

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AMANDA LUIZA PEREIRA DE SOUSA

**DESAFIOS PARA CONTROLE DE BIOFILMES DE *Campylobacter jejuni*: AÇÃO DE
NOVOS COMPOSTOS**

**UBERLÂNDIA
2025**

AMANDA LUIZA PEREIRA DE SOUSA

**DESAFIOS PARA CONTROLE DE BIOFILMES DE *Campylobacter jejuni*: AÇÃO DE
NOVOS COMPOSTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
– FMVZ, da Universidade Federal de
Uberlândia - UFU, como requisito parcial para
aprovação na disciplina de Trabalho de
Conclusão de Curso II.

Orientador(a): Daise Aparecida Rossi

Coorientador(a): Médica Veterinária MSc
Letícia Roberta Martins Costa

UBERLÂNDIA

2025

AGRADECIMENTOS

Chegar até aqui, à conclusão do curso de Medicina Veterinária, é a realização de um sonho construído com muito esforço, dedicação, noites sem dormir, desafios superados e também muitas alegrias. Nenhuma conquista é alcançada sozinha, e por isso, neste momento tão especial, faço questão de expressar minha profunda gratidão àqueles que foram importantes em minha caminhada.

Primeiramente, agradeço a Deus, que esteve comigo em cada passo dessa jornada. Foi Ele quem me deu forças quando pensei em desistir, quem me guiou nos momentos de dúvida e me concedeu sabedoria e serenidade diante das dificuldades. Sua presença me deu coragem para enfrentar os desafios e fé para seguir adiante. Sem Ele, nada disso teria sido possível.

Ao meu noivo Bruno, meu companheiro de vida, deixo minha eterna gratidão. Você esteve ao meu lado nos dias bons e, principalmente, nos dias difíceis. Obrigada por cada palavra de incentivo, por acreditar em mim mesmo quando eu duvidava da minha própria capacidade e por sempre estar disposto a me ajudar.

Ao meu pai e à minha mãe, meu mais sincero e emocionado agradecimento. Obrigada por todo incentivo, por todos os sacrifícios silenciosos, pelo apoio incondicional e pela confiança que sempre depositaram em mim. Cada conquista que alcanço é fruto da base sólida que vocês me deram e do exemplo de força, honestidade e dedicação que carrego comigo.

Ao meu irmão Arthur, minha gratidão e carinho. Obrigada por estar presente mesmo quando a correria do dia a dia não permitia tantos momentos juntos. Sua forma única de demonstrar apoio e seu jeito leve de encarar a vida me inspiraram e me ajudaram a seguir em frente. Saber que você torcia por mim foi um incentivo silencioso, mas muito importante.

À minha amiga Maria Clara, que esteve ao meu lado durante toda essa caminhada, agradeço de coração. Sua amizade foi abrigo em tempos difíceis e motivo de alegria nos momentos bons. Obrigada por me ouvir, me incentivar, rir e chorar comigo, por dividir as angústias da vida acadêmica, pelos resumos compartilhados e, principalmente, por nunca me deixar sozinha. Sua presença tornou essa jornada mais leve, mais divertida e mais significativa.

À minha orientadora, professora Daise, minha mais sincera gratidão. Obrigada por sua paciência, dedicação e por acreditar no meu potencial desde o início. Apreendi muito com sua

sensibilidade, seu rigor científico e sua forma acolhedora de conduzir cada etapa do processo. Seu exemplo ficará para sempre marcado na minha trajetória.

À minha coorientadora, Letícia, também deixo meu agradecimento especial. Sua contribuição foi essencial para a construção do meu trabalho, com observações valiosas, atenção aos detalhes e incentivo. Sua disposição em orientar no laboratório com tanto cuidado, mesmo diante da correria e dos desafios do dia a dia, fez toda a diferença. Muito obrigada por compartilhar comigo seu conhecimento, sua generosidade e seu apoio. E a todos do LEPMOL, LABIO e LADOC que indiretamente estiveram envolvidos durante minha formação.

Gostaria de agradecer aos meus sogros pela imensa generosidade e dedicação em cuidar do meu filho durante o período das aulas. A presença e o apoio de vocês foram fundamentais para que eu pudesse concluir minha faculdade com tranquilidade e foco. Sou profundamente grata por todo o carinho, paciência e disponibilidade.

Agradeço, ainda, à Universidade Federal de Uberlândia, instituição que me acolheu e me proporcionou não apenas formação acadêmica, mas também crescimento pessoal. Aqui vivi alguns dos momentos mais marcantes da minha vida, formei laços duradouros e construí a base do profissional que estou me tornando. Obrigada por oferecer um espaço de aprendizado, diversidade e transformação.

Finalizo esse agradecimento reconhecendo que, por trás de toda conquista, há uma rede de apoio, amor e fé. Sou profundamente grata por ter pessoas tão especiais ao meu redor e por ter tido a oportunidade de viver essa experiência. Que essa vitória seja apenas o começo de muitas outras que virão.

RESUMO

C. jejuni é um patógeno zoonótico com relevância econômica e na saúde pública, apresentando resistência crescente aos antimicrobianos. Apesar de considerado frágil, consegue se perpetuar em ambientes pela formação séssil, permanecendo envolto por uma matriz extracelular que o protege de condições ambientais adversas e estressantes. Nosso objetivo foi determinar a capacidade inibitória de novos compostos à base de cobre, platina, paládio e níquel frente a seis cepas de *C. jejuni* (cinco de carcaças de frango e uma de referência) resistentes a eritromicina e ciprofloxacina nas formas livre e séssil. Os isolados foram submetidos a ensaios de suscetibilidade frente a complexos metálicos de paládio, platina, cobre e níquel (100 a 0,78 µg/mL) por meio do teste em microdiluição em caldo, segundo diretrizes do EUCAST, em meio Mueller-Hinton suplementado. Determinamos a CIM e CBM em células planctônicas, além da atividade contra biofilmes formados em meio enriquecido com 5% de *chicken juice*, simulando condições industriais. A biomassa aderida foi quantificada pelo Índice de Formação de Biofilme (IFB), classificada como forte, moderada, fraca ou ausente. Ensaios adicionais avaliaram a ação dos complexos sobre biofilmes maduros, incluindo análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para observar alterações estruturais. Todos os experimentos foram realizados em quadriplicata. Os complexos metálicos apresentaram atividade bactericida frente a *C. jejuni* em sua forma planctônica, com CIM média variando de 6,64 a 15,40 µg/mL. O composto de níquel destacou-se pela maior eficácia, exibindo os menores valores médios, seguido por cobre, platina e paládio. A análise dos isolados revelou variabilidade na formação de biofilme, sendo a maioria classificada como forte formadora. Na forma séssil, todos os complexos foram capazes de eliminar biofilmes, sem diferenças significativas entre os valores ($p = 0,30$), mas com resultados mais consistentes para o níquel, que apresentou menor mediana do IFB (0,24) e reduziu a capacidade de todas as cepas para a classificação “ausente”. A microscopia eletrônica confirmou as análises quantitativas, evidenciando redução da biomassa e danos estruturais nos biofilmes após a exposição. Esses resultados *in vitro* sugerem potencial antibacteriano e antibiofilme e justificam estudos adicionais sobre segurança e aplicabilidade.

Palavras-chave: resistência antimicrobiana; higienização industrial; forma séssil.

ABSTRACT

C. jejuni is a zoonotic pathogen of economic and public health significance, with increasing antimicrobial resistance. Although considered fragile, it can perpetuate itself in environments through sessile formation, remaining surrounded by an extracellular matrix that protects it from adverse and stressful environmental conditions. Our objective was to determine the inhibitory capacity of new copper, platinum, palladium, and nickel-based compounds against six strains of *C. jejuni* (five from chicken carcasses and one reference strain) resistant to erythromycin and ciprofloxacin in both free and sessile forms. The isolates were subjected to susceptibility testing against palladium, platinum, copper, and nickel metal complexes (100 to 0.78 µg/mL) using the broth microdilution test, according to EUCAST guidelines, in supplemented Mueller-Hinton medium. We determined the MIC and MBC in planktonic cells, as well as the activity against biofilms formed in a medium enriched with 5% chicken juice, simulating industrial conditions. The attached biomass was quantified by the Biofilm Formation Index (BFI), classified as strong, moderate, weak, or absent. Additional assays evaluated the action of the complexes on mature biofilms, including scanning electron microscopy (SEM) analyses to observe structural changes. All experiments were performed in quadruplicate. The metal complexes showed bactericidal activity against *C. jejuni* in its planktonic form, with MICs ranging from 6.64 to 15.40 µg/mL. The nickel compound stood out for its greatest efficacy, exhibiting the lowest mean values, followed by copper, platinum, and palladium. Analysis of the isolates revealed variability in biofilm formation, with the majority classified as strong biofilm-formers. In the sessile form, all complexes were capable of eliminating biofilms, with no significant differences between the values ($p>0.05$), but with more consistent results for nickel, which presented a lower median MIC (0.24) and reduced the ability of all strains to be classified as "absent." Electron microscopy confirmed the quantitative analyses, demonstrating reduced biomass and structural damage to biofilms after exposure. These in vitro results suggest antibacterial and antibiofilm potential and warrant further studies on safety and applicability.

Keywords: antimicrobial resistance; industrial sanitation; sessile form;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 <i>Campylobacter</i> spp e sua importância	8
2.2 <i>Campylobacter</i> spp e formação de biofilme	10
2.3 Campilobacteriose	12
2.4 Resistência aos antimicrobianos	13
2.5 Compostos químicos e suas atividades antimicrobianas	15
3 METODOLOGIA	16
3.1 Isolados bacterianos e reativação das cepas	16
3.2 Ação dos compostos metálicos em formas planctônicas de <i>C. jejuni</i>	17
3.2.1 Concentração Inibitória e Concentração Bacteriana Mínimas em células planctônicas	17
3.2.2 Ação dos complexos metálicos em biofilmes	18
3.2.3 Concentração Bacteriana Mínima de compostos metálicos em biofilmes	19
3.2.4 Determinação do IFB após exposição de biofilmes a complexos metálicos	19
3.3 Integridade de Biofilmes por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	20
3.4 Análise de dados	20
4 RESULTADOS	21
5 DISCUSSÃO	32
6 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a posição de segundo maior produtor mundial e maior exportador de carne de frango, que juntamente com os Estados Unidos, é responsável por cerca de 60% do comércio global desse produto (ABPA, 2025). Considerando o protagonismo do Brasil na produção e exportação de carne de frangos e o crescimento contínuo do setor avícola, há necessidade de ações que previnam a presença de patógenos nessa matriz alimentar, garantindo a segurança dos alimentos. Dessa forma, destaca-se a importância do controle de *Campylobacter* spp em toda a cadeia produtiva para mitigar os riscos de campilobacteriose humana.

Campylobacter spp é um dos principais agentes etiológicos bacterianos causadores de doenças diarreicas transmitidas por alimentos, sendo o consumo de carne de frango crua ou mal-cozida a maior fonte de infecção humana (WÜRFEL *et al.*, 2019). A campilobacteriose caracteriza-se por quadros de diarreia aguda, com ou sem sangue, febre, perda de peso e cólicas, autolimitada na maioria das vezes, sendo necessário o uso de antibióticos apenas em casos graves (RAHMAN *et al.*, 2021). Adicionalmente, *Campylobacter* spp figura entre os "patógenos prioritários" pela Organização Mundial da Saúde devido à sua resistência aos antimicrobianos e ao elevado risco que representa para a saúde pública (WHO, 2017; WÜRFEL *et al.*, 2021).

Campylobacter spp é considerado frágil, mas consegue se perpetuar em ambientes pela formação séssil, permanecendo envolto por uma matriz extracelular que o protege de condições ambientais adversas e estressantes, como tratamentos térmicos, presença de antibióticos e sanitizantes. Essa forma séssil são estruturas de difícil remoção e se tornam pontos constantes de contaminação, representando assim, um desafio significativo na cadeia produtiva de alimentos (MA *et al.*, 2022).

O desenvolvimento de compostos capazes de desestabilizar ou impedir a formação de biofilmes visa aprimorar a segurança dos alimentos, diminuir a incidência dessa zoonose em humanos, além de reduzir a necessidade do uso de antimicrobianos, contribuindo também para atenuar o problema da resistência bacteriana. Investigações que analisam a eficácia de compostos metálicos como agentes antimicrobianos têm se consolidado como abordagens promissoras no enfrentamento da resistência bacteriana, além de ampliarem as possibilidades de aplicação industrial desses materiais (GUERRA *et al.*, 2016).

Considerando o avanço da resistência antimicrobiana por *Campylobacter jejuni*, a relevância do Brasil no cenário global como um dos principais produtores de carne de frango, e os resultados encorajadores obtidos com o uso de complexos metálicos, este estudo possuiu como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de compostos de platina, paládio, níquel e cobre frente a cepas de *C. jejuni*, resistentes ao ciprofloxacino e à eritromicina nas formas livre e séssil.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Campylobacter spp* e sua importância

Conforme dados da Associação Brasileira de Proteína Animal, a avicultura brasileira destaca-se pela alta qualificação e tecnologia aplicada. Em 2023, a produção de carne de frango alcançou 14,8 milhões de toneladas, com um valor bruto de R\$91,646 bilhões. Desse total, 34,65% foram destinados ao mercado externo e 65,35 para o mercado interno. A exportação é realizada para mais de 150 países, sendo a China o principal destino das exportações brasileiras de carne de frango. O consumo per capita de carne de frango no Brasil é considerável, superando o total de 45,1kg/hab em 2023 (ABPA, 2024).

A carne de frango é um dos alimentos mais consumidos na dieta brasileira devido à sua alta qualidade nutricional, facilidade de preparo, ampla disponibilidade e preço acessível (EMBRAPA, 2024). Por essas características, ela contribui significativamente para uma alimentação balanceada e saudável, sendo uma fonte completa de proteínas e aminoácidos essenciais. Além disso, é rica em vitaminas do complexo B, possui baixo teor de gordura, oferece uma variedade de minerais e apresenta uma quantidade reduzida de carboidratos (SAENGPHOL; PIRAK, 2018; SARKER *et al.*, 2020).

