mantidas no banco de cultura do Laboratório de Epidemiologia
105 Molecular da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de
106 Uberlândia. As cepas foram isoladas de carcaças de frangos oriundas de frigoríficos
107 exportadores com registro no SIF (Sistema de Inspeção Federal) de outubro de 2017 à
108 julho de 2018, de 43 municípios pertencentes a três estados brasileiros da região Sul
109 com importância expressiva na exportação, definidos como I, II e III.

110

111 2.2 Reativação das cepas

112 As amostras estocadas em crioprotetor enriquecido com leite UHT (Nestlé) foram
113 reativadas em *Campylobacter* Agar Base Blood Free (CCDA) (Oxoid®) e mantidas em
114 microaerofilia (Probac), a 37°C por 48 horas [29]. Após, as colônias típicas foram
115 analisadas morfológicamente quanto ao aspecto de bacilo Gram negativo curvo em
116 coloração de Gram.

117

118 2.3 Preparação dos antibióticos e dos compostos

119 Foram testados os antibióticos ciprofloxacina e eritromicina, assim como os compostos
120 a base de cobre denominados (1,10-phenanthroline) - (4,4,4-trifluoro-1-phenylbutane
121 1,3-dionato) ClO_4^- (CBP-01) (M.M.: 558,3506 g/mol), $[\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2]$
122 (DRI-12) (M.M.: 626,82 g/mol), e o composto a base de platina denominado
123 Platina(II)(5-amino-1,3,4-thiadiazole-2(3H) - thione) (1,10-phenanthroline) (WC-45)
124 (M.M.: 639,66 g/mol). Todos os agentes antimicrobianos foram preparados em uma
125 solução estoque de concentração 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

126

127 *2.4 Teste de concentração inibitória (CIM) e bactericida (CBM) mínima*

128 Os testes de susceptibilidade antimicrobiana das cepas foram feitos por meio do método
129 de microdiluição em caldo de acordo com a descrição do CLSI [30]. Para os testes com
130 antibióticos comerciais (CIP e ERI) foi preparado caldo Mueller-Hinton (MH) com a
131 adição de Ca^{2+} , Mg^{2+} (10mg/mL) e 5% de sangue desfibrinado de carneiro (Laborclin®)
132 e o mesmo meio com a adição da solução estoque de 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, assim como a
133 suspensão bacteriana (padronizada em NaCl 0,85% estéril). Resumidamente, a
134 suspensão bacteriana foi padronizada na concentração correspondente a 0,5 na escala
135 MacFarland, e utilizou-se as concentrações de 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 e 0,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dos
136 antimicrobianos. Após, a suspensão bacteriana foi inoculada e as microplacas incubadas
137 a 37°C por 48 horas. A leitura foi realizada visualmente com a determinação da CIM
138 como correspondente à menor concentração onde não foi observada alteração de
139 coloração do meio. Além disso, uma alíquota de 10 μL de cada inóculo diluído foi
140 plaqueada em CCDA para verificar o crescimento bacteriano (CBM) do respectivo poço
141 de diluição. Para todos os testes, foram utilizados controles negativos compostos pelo
142 meio sem adição de bactérias. Os pontos de corte ($\mu\text{g}/\text{mL}$), de acordo com a CLSI, que
143 foram considerados para classificar as cepas como resistentes são: Ciprofloxacina > 0,5
144 e Eritromicina > 4.

145

146 *2.5 Efeito isolado e sinérgico dos compostos metálicos*

147 Três cepas que expressaram perfis de resistência aos antimicrobianos comerciais nas
148 maiores concentrações, genotípica e fenotipicamente distintas (dados não

149 demonstrados) e oriundas dos diferentes estados brasileiros foram selecionadas para os
150 testes com os compostos metálicos.

151 Os ensaios isolados foram feitos da mesma forma descrita para os antibióticos
152 comerciais nas mesmas concentrações de 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 e 0,25 µg/mL. Já os
153 ensaios de efeito sinérgico foram realizados com os antibióticos comerciais diluídos da
154 mesma forma supramencionada, adicionados de 10 µM de cada um dos compostos
155 metálicos avaliados separadamente e cuja concentração foi definida conforme
156 resultados obtidos em teste-piloto, correspondente a [CBP-01] = 0,013 µg/mL, [DRI-12]
157 = 0,015 µg/mL e [WC-46] = 0,015 µg/mL.