Paralelamente ao crescimento na produção e no consumo, surge um grupo de consumidores que desempenha um papel fundamental em todas as fases da cadeia produtiva e que tem se mostrado cada vez mais consciente e exigente quanto à qualidade e à segurança dos alimentos (TONDO *et al.*, 2015).

Conforme o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2022), *Campylobacter* é responsável por cerca de 1,3 milhão de casos de doenças em humanos nos Estados Unidos, o

que equivale a uma taxa de 19,5 casos por 100.000 habitantes. A maior parte dos casos foi associada ao consumo de carne de frango (37,5%) e carne de peru (28,2%). Assim, o controle dessa bactéria em carnes de aves tem se mostrado uma das estratégias mais eficazes para reduzir a incidência de infecções em humanos (TIWAR *et al.*, 2019).

Campylobacter spp são exigentes em condições laboratoriais pois precisam de meios de cultivo seletivos e condições ambientais específicas para seu crescimento. Essas bactérias são microaerófilas, necessitando de um ambiente com cerca de 10% de dióxido de carbono (CO₂), 5% de oxigênio (O₂) e 85% de nitrogênio (N₂) (MORGAN, 2015). Contudo, algumas cepas são resistentes ao oxigênio, sendo particularmente prevalentes na carne de frango, o que reforça sua relevância como principal fonte de contaminação para o consumidor. As espécies termotolerantes têm grande sensibilidade ao congelamento, não se multiplicando sob essas condições, mas podendo permanecer viáveis por semanas caso sobrevivam à diminuição da temperatura (FACURI, 2018).

Os produtos de origem avícola são a principal fonte de infecção alimentar por *Campylobacter* spp, pois podem contaminar as carcaças devido a práticas inadequadas de processamento ou contaminação direta das matérias-primas. Essa bactéria é amplamente presente no ambiente, e sua eliminação da cadeia alimentar é desafiadora. Um dos principais mecanismos de sobrevivência dessa bactéria é seu sistema de resposta ao estresse, que permite ao microrganismo se adaptar e sobreviver a diversas condições adversas (MA *et al.*, 2022).

Apesar da importância de *Campylobacter* spp como agente causador de doenças transmitidas por alimentos, o patógeno é frequentemente ignorado em padrões sanitários nacionais, e as informações epidemiológicas sobre campilobacteriose humana no Brasil são escassas (WÜRFEL *et al.*, 2020). Isso pode ser um reflexo da ineficiência dos programas de vigilância voltados para o controle e prevenção da doença, o que leva a uma subnotificação significativa de casos (SILVA *et al.*, 2018).

2.2 *Campylobacter* spp e formação de biofilme

Campylobacter sp. tem a capacidade de formar biofilmes em superfícies bióticas e abióticas, o que contribui para sua sobrevivência em condições ambientais adversas (GIAOURIS, 2023).

Os biofilmes são caracterizados como um processo de adesão de células bacterianas a superfícies, sejam elas vivas ou inertes. Essas células se agregam, formando comunidades bacterianas que ficam envolvidas por uma matriz polimérica, composta por polissacarídeos, além de proteínas e ácidos nucleicos. Essa matriz extracelular oferece proteção, dificultando a ação de agentes biocidas, concentrando nutrientes e prevenindo a desidratação (CARPENTIER; CERF, 1993). A bactéria é capaz de alternar entre formas livres e sesséis, fixando-se em superfícies bióticas ou abióticas, enquanto permanece envolvida por uma matriz viscosa (MELO *et al.*, 2017).

Campylobacter tem a capacidade de formar biofilmes em diversos ambientes, como no trato gastrointestinal dos animais, em sistemas de abastecimento de água, em encanamentos de instalações de criação e em plantas de processamento de alimentos (SIRINGAN; RIBEIRO; PAYNE, 2011). Dessa forma, esses biofilmes se tornam uma fonte contínua de contaminação, liberando células bacterianas ao longo da cadeia produtiva de alimentos, possibilitando sua transmissão para a cadeia alimentar humana (CAPPITELLI; POLO; VILLA, 2014).

Apesar de ser influenciado por fatores ambientais, *C. jejuni* pode utilizar mecanismos de defesa, como entrar em um estado viável, mas não cultivável (bactéria está viva, mas não cresce em meios de cultura. Ocorre por estresse ambiental e pode ser reversível.), desenvolver aerotolerância e formar biofilmes. Essa capacidade de persistir representa um desafio significativo para a indústria alimentícia. A formação de biofilmes favorece a sobrevivência e a organização das bactérias em comunidades densas, além de contribuir para a propagação da resistência aos antibióticos (WHO, 2020).

A formação do biofilme pode ser favorecida pela presença do *chicken juice* (exsudado de frango), que contém partículas nutritivas capazes de formar uma fina camada sobre superfícies inertes, facilitando a adesão das bactérias. Como resultado, isso pode levar à formação de biofilmes altamente aderentes, criando uma forma de persistência nas instalações de abatedouros frigoríficos (BROWN *et al.*, 2015; MELO, 2017).

Dados os problemas associados à presença de biofilmes, a prevenção de seu desenvolvimento e a sua remoção são fundamentais para garantir a segurança dos alimentos produzidos e dos consumidores (SREY *et al.*, 2013). Sendo assim, é essencial buscar soluções inovadoras para controlar o biofilme e aprimorar a eficácia dos antimicrobianos tradicionais.

2.3 Campilobacteriose

A campilobacteriose é uma infecção provocada por espécies termofílicas do gênero *Campylobacter*, representando uma grande preocupação para a saúde pública mundialmente (GONÇALVES, 2018; SIERRA-ARGUELO, 2018). Essa doença apresenta um período de incubação de 24 a 72 horas (IGWARAN *et al.*, 2019) e pode ocasionar diarreia aguda, com ou sem sangue, febre, perda de peso e cólicas (RAHMAN *et al.*, 2021). Na maioria dos casos, a infecção é autolimitada, sendo necessário o uso de antibióticos apenas em situações graves (KAAKOUSH *et al.*, 2015).

A gastroenterite bacteriana continua ao longo de anos sendo uma das principais doenças diarreicas em todo o mundo, afetando tanto países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. As espécies termotolerantes *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* são responsáveis por 80–90% e 10–20% dos casos, respectivamente, sendo a transmissão frequentemente associada ao consumo de carne de frango contaminada. Estudos recentes apontam que globalmente ocorrem cerca de 100 milhões de casos anuais, com mais de 21.000 mortes, e dados regionais mostram aumentos significativos, como no Reino Unido, onde os casos passaram de 60.055 em 2023 para 70.352 em 2024, e na Etiópia, onde a prevalência em crianças menores de cinco anos chegou a 23,8%, com 92,6% dos casos causados por *C. jejuni*. Esses dados reforçam a relevância crescente do gênero *Campylobacter* como agente etiológico de gastroenterite e a necessidade de vigilância e medidas de controle para reduzir sua incidência. (KIARIE *et al.*, 2023; WORKU *et al.*, 2024).

Além disso, uma revisão publicada em 2025 por BUIATTE e colaboradores discute a epidemiologia genômica de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* no Brasil, destacando a alta prevalência dessas espécies em casos de gastroenterite bacteriana, especialmente em crianças menores de 5 anos.

A carne de frango continua sendo um dos principais veículos de transmissão de *C. jejuni* e *C. coli*, responsáveis por uma significativa proporção de casos de gastroenterite bacteriana em humanos. Estudos recentes confirmam que a carne de frango crua ou mal-cozida é uma fonte comum de infecção, com prevalências variando entre 15% e 34% em diferentes regiões e tipos de amostras, incluindo carne de pescoço e filés (POPA *et al.*, 2025). Além disso, *C. jejuni* pode sobreviver por até seis dias nas fezes de frango, representando um risco adicional de contaminação ambiental e alimentar (GOMES *et al.*, 2024).

No Brasil, embora o país seja o maior exportador mundial de carne de frango, a campilobacteriose é raramente diagnosticada, e há uma falta de dados suficientes para estimar a incidência desse patógeno no país, o que dificulta a implementação de medidas de controle eficazes (SADEL *et al.*, 2023). Portanto, é essencial fortalecer a vigilância epidemiológica e adotar práticas rigorosas de higiene e controle na cadeia produtiva de carne de frango para reduzir o risco de infecção por *Campylobacter*.

Embora, na maioria das vezes, a infecção cause sintomas leves, a campilobacteriose pode resultar em complicações sérias, como bacteremia, hepatite, pancreatite e artrite reativa, além de problemas neurológicos, como a síndrome de Guillain-Barré. Em casos mais graves, pode ser fatal, especialmente em crianças, idosos e indivíduos imunocomprometidos (WHO, 2020).

2.4 Resistência aos antimicrobianos

A resistência antimicrobiana em *Campylobacter* spp e em particular em *C. jejuni* representa atualmente um importante problema de saúde pública global, com repercussões tanto para terapêutica humana quanto para segurança dos alimentos. Relatórios europeus de vigilância documentam níveis altos a extremamente altos de resistência a fluoroquinolonas, especialmente ciprofloxacina, em isolados de *C. jejuni* de seres humanos e de animais de produção (aves e bovinos jovens), variando segundo país, mas chegando a mais de 70-80% em muitos casos (EFSA, 2025).

Além disso, os macrolídeos (eritromicina, azitromicina) permaneçam como tratamento de escolha para casos graves ou complicados, a resistência em *C. jejuni* a esses antibióticos ainda é relativamente baixa nos recentes relatórios europeus, variando de muito baixa a baixa proporção de isolados resistentes (EFSA, 2024). Contudo, mutações no gene 23S rRNA, como A2075G e A2074C, têm sido detectadas em alguns isolados, bem como a participação do mecanismo de bomba de efluxo CmeABC, embora genes de resistência transferível como *erm(B)* sejam raros em *C. jejuni* (EFSA, 2025).

A resistência a tetraciclinas também é um problema persistente: muitos estudos apontam prevalências elevadas de genes *tet(O)* ou variantes, tanto em isolados de aves quanto de humanos, frequentemente associados a outros mecanismos (mutação em *gyrA*, β -lactamases) e

coexistindo com resistência a fluoroquinolonas. Por exemplo, um levantamento genômico global até 2023 identificou *tet(O)* e *tet(L)* como genes comuns, especialmente em hospedeiros aviários, além de ampla presença de β -lactamases do tipo *blaOXA* (SHAH *et al.*, 2025).

No Brasil e em outras regiões tropicais, estudos recentes examinaram isolados de *C. jejuni* de frangos, suínos, aves inteiras ou carcaças, encontrando que mutação C257T em *gyrA* (relacionada à resistência a fluoroquinolonas) está presente em percentagens significativas, e que genes de resistência como *blaOXA61*, *tetO* e componentes da bomba de efluxo CmeABC são comuns (DIAS *et al.*, 2022). Esses dados sugerem que os mecanismos genéticos já consolidados estão se mantendo ou até aumentando em prevalência nessas regiões, refletindo uso de antimicrobianos na produção animal e condições ambientais favoráveis à disseminação.

Além disso, há multiplicidade de cepas com resistência multidrogas (MDR), definidas como resistência simultânea a três ou mais classes de antimicrobianos de relevância clínica. Relatos do Oriente Médio (ex: Jordânia) mostram MDR em ~36,4 % dos isolados de *C. jejuni* de carne de frango, com combinações de β -lactâmicos, tetraciclina e fluoroquinolonas (MAYYAS *et al.*, 2025). No contexto europeu, embora a MDR em *C. jejuni* de humanos seja ainda relativamente baixa (<1-a alguns por cento), já são observáveis isolados animais com perfis duplos ou múltiplos (ciprofloxacina + eritromicina + tetraciclina) e crescente preocupação pela possibilidade de transferência de resistência via cadeia alimentar (EFSA, 2025).

Por fim, as implicações para políticas e pesquisa são claras: aumentar a vigilância genômica integrada (humano-animal-alimentos-ambiente), regular o uso de antimicrobianos críticos na produção animal, fortalecer a infraestrutura laboratorial para identificação de mutações-chave e incentivar práticas de produção e abate que reduzam contaminação cruzada. Também é necessário monitoramento contínuo de tendências locais de resistência para orientar terapêutica empírica regionalizada. Além disso, torna-se urgente o investimento em alternativas aos antibióticos convencionais, como probióticos, bacteriófagos, peptídeos antimicrobianos, vacinas e uso de compostos metálicos, estratégias que já vêm sendo estudadas para reduzir a pressão seletiva e conter a disseminação de cepas resistentes (EFSA, 2024; Li *et al.*, 2025).

2.5 Compostos químicos e suas atividades antimicrobianas

Os compostos metálicos têm emergido como agentes antimicrobianos promissores, especialmente diante do crescente desafio da resistência bacteriana. Estudos recentes demonstram que esses compostos, incluindo íons metálicos, complexos de metais de transição e nanopartículas metálicas, apresentam atividades antimicrobianas significativas contra uma variedade de patógenos (WU *et al.*, 2025).

Esses compostos atuam por diversos mecanismos para inibir o crescimento microbiano. Por exemplo, os complexos de cobre demonstraram atividade antimicrobiana devido à sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), que danificam as membranas celulares bacterianas e interagem com biomoléculas essenciais, como DNA e proteínas. Além disso, esses compostos podem alterar a estrutura tridimensional de proteínas, inativando enzimas essenciais para a sobrevivência bacteriana (NGECE *et al.*, 2025).

Os compostos metálicos tiveram um impacto significativo na química medicinal durante o século XX. Diversos medicamentos à base de metais são empregados na medicina, como os derivados de platina usados no tratamento de câncer (JOHNSTONE; SUNTHARALINGAM; LIPPARD, 2016) e os compostos de ouro aprovados para o tratamento da artrite reumatoide (CHAMPION; GRAHAM; ZIEGLER, 1990; HARBUT *et al.*, 2015). Com base nesses sucessos, as pesquisas se expandiram para o uso de outros metais, como níquel, cobre, paládio, platina, ferro, rutênio, gálio, bismuto, entre outros. Suas aplicações variam entre tratamentos anticâncer, antimaláricos, doenças neurodegenerativas e ações antimicrobianas (ZENG *et al.*, 2017). Essas descobertas têm estimulado novos estudos sobre complexos com potenciais efeitos antitumorais e antibacterianos.

No caso dos compostos usados nesse estudo, o níquel, destaca-se tanto por sua ação contra bactérias Gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp. e *Salmonella Typhi*, além de *Staphylococcus aureus*, quanto sua capacidade antibiofilme frente a *P. aeruginosa*, sustentando a hipótese do potencial antimicrobiano desses elementos (CHAUDHARY *et al.*, 2015; EGBEWOLE *et al.*, 2022; MARUTHUPANDY *et al.*, 2020).

De forma complementar, o cobre também apresentou eficácia contra *Enterococcus faecalis* e contribuiu para a redução da carga microbiana em infecções relacionadas à saúde (BEETON *et al.*, 2014; HAMZE *et al.*, 2025). Já os compostos de paládio mostraram atividade contra *Mycobacterium tuberculosis*, além de resultados promissores no controle de *C. jejuni*

resistentes, e, em associação à platina, destacaram-se ainda pela capacidade de inibir e reduzir biofilmes bacterianos (SILVA *et al.*, 2023; CHLUMSKY *et al.*, 2021).

Os compostos metálicos oferecem uma abordagem inovadora e eficaz no combate a infecções microbianas, especialmente aquelas causadas por cepas resistentes a antibióticos convencionais. No entanto, é crucial considerar aspectos como a biocompatibilidade, toxicidade e mecanismos de resistência ao desenvolver e aplicar esses compostos em ambientes clínicos. Pesquisas contínuas são necessárias para otimizar suas propriedades e expandir suas aplicações terapêuticas (REES *et al.*, 2023).

3 METODOLOGIA

3.1 Isolados bacterianos e reativação das cepas

Foram utilizadas seis cepas de *C. jejuni*, sendo cinco cepas de campo, isoladas de carcaças de frango (BAC1 a BAC5) e uma cepa de referência (IAL 2383). As cepas de campo, acompanhadas de informações epidemiológicas, foram gentilmente cedidas pelo Laboratório Nacional Agropecuário do Rio Grande do Sul (LANAGRO-RS) (RODRIGUES *et al.*, 2021). A cepa IAL 2383, utilizada como controle positivo, foi isolada de amostra clínica humana e fornecida pelo Banco de Culturas do Instituto Adolfo Lutz (IAL).

As cepas de campo foram selecionadas de acordo com os perfis de resistência aos antimicrobianos, identificadas como resistentes a Eritromicina e Ciprofloxacino em estudo anterior (BUIATTE *et al.*, 2023).

A reativação dos isolados foi realizada em caldo Bolton, suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro, e incubada a 37°C por 44 ± 4 h sob atmosfera microaerófila (5–15% de O₂ e 10% de CO₂), utilizando o sistema Microaerobac (Probac do Brasil, São Paulo). Em seguida, as culturas foram repicadas em meio seletivo *Campylobacter* Selective Agar (CCDA) e incubadas novamente nas mesmas condições. As colônias com morfologia característica foram avaliadas por microscopia após coloração de Gram, seguindo os critérios estabelecidos pela ISO 10272-1:2017. As culturas confirmadas morfologicamente como puras foram utilizadas nos ensaios de suscetibilidade fenotípica frente aos complexos metálicos.

3.2 Ação dos Complexos Metálicos em formas planctônicas de *C. jejuni*

Os complexos de cobre, níquel, paládio e platina, foram sintetizados e pelo Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia e selecionados por apresentarem atividade antimicrobiana em pesquisas anteriores (ALMEIDA *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2020).

Testamos o complexo de paládio PdDMSOBTA, contendo β -dicetonas e massa molar de 529,84 g/mol (ALMEIDA *et al.*, 2014); o complexo de platina PtDMSOBTA, com massa molar de 734,50 g/mol (ALMEIDA *et al.*, 2014); o complexo de cobre Cu(TTA)(bipy)NO₃, com massa molar de 502,92 g/mol (ALMEIDA *et al.*, 2015); e o complexo de níquel NiBta, com massa molar de 516,06 g/mol (SOUSA *et al.*, 2020).

Os ligantes têm papel fundamental nos complexos metálicos, pois influenciam diretamente sua estabilidade, solubilidade, geometria e atividade biológica. Ligantes como β -dicetonas, bipy e Bta estabilizam o metal e modulam suas propriedades eletrônicas e estruturais, afetando a capacidade de interação com biomoléculas, como DNA e proteínas. Além disso, eles

podem aumentar a seletividade e reduzir a toxicidade, além de, em alguns casos, contribuir com atividade biológica própria (ALMEIDA *et al.*, 2014; ALMEIDA *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2020).

3.2.1 Concentração Inibitória e Bactericida Mínimas (CIM e CBM) em Células Planctônicas

Os ensaios foram realizados utilizando a técnica de microdiluição em caldo, seguindo as diretrizes do EUCAST (2022). Os testes foram conduzidos em meio Mueller-Hinton suplementado com Ca^{2+} , Mg^{2+} e 5% de sangue desfibrinado de carneiro, utilizando microplacas de 96 poços. As concentrações dos complexos testados, que variaram de 100 a 0,78 $\mu\text{g/mL}$ por diluições seriadas, foram escolhidas por serem compatíveis com a faixa comumente utilizada em estudos com complexos metálicos bioativos (ALMEIDA *et al.*, 2014; SOUSA *et al.*, 2020), o que permite uma melhor comparação dos resultados e avaliação da potência relativa dos compostos.

Resumidamente, as suspensões bacterianas (200 μL), ajustadas à turbidez equivalente a 0,5 na escala de McFarland, foram adicionadas às microplacas e adicionadas das diferentes concentrações dos inibidores, seguida da incubação a 37°C por 44 ± 4 hs sob atmosfera microaerófila. Como controle positivo foram utilizados poços contendo apenas a suspensão bacteriana em caldo Mueller-Hinton, enquanto o controle negativo consistiu de poços contendo apenas o caldo Mueller-Hinton.

A CIM foi definida como a menor concentração do complexo capaz de inibir completamente o crescimento visível (ausência de turvação). Para determinar a concentração bactericida mínima (CBM), alíquotas dos poços sem crescimento aparente foram repicadas em ágar CCDA e reincubadas nas mesmas condições já descritas.

As análises foram conduzidas em quadriplicata, em dias independentes.

3.2.2. Índice de Formação de Biofilme (IFB)

Inicialmente, as cepas foram caracterizadas quanto a capacidade de formar biofilmes fortes, fracos ou inexistentes por meio do Índice de Formação de Biofilme (IFB). Os ensaios foram realizados em placas de polietileno de 96 poços, seguindo protocolos adaptados de KUDIRKIENE *et al.* (2012) e NAVES *et al.* (2008).

As cepas reativadas foram cultivadas por 48 hs em caldo Mueller-Hinton (MH) suplementado com 5% de suco de frango (*Chicken Juice – CJ*) (BROWN *et al.*, 2014; BIRK *et*

al., 2004), sob atmosfera microaerófila a 37°C. O *CJ* foi utilizado para simular as condições industriais, obtido do exsudado do descongelamento de peitos e coxas de frango, e depois centrifugado a 16.000 rpm por 10 minutos e esterilizado em filtros com membrana de 0,22 µm (BROWN *et al.*, 2014; BIRK *et al.*, 2004).

Resumidamente, após o cultivo em MH, as células foram centrifugadas a 5.000 rpm por 10 minutos a 4° C, processo repetido três vezes, sendo cada vez acompanhada de lavagem com solução salina estéril (NaCl 0,9%). Ao final, a suspensão celular foi ajustada até atingir a concentração de 10⁴ UFC/mL (DO₆₀₀ entre 0,22 e 0,28). O inóculo foi preparado na proporção de 1:10 em MH suplementado com 5% de *CJ*, ou seja, 1 mL de MH acrescido de 10 µL da suspensão bacteriana. Em seguida, 200 µL de cada suspensão foram distribuídos nos poços de microplacas de poliestireno de 96 poços e incubados por 48 hs nas mesmas condições já descritas. Após a incubação, os poços foram lavados para remoção das células não aderidas, e a biomassa residual foi corada com cristal violeta 0,1%. O corante retido foi solubilizado em solução álcool-acetona (80:20) e quantificado por leitura de absorbância a 595 nm para cálculo do IFB. O controle negativo consistiu em poços contendo apenas caldo MH, enquanto o controle positivo foi constituído por poços contendo MH com o inóculo bacteriano.

O IFB foi calculado pela fórmula: $IFB = BA - PC / BS$, onde BA é a absorbância da biomassa aderida, PC a absorbância do controle negativo e BS a densidade óptica da cultura (DO₆₀₀). Os valores de IFB foram classificados conforme NAVES *et al.* (2008) como: forte (>1,10), moderado (0,70–1,10), fraco (0,35–0,69) ou ausente (<0,35).

Os ensaios foram conduzidas em quadriplicata, em dias distintos, visando garantir reprodutibilidade e consistência dos resultados.

3.2.3 Concentração Bactericida Mínima de compostos metálicos em biofilmes

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) de cada um dos complexos foi determinada em biofilmes previamente formados conforme protocolo já descrito anteriormente. Após as 48hs de incubação, os poços foram lavados com solução salina estéril (NaCl 0,9%) para remoção das células não aderidas, e em seguida, expostos aos complexos metálicos de paládio, platina, cobre e níquel nas concentrações de 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12 e 1,56 µg/mL, por um período de 2 hs a 37°C.

Alíquotas de 10 µL de cada poço foram transferidas, para placas de ágar CCDA e incubadas sob microaerofilia. A CBM foi determinada pela ausência de crescimento bacteriano nos pontos de inoculação. O experimento foi realizado em quadriplicata, em dias distintos, com

inclusão de controle negativo composto apenas por caldo MH e controle positivo constituído pelo inóculo bacteriano em MH, sem adição dos complexos metálicos.

3.2.4 Determinação do IFB após exposição de biofilmes a complexos metálicos

Para avaliar a ação dos complexos metálicos no IFB de *Campylobacter jejuni* foram realizados ensaios em microplacas de 96 poços utilizando protocolo já descrito. Após 48 hs de incubação, os poços foram cuidadosamente lavados com solução salina estéril (NaCl 0,9%) para remover as células não aderidas. Em seguida, os biofilmes foram expostos aos complexos metálicos na concentração de 400 µg/mL (dobro da maior CBM obtida anteriormente), por 2 hs a 37 °C, em condições microaerofílicas (EUCAST, 2022). Após o tratamento, procedeu-se à coloração com cristal violeta, seguida da eluição do corante retido e da leitura da absorbância a 595 nm. O IFB foi então calculado conforme descrito anteriormente, permitindo comparar a biomassa aderida entre os grupos tratados e controles.

Todos os ensaios foram conduzidos em quadriplicata, em dias independentes, com inclusão de controles negativo (sem bactéria) e positivo (sem os complexos metálicos).

3.3 Integridade do biofilme por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após tratamento com os complexos metálicos, a microestrutura dos biofilmes foi avaliada por MEV (BROWN *et al.*, 2014), com modificações. Os biofilmes foram formados em esferas de vidro de 5 mm como suporte para fixação e respeitando as condições de crescimento previamente descritas (37°C/ 48hs) e em seguida, expostos aos complexos metálicos (400 µg/mL) por 2 hs. Biofilmes nas esferas não tratados com os complexos metálicos foram incluídos como controles positivos e biofilmes cultivados em NaCl 0,9% esteril foram os controles negativos.

Resumidamente, os biofilmes formados nas esferas foram lavados com PBS, fixadas em solução de glutaraldeído e paraformaldeído (2,5% cada) em tampão PBS 0,1 M (pH 7,4) a 4°C, overnight, e posteriormente pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1% por 2 hs. A desidratação foi realizada em série crescente de etanol (30% a 90%), seguida de três lavagens em etanol absoluto (100%) por 20 min cada. Após a secagem em ponto crítico (CPD 030, Baltec, Alemanha), as amostras foram revestidas com ouro (20 nm; SCD 050, Baltec, Alemanha) e analisadas em MEV VP Zeiss Supra 55 FEG SEM, operando a 20 kV.

3.4 Análise dos dados

Para as análises de IFB inicial, IFB após tratamento e CBM de células planctônicas e sésseis foram calculadas a mediana e o desvio padrão. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro–Wilk e, quando $p < 0,05$, utilizamos o teste não paramétrico de Kruskal–Wallis, seguido do teste de Wilcoxon com correção de Holm para comparações par a par. As análises foram realizadas no R (versão 4.4.3) (RStudio Team, 2020) utilizando o pacote ggstatsplot (versão 0.13.0) (Patil, 2021), adotando-se $p < 0,05$ como nível de significância.

As análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV) tiveram caráter descritivo e foram empregadas para comparar a morfologia e a integridade estrutural dos biofilmes entre amostras tratadas e controles, complementando os dados quantitativos obtidos nos ensaios de IFB e CBM.