158

159 *2.6 Análise Estatística*

160 Os resultados foram tabulados e submetidos a estatística descritiva com cálculo do
161 percentual de resistência para cada antimicrobiano e cada perfil de resistência
162 identificado. Análises comparativas quanto a origem e época de isolamento foram
163 realizadas por meio de tabela de contingência e aplicação do teste de Fisher na
164 identificação de potenciais fatores determinantes da resistência em nível local e sazonal.
165 Para os testes comparando duas variáveis foi utilizado o teste de Fischer considerando
166 os cruzamentos entre as formulações. Todos os ensaios com os complexos metálicos
167 foram feitos em triplicata e a estatística comparativa foi feita por meio da aplicação de
168 teste ANOVA para resultados que apresentaram distribuição gaussiana e para
169 determinar o complexo mais eficiente. Os testes serão realizados pelo programa Graph
170 Pad Prism 8.0.1, com intervalo de confiança de 95%.

171

172 **3. Resultados**

173 Os dados obtidos de resistência antimicrobiana para CIP e ERI estão dispostos na
174 Tabela 1. A resistência somente a CIP (68/235 –28,93%) foi significativamente superior
175 a ERI (30/235 –12,76%). Quando consideramos que os valores do perfil 1 também
176 fazem parte dos perfis 2 e 3, já que essas cepas são resistentes à ambos antimicrobianos

177 também observamos valores maiores para resistência a CIP (121/235) quando
 178 comparado a ERI (83/235). Apesar disso, os resultados de CIM₅₀ e CIM₉₀ demonstram a
 179 necessidade de concentrações expressivas de ERI (4 e >32mg/L, respectivamente),
 180 sendo duas ou pelo menos quatro vezes maior que a CIM₅₀ e a CIM₉₀ identificadas para
 181 CIP (2 e 8mg/L, respectivamente).

182 **Tabela 1:** Distribuição da frequência e percentuais referentes às CIM, CIM₅₀ e CIM₉₀ (mg/L) em *C. jejuni*
 183 isoladas de carcaças de frangos no Brasil.

Concentração (mg/L)	CIP n (%)	ERI n (%)
0,25	39 (16,59%)	14 (5,95%)
0,5	18 (7,65%)	8 (3,40%)
1	57 (24,25%)	30 (12,76%)
2	60 (25,53%)	42 (17,87%)
4	33 (14,04%)	40 (17,02%)
8	20 (8,51%)	18 (7,65%)
16	4 (1,70%)	5 (2,12%)
32	4 (1,70%)	1 (0,42%)
>32	-	77 (32,76%)
R (%)	121 ^a (51,48%)	83 ^b (35,31%)
CIM₅₀	2	4
CIM₉₀	8	>32

184 R (%): número e percentual de cepas resistentes, n (%): número e percentual de cepas distribuídas nas
 185 diferentes concentrações dos antimicrobianos testados. Destaque em cinza: cepas resistentes. ^{a,b}: p=0,0006,
 186 teste de Fisher.
 187

188 As frequências e percentuais dos perfis de resistência encontrados para as 235 cepas de
 189 *C. jejuni* estão descritos na Tabela 2 e discriminados de acordo com as características
 190 epidemiológicas avaliadas.

191 **Tabela 2.** Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *C. jejuni* isolados de carcaça de frango discriminados
 192 por estado e estação do ano.

Fator epidemiológico	Perfis de resistência antimicrobiana – n (%)				Total
	Perfil 1: CIP/ERI	Perfil 2: CIP	Perfil 3: ERI	Perfil 4: Sensíveis	
Estados					
I	29 (31,18%)	21 (22,58%)	24 (25,80%)	19 (20,43%)	93
II	15 (18,29%)	33 (40,24%)	6 (7,31%)	28 (34,14%)	82
III	9 (15%)	14 (23,33%)	0 (0,00%)	37 (61,66%)	60
Total	53 (22,55%)	68 (28,93%)	30 (12,76%)	84 (35,74%)	235
Estações do ano					
Primavera	30 (22,72%)	43 (32,57%)	12 (9,09%)	47 (35,60%)	132
Verão	3 (7,31%)	12 (29,26%)	6 (14,63%)	20 (48,78%)	41
Outono	18 (32,14%)	12 (21,42%)	9 (16,07%)	17 (30,35%)	56
Inverno	2 (33,33%)	1 (16,66%)	3 (50%)	0 (0,00%)	6
Total	53	68	30	84	235

193 n (%): número e percentual de cepas distribuídas de acordo com os perfis e o caráter epidemiológico.