4 RESULTADOS

A CBM dos complexos metálicos frente a *C. jejuni* em sua forma planctônica variaram de 6,64 a 15,40 µg/mL. O NiBTA apresentou o menor valor médio, enquanto o PdDMSOBTA exibiu o maior (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração Bactericida Mínima de complexos metálicos frente a seis cepas de *C. jejuni* na forma livre (planctônica)

Composto	Mediana CBM(µg/mL) ± DP
Níquel	6.64 ± 4.74
Cobre	12.20 ± 17.60
Platina	12.80 ± 9.42
Paládio	15.40 ± 17.70

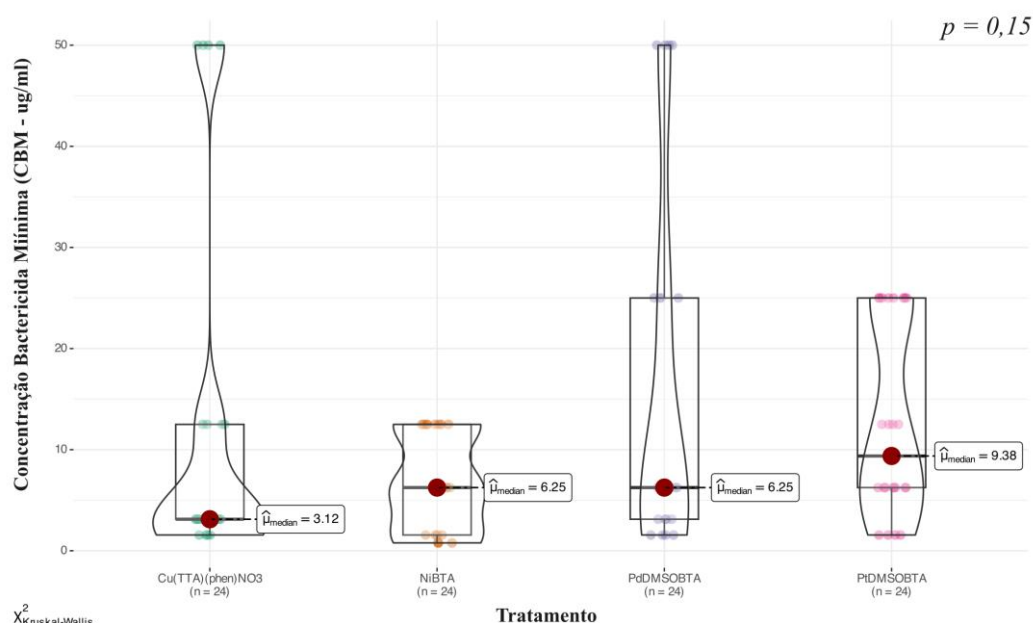
Concentração bactericida mínima (CBM) mediana (µg/mL) ± desvio-padrão (DP) dos complexos metálicos frente a células livres de *Campylobacter jejuni*. Complexo de níquel= NiBTA; Complexo de cobre= Cu(TTA)(phen)NO₃; Complexo de Platina= PtDMSOBTA; Complexo de paládio= PdDMSOBTA.

Todos os compostos demonstraram atividade bactericida contra os isolados avaliados, sem diferenças significativas entre as CBM (Kruskal–Wallis – $p = 0,1509$) (Figura 1). Porém, considerando os valores das concentrações, NiBTA mostrou a maior ação antimicrobiana por apresentar os menores valores médios de CBM (6,64 ± 4,74 µg/mL), seguido por Cu(TTA)(phen)NO₃ (12,20 ± 17,60 µg/mL), PtDMSOBTA (12,80 ± 9,42 µg/mL) e PdDMSOBTA (15,40 ± 17,70 µg/mL).

A análise individual dos isolados mostrou que os menores valores de CBM foram observados para o isolado 144 frente ao NiBTA (0,78 µg/mL) e para o isolado 13 frente ao Cu(TTA)(phen)NO₃ (1,56 µg/mL), enquanto o isolado 133 apresentou os valores mais elevados, chegando a 50 µg/mL para o complexo de cobre (Tabela 2).

Considerando que os quatro complexos metálicos foram capazes de eliminar *C. jejuni* na forma planctônica, avaliamos a capacidade de formação de biofilme. Cinco dos seis isolados (83,33%) foram classificados como fortes formadores de biofilme (IFB > 1,10) e apenas um (16,67%), representado pela cepa de coleção IAL 2383, foi classificado como moderado (IFB = 0,70–1,10). As médias do IFB variaram de 0,955 ± 0,027 a 2,993 ± 0,089 (Tabela 3).

Figura 1. Concentração bactericida mínima (CBM) de células planctônicas de *C. jejuni* expostas a quatro complexos metálicos



Gráficos em violino representando a distribuição dos valores de CBM ($\mu\text{g/mL}$) para cada composto testado: Cu(TTA)(phen)NO₃ (verde), NiBTA (laranja), PdDMSOBTA (roxo) e PtDMSOBTA (rosa), obtidos contra células planctônicas de *Campylobacter jejuni*. Cada ponto colorido representa uma amostra individual ($n = 24$ para cada composto), resultante de quadruplicatas realizadas para seis isolados bacterianos. Kruskal–Wallis - $p = 0,15$). Pontos vermelhos indicam a mediana dos valores.

Tabela 2. Concentração bactericida mínima (CBM, $\mu\text{g/mL}$) dos complexos metálicos frente às diferentes cepas de *Campylobacter jejuni*

Cepa	Níquel	Cobre	Platina	Paládio
143	1,56	3,12	6,25	6,25
133	6,25	50	25	25
68	6,25	3,12	6,25	6,25
13	12,5	1,56	25	50
144	0,78	3,12	1,56	1,56
IAL2383	12,5	12,5	12,5	3,12

Complexo de níquel= NiBTA; Complexo de cobre= Cu(TTA)(phen)NO₃; Complexo de Platina= PtDMSOBTA; Complexo de paládio= PdDMSOBTA.

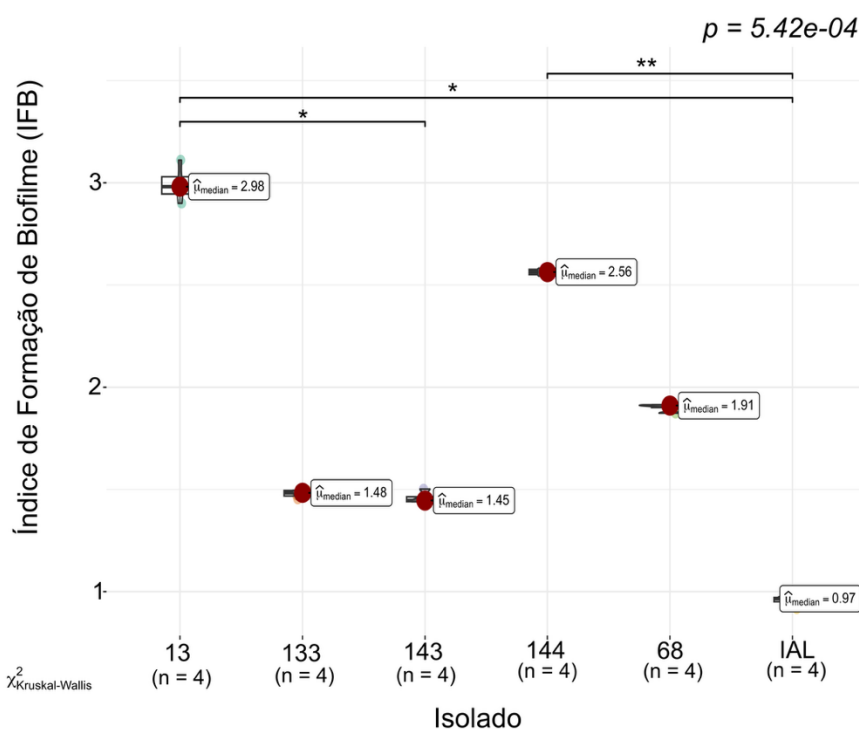
Tabela 3. Índice de Formação de Biofilme por cepas *C. jejuni* suplementadas com *Chicken Juice*

Isolado	IFB	Classificação
143	1.458±0.029	Forte
133	1.478±0.02	Forte
68	1.901±0.019	Forte
13	2.993±0.089	Forte
144	2.563±0.017	Forte
IAL 2383	0.955±0.027	Moderado

Classificação do Índice de formação de biofilme (IFB): forte ($>1,10$), moderado ($0,70-1,10$), fraco ($0,35-0,69$) ou ausente ($<0,35$), conforme Naves *et al.* (2008).

A análise pelo teste de Kruskal-Wallis revelou diferenças estatísticas significativas entre os índices de formação de biofilme pelas cepas (Figura 2). O isolado 13 apresentou valores de IFB significativamente maiores em relação ao isolado 143 ($p = 0,04$) e à cepa de coleção IAL 2383 ($p = 0,02$). Além disso, identificamos diferença entre o isolado 144 e a IAL 2383 ($p = 9,5 \times 10^{-4}$), reforçando a variabilidade na capacidade de formação de biofilme entre as cepas.

Figura 2. Comparação da capacidade de formação de biofilme entre as cepas de *C. jejuni*



Índice de Formação de Biofilme (IFB) de seis isolados de *Campylobacter jejuni*, incluindo cinco cepas de campo e a cepa de coleção IAL 2383. As comparações entre grupos foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn com ajuste de Holm. Linhas horizontais indicam diferenças estatisticamente significativas entre os isolados ($p \leq 0,05$). Os valores numéricos representam as medianas de cada grupo. $p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**), $p \leq 0,001$ (***), $p \leq 0,0001$ (****).

Além de caracterizar a capacidade de formação de biofilme, também avaliamos a CBM dos complexos frente a *C. jejuni* na forma aderida (séssil). Os valores médios de CBM, em ordem crescente, foram: PtDMSOBTA ($100 \pm 51,07 \mu\text{g/mL}$), NiBTA ($133,33 \pm 70,19 \mu\text{g/mL}$), e Cu(TTA)(phen)NO₃ e PdDMSOBTA (ambos com $166,66 \pm 123,94 \mu\text{g/mL}$) (Tabela 4, Figura 3). Todos os complexos metálicos apresentaram atividade na eliminação de biofilme, sem diferença estatística significativa entre as CBMs ($p = 0,30$ - Kruskal-Wallis).

Tabela 4. Concentração Bactericida Mínima de complexos metálicos frente a biofilmes de *C. jejuni*.

Composto Mediana CBM($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ DP	
Níquel	133.33 ± 70.19
Cobre	166.66 ± 123.94
Platina	100 ± 51.07

Composto	Mediana CBM($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ DP
Paládio	166.66 $\pm$ 123.94

Concentração bactericida mínima (CBM) mediana ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ desvio-padrão (DP) dos complexos metálicos frente a células aderidas de *C. jejuni*. Complexo de níquel= NiBTA; Complexo de cobre= Cu(TTA)(phen)NO₃; Complexo de Platina= PtDMSOBTA; Complexo de paládio= PdDMSOBTA.

Figura 3. Concentração Bactericida Mínima de complexos metálicos frente a biofilmes de *C. jejuni*

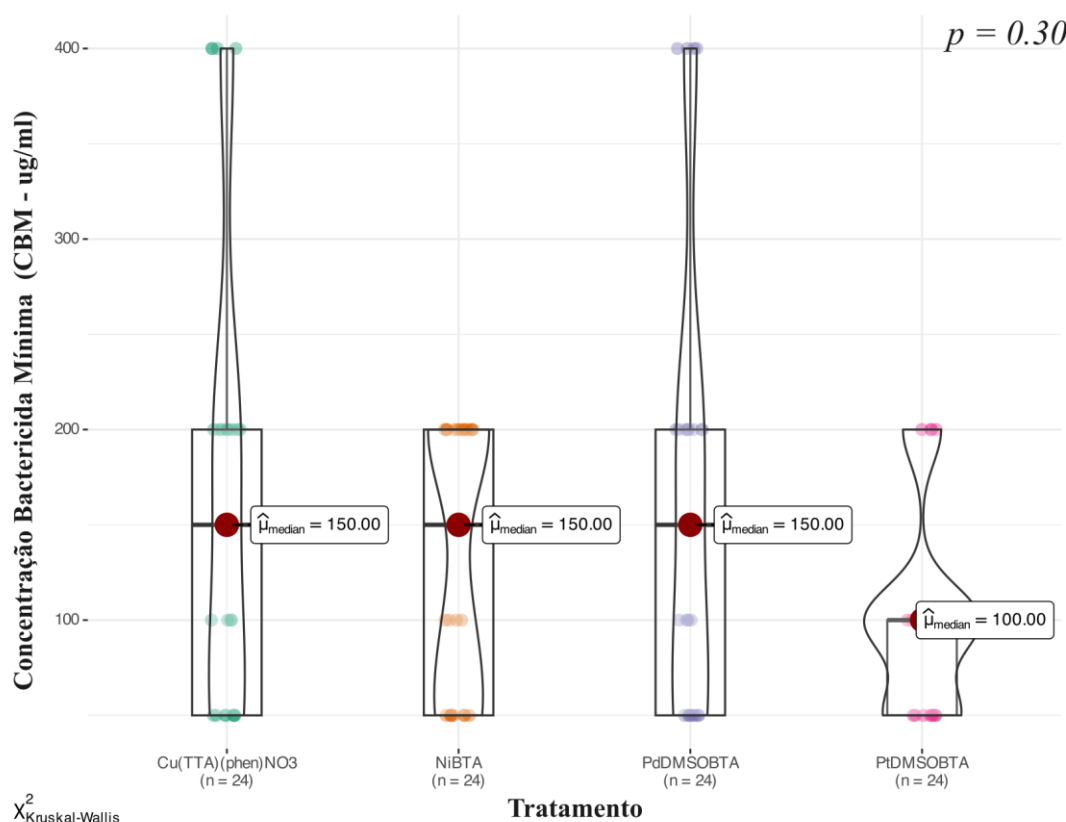
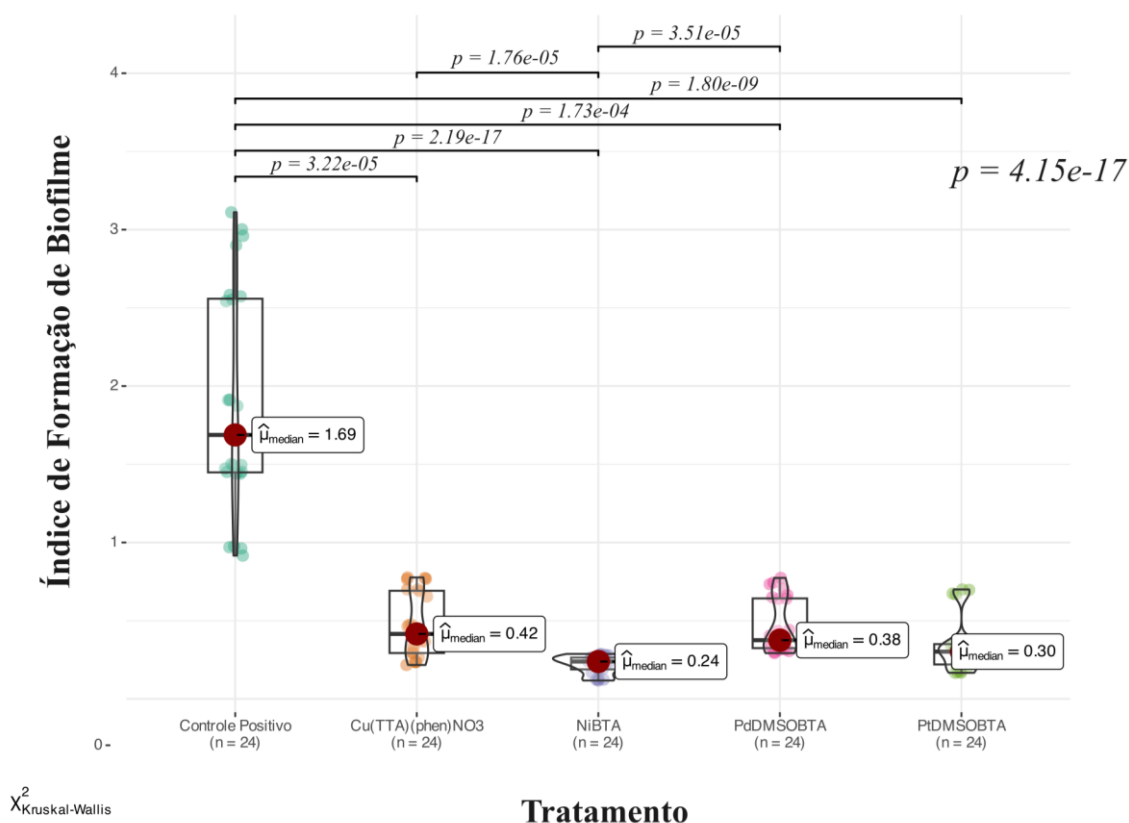