194

195 Das 235 cepas, 53 (22,55%) apresentaram resistência mútua a CIP e ERI, 68 (28,93%)
196 foram resistentes somente a CIP, 30 (12,76%) somente a ERI e 84 (35,74%) sensíveis
197 aos dois antibióticos. Além disso, observamos que a resistência exclusiva à ERI foi
198 inferior aos demais perfis identificados ($p=0,0075$, teste de Fisher) e que o perfil que
199 inclui as cepas sensíveis foi o mais prevalente ($p=0,0023$, teste de Fisher).

200 A nível epidemiológico, a co-resistência foi expressiva ($p=0,0342$, teste de Fisher) no
201 estado I (29/93 – 54,71%) em detrimento ao estado III (9/60 – 15,00%). De maneira
202 geral a resistência a CIP (33/68 – 48,52%) foi superior a ERI (6/30 – 20,00%),
203 especialmente para o estado II ($p<0,0001$, teste de Fisher). Assim como no estado III,
204 onde a menor resistência a ERI (0/60 – 0,00%) foi significativa quando comparamos aos
205 outros três perfis discriminados ($p=0,0028$). Cabe ressaltar que no estado I
206 identificamos a menor frequência de cepas com o perfil 4 (susceptíveis) (19/93 –
207 20,43%).

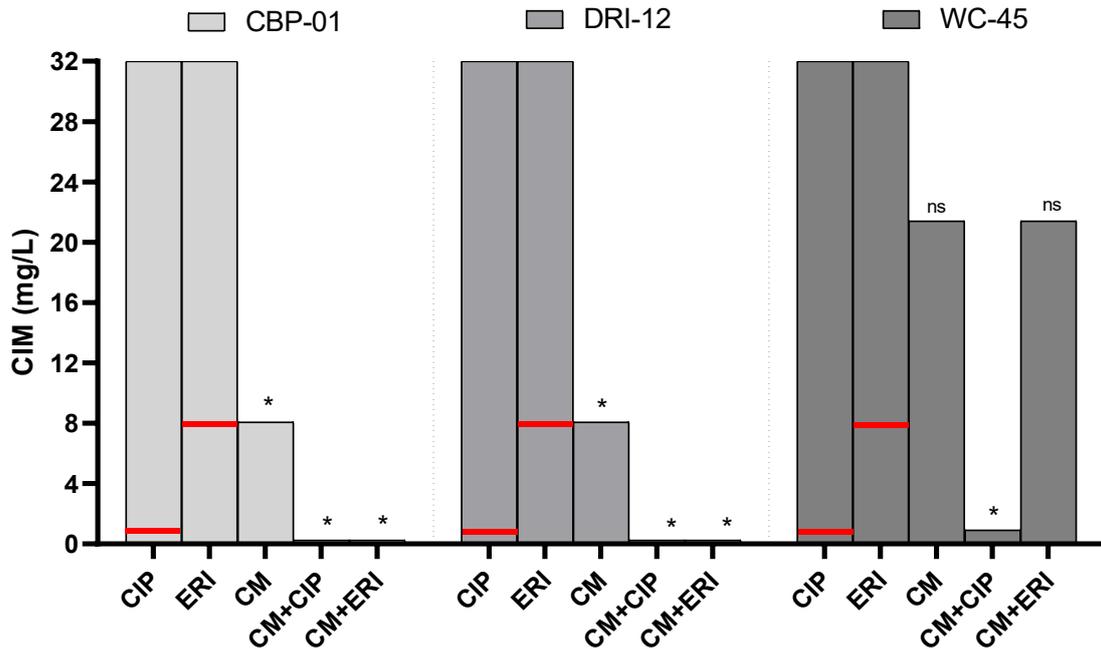
208 Em relação à sazonalidade, observamos que o perfil P4 foi significativamente mais
209 prevalente no verão (20/41 – 48,78%), em relação aos perfis P1 (3/41 – 7,31%)
210 ($p<0,0001$) e P3 (6/41 – 14,63%) ($p=0,0017$). Já na primavera, a resistência exclusiva a
211 ERI (12/132 – 9,09%) foi inferior aos demais perfis ($p=0,0038$). Além disso, a
212 primavera ($p=0,0386$) e o outono ($p=0,0052$) foram as estações que mais identificamos
213 cepas co-resistentes, (30/132 – 22,72%) e (18/56 – 32,14%), respectivamente.

214 A Figura 1 traz uma análise comparativa em relação ao efeito dos complexos metálicos
215 em três cepas de *C. jejuni* que apresentaram as maiores resistências aos antimicrobianos,
216 sendo CIM à CIP (32mg/L) e à ERI (≥ 32 mg/L).

217 A análise dos compostos metálicos demonstrou variações positivas nas CIM tanto no
218 uso isolado quanto sinérgico, de maneira a mostrar maior susceptibilidade das cepas em
219 uma análise geral. Das três cepas testadas, obtivemos, para o uso isolado do CBP-01 e
220 DRI-12, valores de CIM iguais à 0,25, 16 e 32 mg/L, enquanto que nos testes isolados
221 com WC-46 a CIM foi equivalente a 0,25 para uma cepa e >32 mg/L para as outras
222 duas. Em sinergismo, a CIM identificada para CIP e ERI em associação aos complexos
223 de cobre (DRI-12 e CBP-01) reduziu para 0,25mg/L para as três cepas. Já o efeito
224 sinérgico de WC-46 promoveu a redução da CIM para CIP para 0,25, 0,5 e 2mg/L, e
225 para WC-46+ERI a alteração só foi identificada em uma das cepas cuja CIM reduziu
226 para 0,25mg/L.

227 Os dados da Figura 1 deixam evidente que os três compostos metálicos foram utilizados
228 em menores valores de CIM para o controle das três cepas em uma análise agrupada dos
229 resultados, tanto para o uso isolado quanto sinérgico aos antimicrobianos em
230 comparação à CIP e ERI testados isoladamente. O efeito de ambos os complexos de
231 cobre, CBP-01 e DRI-12, foram idênticos e expressaram valores médios de CIM
232 (8,0mg/L) inferiores aos encontrados para CIP (32mg/L) e ERI (>32mg/L),
233 isoladamente ($p=0,0469$). Em sinergia com CIP e ERI, ambos os compostos de cobre
234 atuaram de maneira significativa ($p=0,0336$), de maneira a alterar a classificação das
235 cepas de resistentes para susceptíveis (CIM = 0,25mg/L) de acordo com os pontos de
236 corte de CIP e ERI. Já o complexo WC-46 apresentou efeito inferior, de maneira que a
237 diferença significativa só foi identificada quando em sinergia com CIP (CIM=1mg/L)
238 ($p=0,0367$).

239



241

242

243 **Figura 1.** Efeito do tratamento antimicrobiano com e sem adição dos complexos metálicos (CM) em três
 244 cepas de *C. jejuni*. * $p < 0,05$, ^{ns} $p > 0,05$, teste Mann-Whitney na comparação com CIP e ERI isoladas. Linha
 245 vermelha: pontos de corte para ERI e CIP de acordo com o CLSI (2005). ns: não significativo.
 246

247 4. Discussão

248 A campilobacteriose é uma doença transmitida por alimentos (DTA) com grande
 249 impacto mundial. Dessa forma, o comércio e consumo de produtos de origem animal
 250 necessita de fiscalização e acompanhamento contínuo, na tentativa de evitar
 251 contaminações. A produção de alimentos de origem animal no Brasil é expressiva de
 252 maneira a destacá-la no comércio exportador, especialmente de produtos avícolas, os
 253 mais envolvidos em contaminação por *Campylobacter* resistentes a antimicrobianos
 254 [8], [9].

255 A partir do nosso estudo foi possível identificar maior número de resistentes em dois
 256 dos três estados avaliados (I e II), podendo haver ligação com o fato do estado III

257 apresentar melhor estruturação de acompanhamento quanto ao uso de antimicrobianos.
258 Além disso, outros estados como Distrito Federal e Goiás, demonstram quadros
259 parecidos com o apresentado no presente estudo, demonstrando a necessidade de
260 acompanhamento [24], [31].

261 Nossos resultados demonstraram alto percentual de resistência à eritromicina (83/235-
262 35,31%) e a ciprofloxacina (121/235-51,48%), sendo drogas muito utilizadas na rotina
263 da medicina veterinária e humana, além disso esses antimicrobianos são classificados
264 pelo Food Safety and Inspection Service (FSIS) como sendo de importância crítica nas
265 áreas citadas [22].

266 A resistência antimicrobiana é um problema mundial, considerado de extrema
267 importância pela Organização mundial de saúde (OMS), já que existem estimativas
268 que até o ano de 2050 o número de mortes por inexistência de tratamentos eficazes
269 chegará à 10 milhões de pessoas. Ademais, a cada ano 480 mil pessoas tem quadros
270 agravados devido à ineficácia de tratamentos, dificultando cada vez mais os
271 tratamentos de imunosuprimidos. Além da dificuldade de tratamentos, a OMS
272 identificou, no ano de 2019, 32 antibióticos para o combate de micro-organismos
273 resistentes, no entanto apenas 6 eram considerados inovadores, indicando que o
274 desenvolvimento de drogas com princípios ativos novos são baixos [17]. Com base
275 nesse cenário a indústria alimentícia e produtores já recebem orientações da OMS
276 sobre o uso indiscriminado de antibióticos, na tentativa de reduzir a velocidade de
277 resistência [32]. Por esse motivo é de extrema importância o monitoramento e
278 avaliação de resistência nos principais estados exportadores de produtos alimentícios
279 de origem animal.