Gráfico em violino representando a distribuição dos valores de CBM ($\mu\text{g/mL}$) para cada composto testado: Cu(TTA)(phen)NO₃ (verde), NiBTA (laranja), PdDMSOBTA (roxo) e PtDMSOBTA (rosa), obtidos contra células sésseis de *Campylobacter jejuni*. Cada ponto colorido representa uma amostra individual (n = 24 para cada composto), resultante de quadruplicatas realizadas para seis isolados bacterianos. O teste de Kruskal–Wallis indicou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os compostos ($p = 0,30$). Pontos vermelhos indicam a mediana dos valores.

Avaliamos, ainda, a capacidade dos complexos metálicos em reduzir o Índice de Formação de Biofilme (IFB). A análise revelou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p = 4,15\text{e-}17$), com todos os compostos apresentando redução significativa do IFB em relação ao controle positivo (Figura 4). Entre eles, o NiBTA destacou-se por exibir a

menor mediana de IFB (0,24), diferindo significativamente de PdDMSOBTA ($p = 3,51e-05$) e Cu(TTA)(phen)NO₃ ($p = 1,76e-05$).

Figura 4. Índice de Formação de Biofilme de *C. jejuni* após tratamento (400µg/mL) com complexos metálicos.



Índice de Formação de Biofilme (IFB) após o tratamento com Cu(TTA)(phen)NO₃ (verde), NiBTA (laranja), PdDMSOBTA (roxo) e PdDMSOBTA (rosa), em comparação ao controle positivo. Cada ponto colorido representa uma amostra individual (n = 24 por composto), obtida a partir de quadruplicatas de seis isolados bacterianos. As análises indicaram diferenças significativas entre os tratamentos (Kruskal–Wallis, $p = 4,15 \times 10^{-17}$), com reduções no IFB para todos os compostos em relação ao controle. Linhas horizontais indicam comparações par-a-par e respectivos valores de p (teste de Wilcoxon, ajuste Holm).

Ao observar as médias de IFB após o tratamento, verificamos que o NiBTA foi o composto mais eficaz, reduzindo a formação de biofilme de todas as cepas para “ausente” (Tabelas 5 e 6). Os demais complexos também promoveram reduções relevantes, mas com padrões menos consistentes: PdDMSOBTA e PdDMSOBTA reduziram para níveis ausentes ou fracos parte dos isolados, enquanto Cu(TTA)(phen)NO₃ apresentou efeito mais heterogêneo, mantendo alguns isolados nas classificações fraco ou moderado. Esses resultados confirmam

que, embora todos os complexos apresentem atividade na eliminação de biofilmes já formados, o NiBTA se sobressaiu como o mais consistente e eficaz.

Tabela 5. Índice de Formação de Biofilme (IFB) por *C. jejuni* após tratamento com complexos metálicos (400µg/mL)

Isolado	Complexos metálicos				
	Controle (+)	Paládio	Platina	Cobre	Níquel
143	1.458±0.029	0.330±0.012	0.323±0.017	0.245±0.033	0.185±0.012
133	1.478±0.02	0.423±0.017	0.170±0.004	0.347±0.022	0.122±0.003
68	1.901±0.019	0.315±0.01	0.351±0.01	0.272±0.02	0.268±0.013
13	2.993±0.089	0.648±0.011	0.684±0.011	0.468±0.006	0.266±0.007
144	2.563±0.017	0.738±0.028	0.292±0.002	0.770±0.005	0.241±0.027
IAL 2383	0.955±0.027	0.318±0.015	0.223±0.017	0.685±0.02	0.249±0.02

Índice de Formação de Biofilme (IFB) mediana ± desvio-padrão (DP) de isolados de *C. jejuni* após tratamento com complexos metálicos. Controle (+)= controle positivo. Complexo de níquel= NiBTA; Complexo de cobre= Cu(TTA)(phen)NO₃; Complexo de Platina= PtDMSOBTA; Complexo de paládio= PdDMSOBTA.

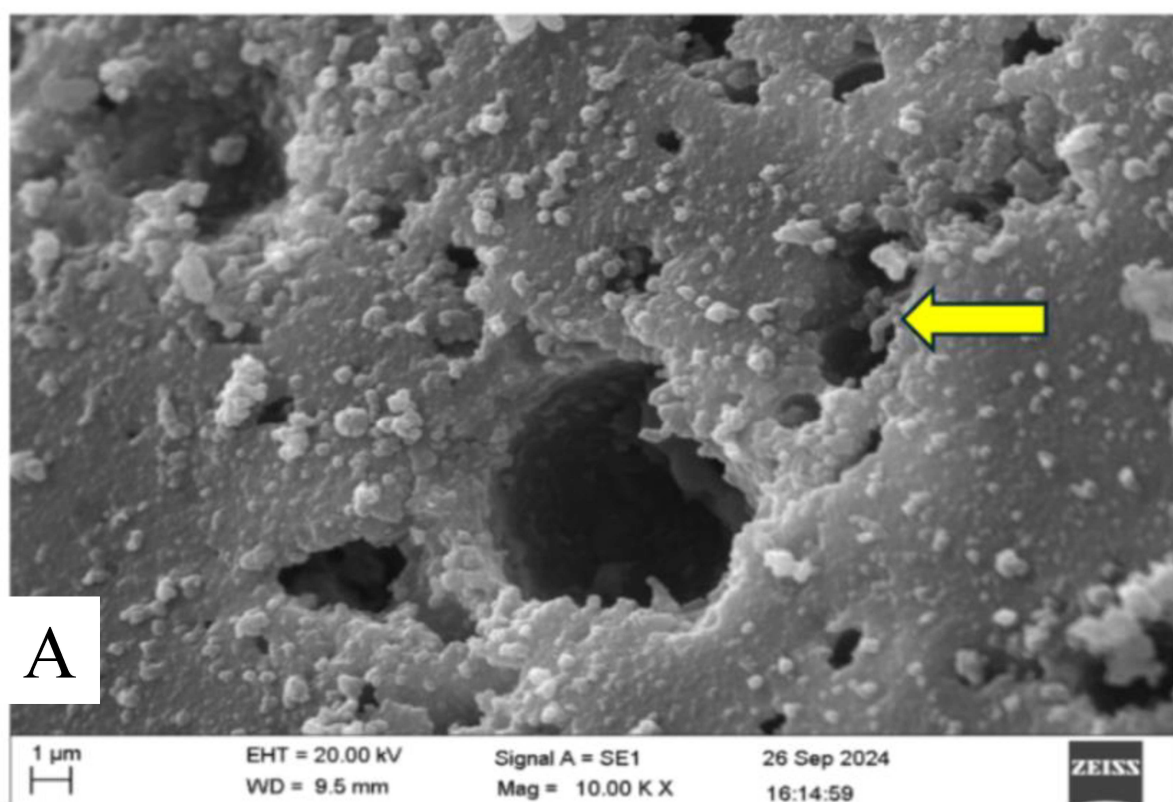
Tabela 6. Efeito de complexos metálicos (400µg/mL) sobre a capacidade de formação de biofilme por cepas de *C. jejuni*

Isolado	Controle Positivo	Paládio	Platina	Cobre	Níquel
143	Forte	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
133	Forte	Fraco	Ausente	Ausente	Ausente
68	Forte	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
13	Forte	Fraco	Fraco	Fraco	Ausente
144	Forte	Moderado	Ausente	Moderado	Ausente
IAL 2383	Moderado	Ausente	Ausente	Fraco	Ausente

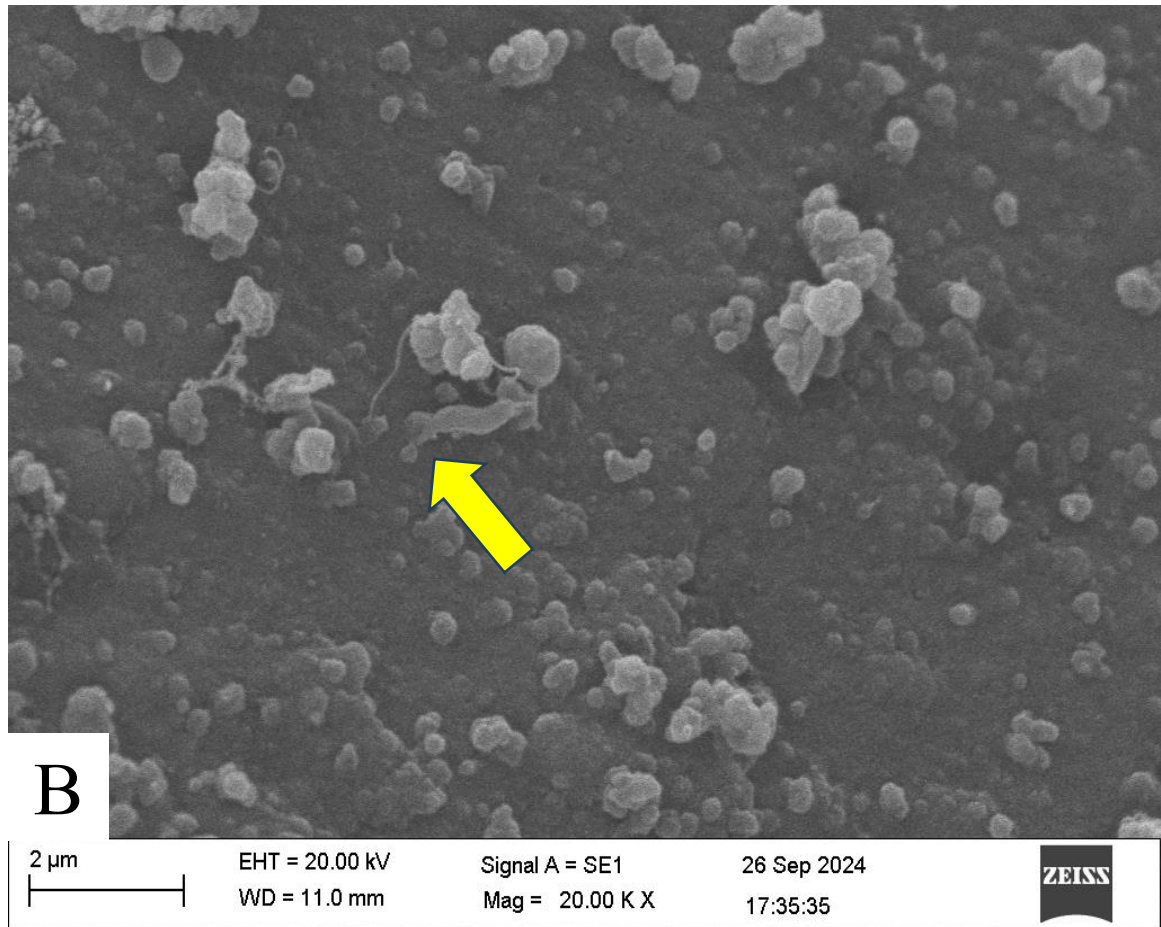
Efeito dos complexos metálicos sobre a capacidade de formação de biofilme de isolados de *C. jejuni*. A atividade foi classificada de acordo com o Índice de Formação de Biofilme (IFB): ausente (IFB < 0,10), fraco (0,10–0,70), moderado (0,70–1,10) e forte (> 1,10). Complexo de níquel= NiBTA; Complexo de cobre= Cu(TTA)(phen)NO₃; Complexo de Platina= PtDMSOBTA; Complexo de paládio= PdDMSOBTA.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) confirmou as reduções de biomassa observadas nas análises quantitativas. No controle positivo (Figura 5A), o biofilme apresentou estrutura densa, com células íntegras de *C. jejuni*. Após o tratamento com os complexos metálicos, observou-se redução visível da biomassa e alterações morfológicas nas células (Figura 5 B-E). O NiBTA (Figura 5B) e o PtDMSOBTA (Figura 5D) promoveram destruição celular evidente, enquanto o Cu(TTA)(phen)NO₃ (Figura 5C), revelou presença de flagelos soltos, sugerindo desorganização da estrutura bacteriana. O PdDMSOBTA (Figura 5E) também resultou em células destruídas e menor densidade do biofilme em comparação ao controle. Esses achados reforçam que, além da redução quantitativa do IFB, os complexos provocam danos estruturais significativos aos biofilmes já formados

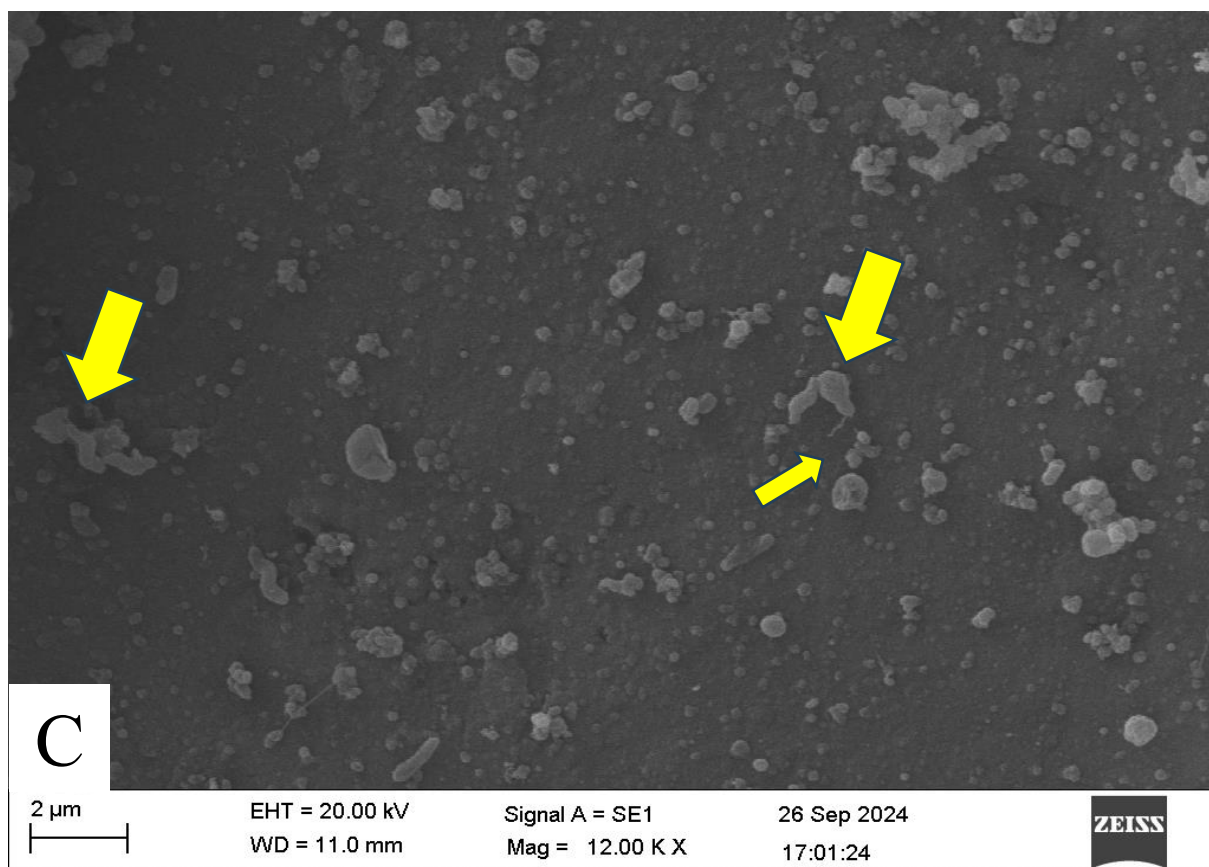
Figura 5. Biofilmes de *C. jejuni* e efeito de complexos metálicos (400µg/mL) na morfologia e biomassa dessas estruturas em microscopia eletrônica de varredura (MEV).



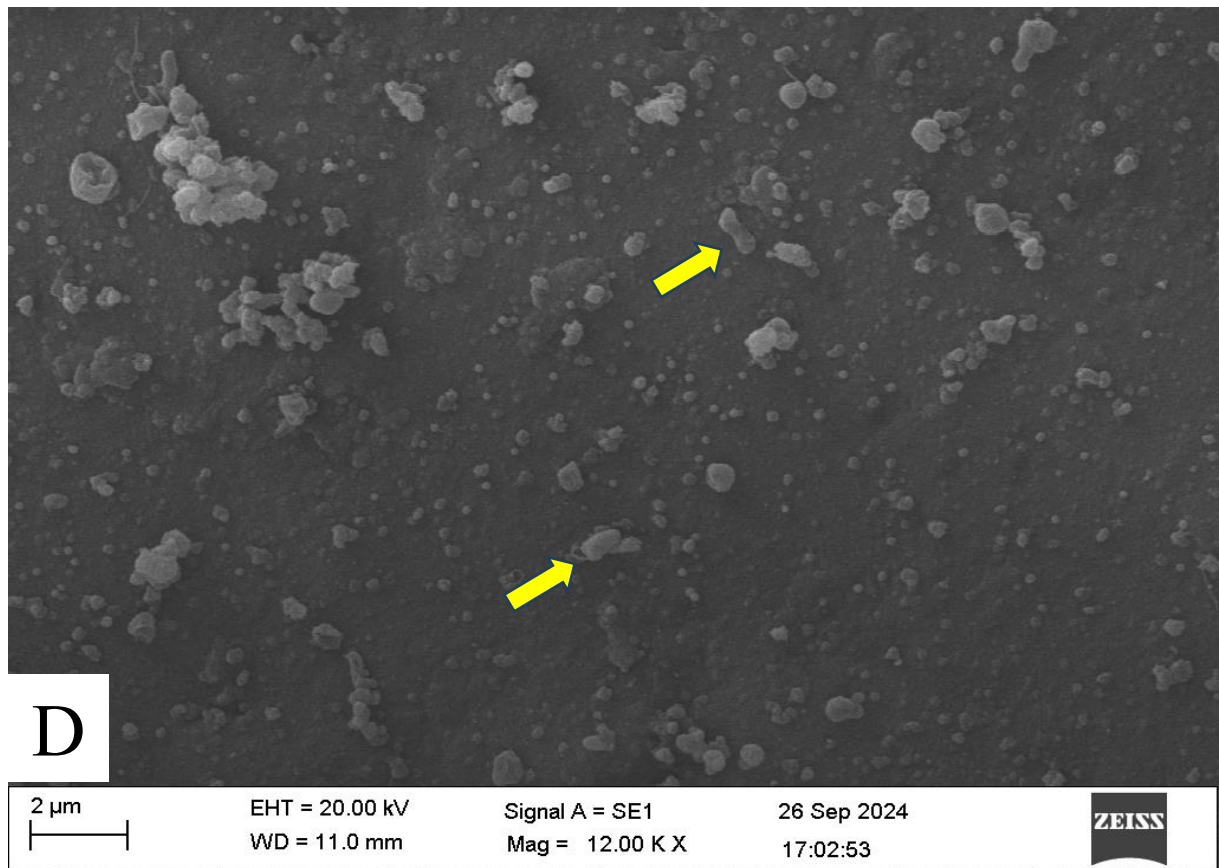
Imagens de MEV de biofilmes de *C. jejuni* (cepa 143) formados sobre esferas de vidro. (A) Controle positivo, com densa biomassa e células íntegras (seta amarela).



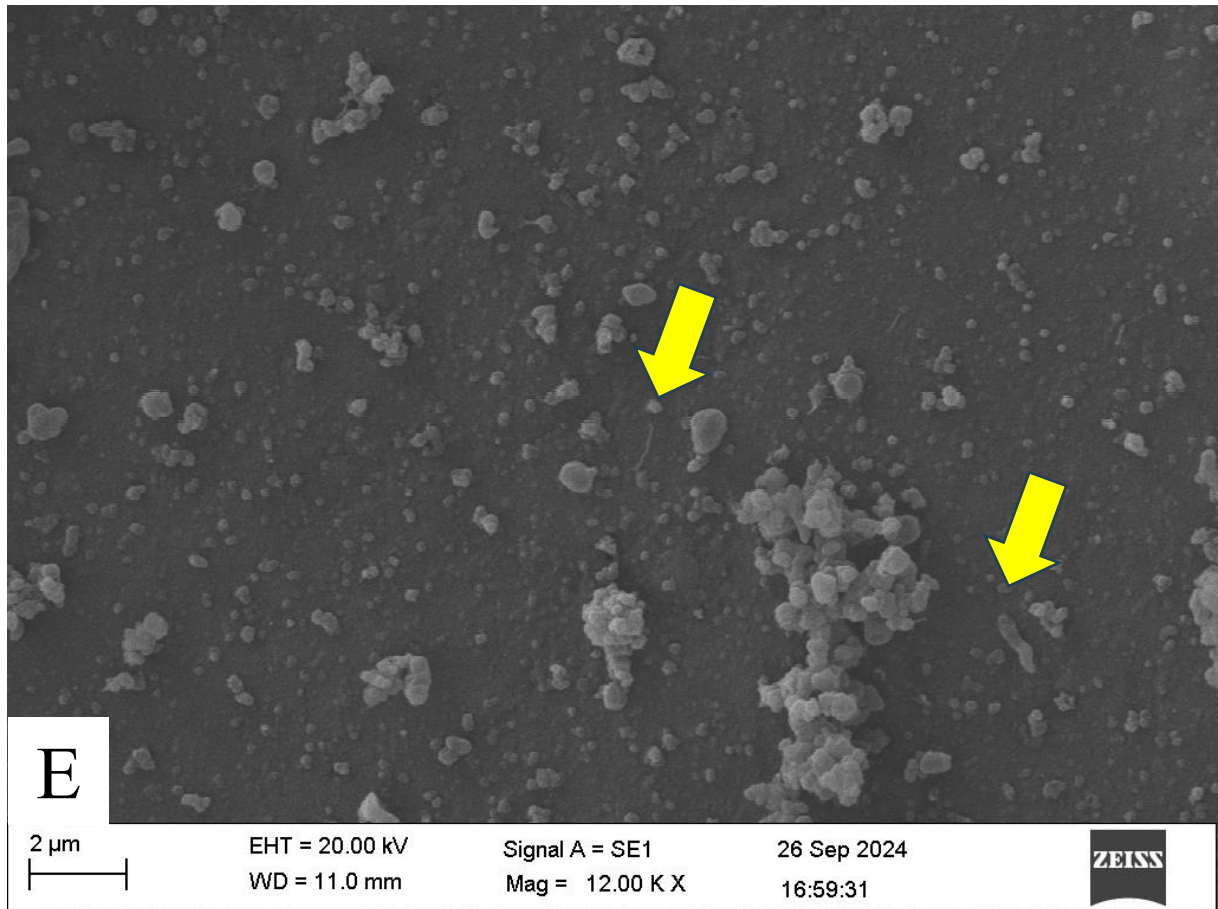
Imagens de MEV de biofilmes de *C. jejuni* (cepa 143) (B) Tratamento com NiBTA, mostrando células destruídas (seta amarela) e acentuada redução da biomassa.



Imagens de MEV de biofilmes de *C. jejuni* (cepa 143) formados sobre esferas de vidro. (C) Tratamento com Cu(TTA)(phen)NO₃, evidenciando flagelos soltos (seta amarela) e menor densidade celular.



Imagens de MEV de biofilmes de *C. jejuni* (cepa 143) formados sobre esferas de vidro. (D) Tratamento com PtDMSOBT, com células destruídas (seta amarela) e redução da biomassa.



Imagens de MEV de biofilmes de *C. jejuni* (cepa 143) formados sobre esferas de vidro. (E) Tratamento com PdDMSOBTa, também apresentando células destruídas (seta amarela) e biomassa reduzida em relação ao controle positivo.

5 DISCUSSÃO

Diante do preocupante avanço da resistência bacteriana aos antimicrobianos convencionais, torna-se cada vez mais urgente investir na busca por alternativas eficazes. Essa necessidade é particularmente relevante para a saúde pública e a saúde animal, já que impacta diretamente o tratamento de infecções, controle de surtos e higienização industrial. Nesse cenário, os resultados deste estudo, em conjunto com evidências já descritas na literatura, apontam que os complexos metálicos representam candidatos promissores como agentes antimicrobianos alternativos, com ação tanto antimicrobiana quanto antibiofilme sobre isolados resistentes de *C. jejuni*.

Nossos resultados demonstraram que todos os complexos avaliados, níquel, cobre, platina e paládio, foram eficazes contra *C. jejuni* em sua forma planctônica. O complexo de níquel (NiBTA) foi o que apresentou os menores valores de CBM ($6,64 \pm 4,74 \mu\text{g/mL}$), mostrando que baixas concentrações já foram capazes de inibir o crescimento bacteriano. Esse achado é particularmente interessante porque ainda há poucos relatos sobre a atividade de compostos de níquel frente a micro-organismos patogênicos, e, até onde se sabe, não há descrições de ação bactericida direta contra *C. jejuni*. Estudos anteriores ajudam a sustentar esse potencial.

CHAUDHARY *et al.* (2015) verificaram a ação de nanopartículas de níquel contra patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella* sp., observando maior atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* e *Klebsiella* sp. De forma semelhante, EGBEWOLE *et al.* (2022) demonstraram a eficácia de compostos à base de níquel contra diversas bactérias Gram-negativas, como *Salmonella Typhi* e *K. pneumoniae*, enquanto RAJU *et al.* (2020) descreveram estruturas metal-orgânicas de níquel (Ni-MOFs) com atividade antimicrobiana, antibiofilme e até larvicida. ŞAHIN *et al.* (2013) reforçam esse cenário ao demonstrarem que cepas de *P. aeruginosa* foram inibidas por concentrações de níquel comparáveis ou até menores do que aquelas registradas para a ampicilina. Estudos indicam que o efeito antimicrobiano do níquel pode estar relacionado à liberação de íons Ni^{2+} , os quais interagem com a superfície bacteriana, atravessam a membrana e atingem alvos intracelulares, causando danos estruturais e funcionais (ZARENEZHAD *et al.*, 2022). No entanto, o ligante também exerce influência significativa nesse processo, pois pode modular a estabilidade, solubilidade, permeabilidade celular e a liberação controlada do metal. Pesquisas demonstram que certos ligantes, além de facilitarem o transporte do metal até o interior da célula, podem interagir diretamente com componentes celulares, potencializando o efeito antimicrobiano

(LOPES *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2019). Assim, o mecanismo de ação envolve não apenas o íon metálico, mas também a contribuição ativa do ligante.