280 A sazonalidade do micro-organismo em relação à prevalência é descrita em países de
281 clima temperado, sendo a frequência maior em meses do verão. No entanto há estudos

282 que ressaltam a necessidade de avaliação da sazonalidade em regiões tropicais, já que
283 não há tanta variação de temperatura. No Brasil há estudos que demonstram influência
284 da sazonalidade [33], mas também há casos que não detectam modificações no
285 número de casos ao longo do ano [31]. Há a possibilidade do nosso estudo ter
286 encontrado similaridade aos dados de alguns locais brasileiros e da Europa devido às
287 características do clima sulista, já que esse apresenta-se bem definido ao longo do ano,
288 no entanto ainda há necessidade de estudos futuros para uma melhor caracterização do
289 efeito sazonal.

290 Já os estudos relacionados ao perfil de resistência das cepas não avaliam a influência
291 da sazonalidade na resistência à antibióticos. Nosso estudo observou que as estações
292 com maior número de cepas resistentes foram a primavera (132/235) e o outono
293 (56/235).

294 A avaliação das cepas isoladas dos três estados no Brasil que apresentam relevância na
295 produção de carne avícola demonstra um quadro preocupante já que grande parte
296 dessas apresentaram resistência à ambos os antibióticos ou a algum deles. Além disso,
297 é possível encontrar o mesmo cenário em países como Estados Unidos, Tailândia,
298 Vietnã e Malásia, como também em cidades brasileiras como Distrito Federal e
299 Goiânia [34], [35], [24], [25].

300 Os complexos metálicos se apresentam como alternativas para tratamentos, podendo
301 ser utilizados como novas fontes de antimicrobianos e para o tratamento de câncer
302 [26], [27]. Em específico os complexos de cobre e platina já demonstram resultados
303 promissores, sendo os complexos de cobre eficazes em um grande espectro de
304 atividades antimicrobianas que inclui bactérias Gram positivas e Gram negativas [36]
305 enquanto os complexos de platina apresentam bons resultados para tratamentos de
306 câncer, como antiparasitários e antimicrobianos, especificamente no combate à

307 linhagens resistentes de *Escherichia coli* [37]. Nosso estudo mostrou que os
308 compostos de cobre foram mais eficientes que o de platina, podendo ser devido ao
309 dano decorrente do processo de oxidação do cobre, que pode afetar lipídeos, proteínas,
310 DNA e outras biomoléculas bacterianas [38]. O efeito sinérgico encontrado é reflexo
311 do amplo espectro de atuação, assim como da maior atividade do composto metálico,
312 sendo possível encontrar casos de amplificação da atividade [37].

313 5. Conclusão

314 As análises de resistência antimicrobiana demonstraram que cepas isoladas de um dos
315 estados avaliados demonstraram maior susceptibilidade antimicrobiana e cepas oriundas
316 dos períodos de outono e primavera apresentaram maior resistência a CIP e ERI. Como
317 alternativa, o uso de compostos de cobre no controle de *C. jejuni* se mostrou promissor
318 e dependente de avaliações mais robustas para confirmação, tanto isolado quanto em
319 sinergia com ERI e CIP. Já o composto de platina indicou efeito promissor quanto em
320 combinação com a CIP. Os dados demonstraram necessidade de acompanhamento
321 efetivo e de implementação de medidas inovadoras para o controle desse patógeno.

322

323 Referências

- 324 1. Dos Santos JFA. Caracterização de isolados de *Campylobacter jejuni* de origem animal e humano
325 quanto aos seus factores genéticos de virulência. Universidade Técnica de Lisboa, [s.i.], 2011. Disponível
326 em: < https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/6347/1/ulfc092804_tm_jose_santos.pdf >. Acessado em 04
327 de novembro de 2021.
- 328 2. Ketley JM. Pathogenesis of enteric infection br *Campylobacter*. *Microbiol* 1997; 143(1): 5-21. doi:
329 10.1099/00221287-143-1-5. Disponível em: <
330 <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.587.5850&rep=rep1&type=pdf>> Acessado em:
331 19 de outubro de 2021.

332 3. Feistel JC, Rezende CSM, Oliveira JJ, Oliveira AP, Moreira NM. Mecanismos de patogenicidade de
333 *Campylobacter* spp. isoladas em alimentos. *EnciBio* 2013; 9(17): 1861. Disponível em: <
334 <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20AGRARIAS/Mecanismos.pdf>>. Acessado
335 em: 19 de outubro de 2021.

336 4. Mazick A, Ethelberg S, Nielsen EM, Mølbak K, & Lisby M. An outbreak of *Campylobacter jejuni*
337 associated with consumption of chicken, Copenhagen. *Euro surveillance* 2005; 11(5): 137-139. doi:
338 10.2807/esm.11.05.00622-en.

339 5. Jiménez M, Soler P, Venanzi JD, Canté P, Varela C, Martínez Navarro F. An outbreak of
340 *Campylobacter jejuni* enteritis in a school of Madrid, Spain. *Euro Surveill.* 2005; 10(4):118-121.6.
341 Gutierrez CAC, Paasch MLH, Calderon ANL. Salmonelosis y campilobacteriosis, las zoonosis
342 emergentes de mayor expansión en el mundo. *Vet. Méx* 2008; 39(1): 81-90. Disponível em: <
343 [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922008000100007&lng=es&nrm=iso)
344 [50922008000100007&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922008000100007&lng=es&nrm=iso)>. Acessado em 03 de outubro de 2021.

345 7. Steinhäuserová I, Cesková I, Nebola M. PCR/restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing
346 of human and poultry *Campylobacter jejuni* strains. *Lett Appl Microbiol* 2002; 34(5):354-8. doi:
347 10.1046/j.1472-765x.2002.01096.x.

348 8. Center for Disease Control and Prevention (CDC), *Campylobacter -Campylobacteriosis*. 2017.
349 Disponível em: <<https://www.cdc.gov/campylobacter/technical.html>> Acessado em 29 setembro de 2019.

350 9. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, & Man SM. Global Epidemiology of
351 *Campylobacter* Infection. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28(3):687–720. doi: 10.1128/CMR.00006-15.

352 10. Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e Centro Europeu para a Prevenção e Controle
353 de Doenças (EFSA e ECDC). Relatório sobre Zoonoses da União Europeia One Health 2020. *EFSA*
354 *Journal* 2021; 19 (2): 6406. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6406.

355 11. Center for Diseases Control and Prevention (CDC). (2019). *Campylobacter (Campylobacteriosis) –*
356 *Information for Health Professionals*. Disponível em: <
357 [https://www.cdc.gov/campylobacter/technical.html#:~:text=Active%20surveillance%20through%20the%](https://www.cdc.gov/campylobacter/technical.html#:~:text=Active%20surveillance%20through%20the%20Foodborne,from%20Campylobacter%20infection%20every%20year.>)
358 [20Foodborne,from%20Campylobacter%20infection%20every%20year.>](https://www.cdc.gov/campylobacter/technical.html#:~:text=Active%20surveillance%20through%20the%20Foodborne,from%20Campylobacter%20infection%20every%20year.>). Acessado em 08 de março de
359 2022.

360 12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância
361 Epidemiológica. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por
362 alimentos / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância
363 Epidemiológica. 2010: 158. Disponível em:
364 https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf.
365 Acessado em 05 de novembro de ²⁰²¹.

366 13. Oliveira JJ, Rezende CSM, Feistel JC, Moreira NM, Oliveira AP. *Campylobacter* spp. e sua
367 ocorrência em abatedouros de aves. *EnciBio* 2013; 9(16): 517. Disponível em: <
368 <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/Campylobacter.pdf>>. Acessado em 07 de dezembro
369 de ²⁰²¹.

370 14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico
371 laboratorial de *Campylobacter*: gênero *Campylobacter*: diagnóstico laboratorial clássico e molecular /
372 Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de
373 Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz 2011:40. Disponível em:
374 https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_sistema_nacional.pdf. Acessado em 04 de
375 novembro de ²⁰²¹.

376 15. Alves J, Oliveira TCRM. Presença de *Campylobacter* spp. em cortes refrigerados de frango. *Semina:*
377 *Ciências Agrárias* 2013;34(6): 2829-2836. doi: 10.5433/1679-0359.2013v34n6p2829.