Embora o níquel tenha se destacado, os demais compostos também demonstraram resultados relevantes. O cobre, a platina e o paládio apresentaram valores médios de CBM variando de 12,2 a 15,4 µg/mL, com concentrações mínimas tão baixas quanto 1,56 µg/mL em alguns isolados, o que reforça seu potencial antimicrobiano. A atividade do cobre já foi bem documentada em estudos prévios. SOULI *et al.* (2013) observaram efeito bactericida contra isolados clínicos de *E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, enquanto BEETON *et al.* (2014) relataram atividade frente a *Enterococcus faecalis*. HAMZE *et al.* (2025) ainda destacaram o papel do cobre na redução da carga microbiana e na prevenção de infecções associadas à assistência à saúde.

No caso do paládio, SILVA *et al.* (2023) relataram compostos com atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* e resultados promissores no controle de *C. jejuni* resistentes a fluoroquinolonas e macrolídeos. AMARAL *et al.* (2025) sintetizaram novos complexos de paládio com forte ação antimicrobiana, capazes de erradicar *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*, além de inibir biofilmes. Já CHLUMSKY *et al.* (2021) mostraram que compostos de paládio e platina foram capazes de romper membranas bacterianas, reduzir biomassa de biofilmes e inibir bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sem evidências de citotoxicidade aguda *in vitro*.

No presente estudo, além da ação em células planctônicas, também foi avaliada a capacidade de formação de biofilme pelas cepas de *C. jejuni*. Observamos que cinco dos seis isolados (83,3%) foram fortes formadores e que somente a cepa de referência IAL 2383 foi classificada como moderada. Esses achados se alinham a dados prévios. POKHREL *et al.* (2022) observaram que todos os isolados de *C. jejuni* avaliados foram capazes de formar biofilmes em condições microaeróbicas, enquanto SANCHEZ *et al.* (2019), analisando 45 isolados, reportaram capacidade variando de moderada a forte, ressaltando que o suco de frango (*chicken juice*) favorece a adesão bacteriana e prolonga a viabilidade celular.

De fato, no presente trabalho utilizamos esse suplemento para mimetizar as condições industriais, e nossos resultados foram semelhantes aos descritos por MELO *et al.* (2017), que relataram 100% de isolados com forte capacidade de formação de biofilme quando cultivados em caldo enriquecido com *chicken juice*. Isso confirma o papel desse substrato na criação de superfícies condicionadas, ricas em nutrientes, que favorecem a persistência de *C. jejuni* em ambientes industriais, especialmente em abatedouros, onde resíduos proteicos e lipídicos

contribuem para a colonização e manutenção de biofilmes (BROWN *et al.*, 2015; BRONNEC *et al.*, 2016).

A capacidade de formar biofilmes representa um desafio significativo para o controle de *Campylobacter* nas indústrias de alimentos, uma vez que estruturas sésseis são mais resistentes aos métodos convencionais de higienização (limpeza e desinfecção), aumentando o risco de contaminação cruzada e de prejuízos econômicos (OLSEN *et al.*, 2012). Por isso, soluções inovadoras tornam-se essenciais.

Quando os complexos metálicos foram testados em biofilmes já estabelecidos, observamos que todos os complexos metálicos apresentaram atividade contra os biofilmes, reduzindo o IFB de forte ou moderado para níveis fracos ou ausentes. Esse efeito foi confirmado também pelas análises em MEV, que mostraram destruição celular e redução da biomassa. Achados semelhantes foram relatados por MARUTHUPANDY *et al.* (2020), que evidenciaram a ação antibiofilme de nanopartículas de óxido de níquel contra *P. aeruginosa*, e por RAJU *et al.* (2020), que demonstraram a eficácia de Ni-MOFs não apenas na ação antimicrobiana, mas também na inibição e desestruturação de biofilmes de patógenos clínicos, incluindo *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA). Além disso, CHLUMSKY *et al.* (2021) reforçam o papel de compostos de paládio e platina na inibição da formação e redução de biofilmes em diferentes espécies bacterianas. Esses efeitos são atribuídos, em parte, à geração de espécies reativas de oxigênio e à interação direta com componentes da matriz extracelular, como DNA, proteínas e lipídios, o que compromete a estabilidade estrutural do biofilme (QAYYUM & KHAN, 2016; WANG, HU & SHAO, 2017).

Por fim, embora os resultados obtidos sejam promissores, é fundamental considerar as limitações relacionadas à toxicidade e à viabilidade prática do uso desses complexos metálicos em ambientes industriais. Metais como cobre, níquel, paládio e platina já possuem aplicações consolidadas na indústria, atuando como catalisadores em processos químicos, componentes de dispositivos eletrônicos e agentes antimicrobianos em superfícies hospitalares e embalagens alimentícias (GALE *et al.*, 2021; SHAHID *et al.*, 2020). A atividade antimicrobiana observada *in vitro* reforça o potencial desses compostos para aplicações em revestimentos antibacterianos, materiais poliméricos funcionais ou sistemas de purificação de água, onde a liberação controlada dos íons metálicos pode ser explorada de forma eficiente (ZHANG *et al.*, 2018). No entanto, para sua implementação em larga escala, ainda são necessários estudos adicionais que avaliem a estabilidade, segurança e impacto ambiental desses compostos em condições reais de uso.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam que complexos metálicos à base de níquel, cobre, paládio e platina apresentam atividade antimicrobiana e antibiofilme contra isolados resistentes de *C. jejuni*. Entre eles, o NiBTA se destacou pela maior eficácia em células planctônicas e na redução de biofilmes, reforçando seu potencial como candidato a novas estratégias de controle. Ainda que realizados em condições *in vitro*, os achados indicam que esses compostos podem contribuir para o enfrentamento de patógenos multirresistentes, abrindo caminho para estudos futuros que avaliem sua segurança, mecanismos de ação e aplicabilidade em sistemas mais complexos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2024**. São Paulo: ABPA, 2023. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/04/ABPA-Relatorio-Anual-2024_capa_frango.pdf. Acesso em: 8 dez 2024.

ALMEIDA, J. do Couto; MARZANO, I. M.; PAULA, F. C. S. de; PIVATTO, M.; LOPES, N. P.; SOUZA, P. C. de; PAVAN, F. R.; FORMIGA, A. L. B.; PEREIRA-MAIA, E. C.; GUERRA, W. Complexes of platinum and palladium with β -diketones and DMSO: Synthesis, characterization, molecular modeling, and biological studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1075, p. 524-531, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.07.023>.

ALMEIDA, J. C. et al. Copper(II) complexes with β -diketones and N-donor heterocyclic ligands: crystal structure, spectral properties, and cytotoxic activity. **Polyhedron**, v. 85, p. 612–622, 2015.

ALTE, M. A. *et al.* Avaliação da atividade tóxico-genética da enrofloxacina. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, n. 10, p. 21-26, 2012.

ANTIBIOTIC RESISTANCE IN CAMPYLOBACTER spp. - EFSA, The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2021-2022. **EFSA Journal**, 2024.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. *Exportações brasileiras de carne de frango devem recuar em 2025 após recorde histórico em 2024*. São Paulo: ABPA, 2025. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/economia/macroeconomia/exportacao-de-frango-do-brasil-caira-em-2025-apos-gripe-aviaria-diz-abpa/>. Acesso em: 15 set. 2025.

AWAD, W.A., GRENIER, B., RUHNAU, D. *et al.* Diametral influence of deoxynivalenol (DON) and deepoxy-deoxynivalenol (DOM-1) on the growth of *Campylobacter jejuni* with consequences on the bacterial transcriptome. **BMC Microbiol** 24, 306 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03452-9>.

BEUREN, J. **Identificação Molecular de *Campylobacter* spp.: uma revisão bibliográfica.** Instituto de ciências básicas da saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2023.

BIRK, T.; INGEM, H.; ANDERSEN, M. T.; JØRGENSEN, K.; BRØNDSTED, L. Chicken juice, a food-based model system suitable to study survival of *Campylobacter jejuni*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, p. 66–71, 2004. doi: 10.1046/j.1472-765x.2003.01446.x.

BLACKWELL, G. **Regulation of flagellin glycosylation genes in *Campylobacter jejuni*: influence of NssR, the nitrosative stress response regulator.** 2010. 278 f. Thesis (Doctor of Philosophy School of Biosciences) - University of Birmingham, Birmingham, 2010.

BOLINGER, H.; KATHARIOU, S. The current state of macrolide resistance in *Campylobacter* spp.: Trends and impacts of resistance mechanisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, e00416-17, 2017.

BONDARCZUK, K., PIOTROWSKA-SEGET, Z. Molecular basis of active copper resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. **Cell biology and toxicology**, v. 29, n. 6, p. 397-405, 2013.

BROWN, H. L.; REUTER, M.; HANMAN, K.; BETTS, R. P.; van VLIET, A. H. Prevention of biofilm formation and removal of existing biofilms by extracellular DNases of *Campylobacter jejuni*. **PLoS One**, v.10, n.3, 2015.

BUIATTE, A. B. G.; MELO, R. T. de; PERES, P. A. B. M.; BASTOS, C. M.; GRAZZIOTIN, A. L.; RODRIGUEZ, P. M. A.; BARRETO, F.; ROSSI, D. A. Virulence, antimicrobial resistance, and dissemination of *Campylobacter coli* isolated from chicken carcasses in Brazil. **Food Control**, v. 145, p. 109613, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109613>

BUTZLER, J. P.; DE BOECK, M.; GOOSSENS, H. New selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. **The Lancet**, v. 321, n. 8328, p. 818, 1983.

CAPPITELLI, F.; POLO, A.; VILLA, F. Biofilm formation in food processing environments is still poorly understood and controlled. **Food Engineering Reviews**, v. 6, n. 1, p. 29-42, 2014.

CDC.Centers for Disease Control and Prevention. *Campylobacter* (campylobacteriosis). 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/campylobacter/faq.html>. Acesso em: 09 dez 2024.

CHAMPION, G. D.; GRAHAM, G. G.; ZIEGLER, J. B. The gold complexes. **Clin. Rheumatol.**, vol. 4, p. 491–534, 1990.

CHAUDHARY, Ratiram Gomaji; TANNA, Jay A.; GANDHARE, Nilesh V.; RAI, Alok R.; JUNEJA, Harjeet D. **Synthesis of nickel nanoparticles: Microscopic investigation, an efficient catalyst and effective antibacterial activity.** *Advanced Materials Letters*, v. 6, n. 11, p. 990–998, nov. 2015. DOI: 10.5185/amlett.2015.5901.

CARPENTIER, B.; CERF, O. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. **Journal of Applied Microbiology**, v. 75, n. 6, p. 499-511, 1993.

CHEN, H., ZHANG, Y., PAN, Y. *et al.* Antibiotic-induced microbiome depletion promotes intestinal colonization by *Campylobacter jejuni* in mice. **BMC Microbiol** **24**, 156 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03313-5>

CHLUMSKY, O., PURKRTOVA, S., MICHOVA, H., SYKOROVA, H., SLEPICKA, P., FAJSTAVR, D., ULBRICH, P., VIKTOROVA, J., & DEMNEROVA, K. Antimicrobial Properties of Palladium and Platinum Nanoparticles: A New Tool for Combating Food-Borne Pathogens. **International Journal of Molecular Sciences**, 22(15), 7892, 2021.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Produção de carne de frango pode chegar a 16 milhões de toneladas em 2024 e atingir novo recorde, 2023.** Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5174-producao-de-carnefrango-pode-chegar-a-16-milhoes-de-toneladas-em-2024-e-atingir-novo-recorde>. Acesso em: 10 de dezembro de 2024.

Dias TS, Costa GA, de Almeida Figueira A, Dos Santos Machado L, da Cunha NC, do Nascimento ER, de Almeida Pereira VL, de Aquino MHC. Molecular markers associated with antimicrobial resistance and genotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broiler and swine flocks in southeast Brazil. **Comp Immunol Microbiol Infect**

Dis. 2022 Sep;88:101866. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101866. Epub 2022 Aug 18. PMID: 36027679.

DZIANACH, P.A.; DYKES, G.A.; STRACHAN, N.J.C.; FORBES, K.J.; PÉREZ-RECHE, F.J. Unveiling the Mechanisms for *Campylobacter jejuni* Biofilm Formation Using a Stochastic Mathematical Model. **Hygiene** 2024, 4, 326–345. <https://doi.org/10.3390/hygiene4030026>.

EGBEWOLE, B., OGUNSILE, B., ADEOLA, A., OLAWADE, D., ADEKUNLE, Y., & NOMNGONGO, P. Mallotus oppositifolius-mediated biosynthesis of bimetallic nanoparticles of silver and nickel: antimicrobial activity and plausible mechanism(s) of action. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 1–12, 2022.

EFSA/ECDC (European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control). **The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014**. EFSA Journal, v. 14, n. 2, 207 pp, 2016.

EFSA. Scientific Committee. **Re-evaluation of the existing health-based guidance values for copper**. EFSA Journal 2023;21(1):7728.

EFSA CONTAM Panel. **Update of the risk assessment of nickel in food and drinking water**. EFSA Journal 2020;18(3):6268

ELGAMOUDI, B.A.; KOROLIK, V. *Campylobacter* Biofilms: Potential of Natural Compounds to Disrupt *Campylobacter jejuni* Transmission. **Int. J. Mol. Sci.** 2021, 22, 12159. <https://doi.org/10.3390/ijms222212159>.

ELGAMOUDI, B.A.; STARR, K.S.; KOROLIK, V. Extracellular c-di-GMP Plays a Role in Biofilm Formation and Dispersion of *Campylobacter jejuni*. **Microorganisms** 2022, 10, 2030. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10102030>.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). **Carne de aves, 2024**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-deaves#:~:text=A%20carne%20de%20frango%20%C3%A9,custo%2C%20garantindo%20a%20nutri%C3%A7%C3%A3o%20saud%C3%A1vel>. Acesso em: 11 dezembro de 2024.

ESCHERICH, T. Beitrage zur kenntniss der darmbacterien. III. Ueber das vorkommen von vibrionen im darmcanal und stuhlgangen der sauglinge. **Münchener Med Wochenschrift**, v. 33, p. 815-817, 1886.

FACURI, J. C. F. **Isolamento e caracterização molelular de *Campylobacter* termotolerantes de origem avícola**. [tese]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2018. 93 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/9213>. Acesso em: 11 dezembro de 2024.