378 16. Silva RA. A resistência a antimicrobianos: revisão sobre o uso de antibióticos em animais e a
379 resistência em humanos. Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio
380 de Janeiro: 2019. Disponível em:
381 <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/48756/2/rafael_almeida_silva_ensp_mest_2019.pdf>.
382 Acessado em 04 de novembro de ²⁰²¹.

383 17. World Health Organization – WHO, Antimicrobial resistance. (2021). Disponível em: <
384 <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>>. Acessado em 01 de novembro de ²⁰²¹.

385 18. Organização Pan-Americana de Saúde – OPAS, Resistência antimicrobiana. Disponível em: <
386 <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>>. Acessado em 01 de novembro de ²⁰²¹.

- 387 19. Melo VV, Duarte I de P, Soares AQ. Guia Antimicrobianos. Universidade Federal de Goiás, Goiânia,
388 2012. Disponível em:
389 <https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1415789307Guia_de_Antimicrobianos_do_HC-UFG.pdf>.
390 Acessado em 02 de outubro de ²⁰²¹.
- 391 20. Iriarte, D. F. Resistência bacteriana aos macrolídeos: um olhar sobre a azitromicina. Universidade
392 Federal de São Carlos, São Carlos, 2020. Disponível em: <
393 [https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/13515/TCC.%20Daniel%20Iriarte.pdf?sequence=1&i](https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/13515/TCC.%20Daniel%20Iriarte.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
394 [sAllowed=y](https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/13515/TCC.%20Daniel%20Iriarte.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acessado em 02 de outubro de ²⁰²¹.
- 395 21. Machado OVO, Patrocínio MCA, Medeiros MS, Bandeira TJPG. Antimicrobianos: revisão geral para
396 graduandos e generalistas. EdUnichristus 2019. 452. Disponível em: < [https://unichristus.edu.br/wp-](https://unichristus.edu.br/wp-content/uploads/2020/10/Antimicrobianos-Revis%C3%A3o-Geral-para-Graduandos-e-Generalistas.pdf)
397 [content/uploads/2020/10/Antimicrobianos-Revis%C3%A3o-Geral-para-Graduandos-e-Generalistas.pdf](https://unichristus.edu.br/wp-content/uploads/2020/10/Antimicrobianos-Revis%C3%A3o-Geral-para-Graduandos-e-Generalistas.pdf)>.
398 Acessado em 12 de outubro de ²⁰²¹.
- 399 22. Food Safety and Inspection Service –FSIS, Raw Chicken Carcasses Sampling Data. (2020).
400 Disponível em: < [https://www.fsis.usda.gov/science-data/data-sets-visualizations/laboratory-sampling-](https://www.fsis.usda.gov/science-data/data-sets-visualizations/laboratory-sampling-data)
401 [data](https://www.fsis.usda.gov/science-data/data-sets-visualizations/laboratory-sampling-data)>. Acessado em 10 de fevereiro de ²⁰²².
- 402 23. Whitehouse CA, Zhao S, Tate H. Antimicrobial Resistance in Campylobacter Species: Mechanisms
403 and Genomic Epidemiology. Adv Appl Microbiol 2018; 103: 1-47. doi: 10.1016/bs.aambs.2018.01.001
- 404 24. Moura HM. Isolamento e análise de resistência a antimicrobianos de cepas de Campylobacter jejuni
405 em amostras de carne de aves resfriadas comercializadas no Distrito Federal. Universidade de Brasília,
406 Brasília, 2010. Disponível em: < <https://repositorio.unb.br/handle/10482/13956>>. Acessado em 22 de
407 outubro de 2021.
- 408 25. Almeida AP, Cruvinel, NT. Pesquisa de Campylobacter spp. em carcaça de frango comercializado em
409 Goiânia, Goiás. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017. Disponível em: <
410 [https://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/12329/5/TCCG%20-%20Nutri%C3%A7%C3%A3o%20-](https://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/12329/5/TCCG%20-%20Nutri%C3%A7%C3%A3o%20-%20Ana%20Paula%20de%20Almeida%20-%202017.pdf)
411 [%20Ana%20Paula%20de%20Almeida%20-%202017.pdf](https://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/12329/5/TCCG%20-%20Nutri%C3%A7%C3%A3o%20-%20Ana%20Paula%20de%20Almeida%20-%202017.pdf)>. Acessado em: 18 de fevereiro de ²⁰²².
- 412 26. Machado PHA, Paixão DA, Lino RC, Souza TR, Bontempo NJS, Sousa LM, et al. A selective
413 Cu^{II} complex with 4-fluorophenoxyacetic acid hydrazide and phenanthroline displays DNA-cleaving and
414 pro-apoptotic properties in cancer cells. Sci Rep 2021; 11: 24450. doi: 10.1038/s41598-021-03909-1 .

415 27. Silva PB. Síntese, caracterização e investigação das atividades biológicas de complexo de cobre II
416 contendo moléculas bioativas e ligantes nitrogenados. Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita
417 Filho”, Araraquara, 2012. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/97936>. Acessado em:
418 10 de fevereiro de 2022.

419 28. Neto EAB, Ribeiro C, Zucolotto V. Síntese de Nanopartículas de Prata para Aplicação na Sanitização
420 de Embalagens (Manual Técnico) 2008; 1-4. Disponível em: <
421 https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPDIA-2009-09/11896/1/CT99_2008.pdf>. Acessado
422 em 03 de março de 2022.

423 29. International Standards Organization- ISO 10272-1. Microbiology of food and animalfeeding stuffs -
424 horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: detection method.
425 (2006). Disponível em: < <https://www.iso.org/standard/37091.html>>. Acessado em 15 de fevereiro de 2022.

426 30. Ministério da Saúde - CLSI. (2005). Disponível em:
427 https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/metodo_ref_testes_diluicao_modulo4.pdf. Acessado em 12
428 de outubro de 2021.

429 31. Oliveira JJ. Isolamento e caracterização de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango e ovo
430 comerciais. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014. Disponível em: <
431 [https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/7868/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-](https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/7868/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Julierme%20Jos%C3%A9%20de%20Oliveira%20-%202014.pdf)
432 [%20Julierme%20Jos%C3%A9%20de%20Oliveira%20-%202014.pdf](https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/7868/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Julierme%20Jos%C3%A9%20de%20Oliveira%20-%202014.pdf)>. Acessado em 20 de outubro de
433 2021.

434 32. Conselho Regional de Medicina do Estado do Paraná –CRM/PR, Boletim de perfil de resistência.
435 (2018). Disponível em: <[https://www.crmpr.org.br/Estado-publica-boletim-de-perfil-de-resistencia-aos-](https://www.crmpr.org.br/Estado-publica-boletim-de-perfil-de-resistencia-aos-antibioticos-11-49166.shtml)
436 [antibioticos-11-49166.shtml](https://www.crmpr.org.br/Estado-publica-boletim-de-perfil-de-resistencia-aos-antibioticos-11-49166.shtml)>. Acessado em 12 de janeiro de 2022.

437 33. Veras HN. Diagnóstico molecular e detecção de genes de virulência de *Campylobacter jejuni* em
438 crianças com diarreia moderada a severa na cidade de Fortaleza-CE, Brasil. Universidade Federal do
439 Ceará, Fortaleza, 2016. Disponível em: < <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/23695> >. Acessado em 13
440 de fevereiro de 2022.

- 441 34. Zhao S, Young SR, Tong E, Abbott JW, Womack N, Friedman SL, McDermott PF. Antimicrobial
442 resistance of *Campylobacter* isolates from retail meat in the United States between 2002 and 2007. *Appl*
443 *Environ Microbiol* 2010; 76(24):7949-56. doi: 10.1128/AEM.01297-10.
- 444 35. Nhung, N.T.; Cuong, N.V.; Thwaites, G.; Carrique-Mas, J. Antimicrobial Usage and Antimicrobial
445 Resistance in Animal Production in Southeast Asia: A Review. *Antibiotics* 2016; 5(4):37. doi:
446 <https://doi.org/10.3390/antibiotics5040037>.
- 447 36. Junior BPC, Favarin LRV, Santos AF, Biscoli LO, Gonçalves A, Anjos A. Análise da atividade
448 antimicrobiana em complexos de cobre (I) contendo ligantes tiocarbamoil-pirazolinas. *Soc Bras de Quim.*
449 Disponível em: < <http://www.s bq.org.br/37ra/cdrom/resumos/T0349-1.pdf>>. Acessado em 03 de
450 fevereiro de 2022.
- 451 37. Rocha DP, Pinto GF, Ruggiero R, Oliveira CA, Guerra W, Fontes APS. Coordenação de metais a
452 antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana Revisão. *Quím. Nova* 2011; 34 (1).
453 doi: 10.1590/S0100-40422011000100022 .
- 454 38. Ribeiro VF. Desenvolvimento de compósitos antimicrobianos a base de SEBS/PP aditivados com
455 partículas de cobre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019. Disponível em:
456 <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/206080/001112323.pdf?sequence=1>. Acessado em 05
457 de março de 2022.