GALLOWAY, W. R. J. D.; ISIDRO-LLOBET, A.; SPRING, D. R. Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules. **Nat. Comm.**, vol. 1, p. 80, 2010.

GIAOURIS, E. 2023. Relevance and importance of biofilms in the resistance and spreading of *Campylobacter* spp. within the food chain. Pages 77–89 in G. Donelli (Eds.), *Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health*: 17. **Elsevier**, Amsterdam, NL.

GARCÍA-SÁNCHEZ, L.; MELERO, B.; JAIME, I.; ROSSI, M.; ORTEGA, I.; ROVIRA, J. Biofilm formation, virulence and antimicrobial resistance of different ***Campylobacter jejuni*** isolates from a poultry slaughterhouse. **Food Microbiology**, v. 83, p. 193–199, 2019. DOI: 10.1016/j.fm.2019.05.016.

GONÇALVES, A. G. **Padronização de PCR para detecção direta e diferenciação de espécies de *Campylobacter* em Queijo Minas Artesanal**. [dissertação] [Juiz de Fora (MG)]. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2018. 89 p. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/8282>. Acesso em: 15 dezembro de 2024.

GUERRA, W.; SILVA-CALDEIRA, P. P.; TERENCE, H.; PEREIRA-MAIA, E. C. Coord. Chem. **Rev.**, vol. 327, p. 188–199, 2016.

Gomes CN, Frazão MR, Seribelli AA, Barker DOR, Che EV, Nogueira MCL, Taboada EN, Falcão JP. Insights on the genomic diversity, virulence and resistance profile of a *Campylobacter jejuni* strain isolated from a hospitalized patient in Brazil. **Braz J Microbiol.**

2024 Jun;55(2):1381-1391. doi: 10.1007/s42770-024-01314-0. Epub 2024 Mar 28. PMID: 38546951; PMCID: PMC11153483.

HANNING, I. **Capture, survival, colonization and virulence of *Campylobacter jejuni* in poultry biofilms.** 2008. 174 f. Dissertation (Doctor of Philosophy in Cell and Molecular Biology) - University of Arkansas, Arkansas, 2008.

HERPICH, J. I. **A técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para detecção de genes de virulência em *Campylobacter jejuni* e sua aplicação da rotina veterinária.** [monografia]. [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011/2. 59 p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/61041>. Acesso em: 17 dezembro de 2024.

HUNGARO, H. M.; MENDONÇA, R. C. S.; ROSA, V. O.; BADARÓ, A. C. L.; MOREIRA, M. A. S.; CHAVES, J. B. P. Low contamination of *Campylobacter spp.* on chicken carcasses in Minas Gerais state, Brazil: molecular characterization and antimicrobial resistance. **Food Control**, vol. 51, p. 15-22, 2015.

HUNG, A. W.; RAMEK, A.; WANG, Y.; KAYA, T.; WILSON, J. A.; CLEMONS, P. A.; YOUNG, D. W. Route to three-dimensional fragments using diversity-oriented synthesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, vol. 108, p. 6799–6804, 2011.

IGWARAN A. I., ABOI OKOH, “Human campylobacteriosis: A public health concern of global importance,” **Heliyon**, vol. 5, no. 11, p. e02814, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02814> PMID: 31763476.

IOVINE, N. M. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. **Virulence**, v.4, n.3, p.230-240, 2013.

JOHNSTONE, T. C.; SUNTHARALINGAM, K.; LIPPARD, S. J. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. **Chem. Rev.**, vol. 116, p. 3436–3486, 2016.

KAAKOUSH N. O., CASTAÑO-RODRÍGUEZ N., MITCHELL H. M., MAN S. M., “Global epidemiology of *campylobacter* infection,” **Clin. Microbiol. Rev.**, vol. 28, no. 3, pp. 687–720, 2015, <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-15> PMID: 26062576

Kiarie, A., et al. (2023). Prevalence and risk factors associated with the occurrence of *Campylobacter* species in acute enteritis cases in Burkina Faso. **Frontiers in Public Health**, 11, 1147180. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1147180>

KUANA, S. L. Ocorrência de *Campylobacter spp.* em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v. 9, n. 2, p. 480-486, abr./jun. 2008

KUMAR A. *et al.* Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.67, n.1/2, p.153-155, 2001.

LEHTOPOLKU M., NAKARI U. M., KOTILAINEN P., HUOVINEN P., SIITONEN A., AND HAKANEN A. J., “Antimicrobial susceptibilities of multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* and *C. coli* strains: In vitro activities of 20 antimicrobial agents,” **Antimicrob. Agents Chemother.**, vol. 54, no. 3, pp. 1232–1236, 2010, <https://doi.org/10.1128/AAC.00898-09> PMID: 20038624.

LEVY, A. J. A gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of vibrio. **J Infect Dis.** 1946;18:243-258.

LIMA, L. M. **Detecção de genes associados à virulência em cepas de *Campylobacter jejuni* de origem aviária e humana.** [dissertação] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2016. 48 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/171251>.

LOVERING, F.; BIKKER, J.; HUMBLET, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. **J. Med. Chem.**, vol. 52, p. 6752–6756, 2009.

LOVERING, F. Escape from Flatland 2: Complexity and promiscuity. **MedChemComm**, vol. 4, p. 515–519, 2013.

Mayyas A, Al-Qadiri HM, Al-Holy MA, Olaimat AN, Alsmairat TN, Al-Slaihat AH, Al-Alami N, Amr RA, Alaseili R, Bakri FG, Rasco BA, Mahasneh ZMH. Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter jejuni* isolated from retail raw chicken meat in Jordan. **Poult Sci.** 2025 Aug 13;104(11):105657. doi: 10.1016/j.psj.2025.105657. Epub ahead of print. PMID: 40865381

MA, L. et al. *Campylobacter* biofilms. **Microbiological Research, Elsevier**, China, July 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127149>.

Mark E, A. L. G. **Laughlin, Kevin Chatham-Stephens, “Chapter 4 Travel-Related Infectious Diseases,”** 2019. [Online]. Available: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectiousdiseases/campylobacteriosis>. Acesso em: 19 dezembro de 2024.

MONTERO, L.; MEDINA-SANTANA, J.L.; ISHIDA, M.; SAUDERS, B.; TRUEBA, G.; VINUEZA-BURGOS, C. (2024) Transmission of dominant strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* between farms and retail stores in Ecuador: Genetic diversity and antimicrobial resistance. **PLoS ONE** 19(9): e0308030. <https://doi.org/10.1371/journal.Pone.0308030>.

MORGAN, R. B. **Detecção e análise dos genes cadF e flaA de *Campylobacter spp.* em caixas de transporte de frango de corte após processo de lavagem e desinfecção em matadouro frigorífico de aves no Sul do Brasil.** [dissertação] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. 37p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/206537>. Acesso em: 07 de janeiro de 2025.

Ngece, K., et al. (2025). The Antimicrobial Efficacy of Copper Complexes: **A Review.** *Frontiers in Microbiology*.

OLIVEIRA, J. J. **Isolamento e caracterização de *Campylobacter spp.* em carcaças de frango e ovos comerciais.** [dissertação]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2014. 83 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7868>.

O'NEILL, J. **Antimicrobials in Agriculture and the Environment: Reducing Unnecessary Use and Waste the Review on Antimicrobial Resistance** [Internet]. 2015. Disponível em:

<https://amrreview.org/sites/default/files/Antimicrobials%20in%20agriculture%20and%20the%20environment%20-%20Reducing%20unnecessary%20use%20and%20waste.pdf>. Acesso em: 08 de janeiro de 2025.

Organização Mundial da Saúde-OMS (2017a). **Lista Global de Prioridades de Antibióticos Bactérias resistentes orientarão pesquisa, descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos.** Disponível em: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPLShort_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1. Acesso em: 10 de janeiro de 2025.

PERDONCINI, G.; SIERRA-ARGUELO, Y. M.; LIMA, L. M.; TRINDADE, M.M.; GOMES, M. J. P; SANTOS, L.R.; SCHMIDT, V.; NASCIMENTO, V. P. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* on broiler carcasses after chilling in Southern Brazil. **Pesq. Ver. Bras.** 35(4): 349-352. Abril 2015, DOI: 10.1590/S0100-736X2015000400006.

POKHREL, D.; THAMES, H.T.; ZHANG, L.; DINH, T.T.N.; SCHILLING, W.; WHITE, S.B.; RAMACHANDRAN, R.; THERADIYIL SUKUMARAN, A. Roles of Aerotolerance, Biofilm Formation, and Viable but Non-Culturable State in the Survival of *Campylobacter jejuni* in Poultry Processing Environments. **Microorganisms** **2022**, 10, 2165. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112165>.

Popa, S.A.; Herman, V.; Tîrziu, E.; Morar, A.; Ban-Cucerzan, A.; Imre, M.; Pătrînjă, R.-T.; Imre, K. Public Health Risk of *Campylobacter* spp. Isolated from Slaughterhouse and Retail Poultry Meat: Prevalence and Antimicrobial Resistance Profiles. **Pathogens** **2025**, 14, 316. <https://doi.org/10.3390/pathogens14040316>

QAYYUM, S.; KHAN, A.U. Nanoparticles vs. biofilms: A battle against another paradigm of antibiotic resistance. **MedChemComm**, 7, 1479–1498, 2016.

QIN, S. S.; WU C.M.; WANG Y.; JEON B.; SHEN Z.Q.; WANG Y.; ZHANG Q.; SHEN J.Z. Antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* isolated from pigs in two provinces of China. **International Journal of Food Microbiology**, v. 146, n. 1, p. 94-98, 2011.

RAHMAN M. A. *et al.*, “Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Species in Diarrheal Patients in Mymensingh, Bangladesh,” **Biomed Res. Int.**, vol. 2021, pp. 1–9, 2021, <https://doi.org/10.1155/2021/9229485> PMID: 34395627

RAMACHANDRAN, R.; SUKUMARAN, A. T.; ZHANG, L. Increase in temperature facilitates **Campylobacter jejuni** biofilm formation under both aerobic and microaerobic incubation. **Poultry Science**, v. 103, n. 6, p. 103753, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103753>.

RAMIRES, T. *et al.* Genetic diversity, antimicrobial resistance, and virulence genes of thermophilic *Campylobacter* isolated from broiler production chain. **Brazilian Journal of Microbiology**, 51:2021-2032, 2020.

ROSSI, D. A.; DUMONT, C.F.; SANTOS, A.C.D.S.; VAZ, M.E.D.L.; PRADO, R.R.; MONTEIRO, G.P.; MELO, C.B.D.S.; STAMOULIS, V.J.; SANTOS, J.P.D.; MELO, R.T.D.; (2021). Antibiotic Resistance in the Alternative Lifestyles of *Campylobacter jejuni*. **Front. Cell. Infect. Microbiol.** 11:535757. doi: 10.3389/fcimb.2021.535757.

ROSA, S. I. R. **Isolamento e identificação de *Campylobacter* spp. em linguças de frango frescal.** [dissertação]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2015. 73 p. Disponível em:
<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/5142/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Sarah%20In%C3%AAs%20Rodrigues%20Rosa%20-%202015.pdf>.

Sadek SAS, Shaapan RM, and Barakat AMA (2023). Campylobacteriosis in Poultry: A Review. **J. World Poult. Res.**, 13(2): 168-179. DOI: <https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2023.19>

SAENGPHOL, E.; PIRAK, T. Hoary basil seed mucilage as fat replacer and its effect on quality characteristics of chicken meat model. **Agriculture and Natural Resources**, v. 52, n. 4, p. 382-387, 2018.

Shah V, Dabhi M, Soni R, Goswami D. Whole genome data analysis from a one health perspective reveals global landscape of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* over the past decade, revealing striking prevalence of aminoglycoside, tetracycline, and macrolide

resistance genes in Asia. **Microb Pathog.** 2025 Sep;206:107796. doi: 10.1016/j.micpath.2025.107796. Epub 2025 Jun 9. PMID: 40499598

ŞAHİN M, KOÇAK N, ERDENAY D, ARSLAN U. Zn(II), Ni(II), Cu(II) and Pb(II) complexes of tridentate asymmetrical Schiff base ligands: synthesis, characterization, properties and biological activity. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.** 2013.

SANTOS, W.D. *et al.* O PNSA e as mudanças institucionais no comércio avícola brasileiro. **Revista de Política Agrícola**, ano XXXI: 3, 2022.

SARKER, U. *et al.* Nutrients, minerals, antioxidant pigments and phytochemicals, and antioxidant capacity of the leaves of stem amaranth. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1- 9, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-60252-7>. Acesso em: 22 de janeiro de 2025.

SILVA, G. F. ***Campylobacter jejuni*: resistência antimicrobiana desafiada com complexo de paládio, platina, cobre e níquel.** Universidade Federal de Uberlândia Faculdade de Medicina Veterinária. Uberlândia MG, 2024.

SOULI, M.; GALANI, I.; PLACHOURAS, D.; PANAGEA, T.; ARMAGANIDIS, A.; PETRIKKOS, G.; GIAMARELLOU, H. Antimicrobial activity of copper surfaces against carbapenemase-producing contemporary Gram-negative clinical isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, p. 852-857, 2013.

SREY, S. *et al.* Biofilm formation in food industries: A food safety concern. **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 572-585, 2013.

SITHOLE V., AMOAKO D. G., ABIA A. L. K., PERRETT K., BESTER L. A., ESSACK S. Y., “Occurrence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter spp.* In intensive pig production in South Africa,” **Pathogens**, vol. 10, no. 4, 2021, <https://doi.org/10.3390/pathogens10040439> PMID: 33917115

SCARCELLI E. *et al.* Molecular subtyping of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* strains isolated from different animal species in the state of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.36, n.4, p.378-382, 2005.

SIERRA-ARGUELLO, Y. M. **Detecção de fatores de virulência e resistência antimicrobiana em estirpes de *Campylobacter spp.* em isolados humanos e de matadouros-frigoríficos de aves na Região Sul do Brasil.** [tese] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. 147 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/206742>.

SILVA, R. T. C., GUIDOTTI-TAKEUCHI, M., PEIXOTO, J. L. M., DEMARQUI, F. M., MORI, A. P., DUMONT, C. F., FERREIRA, G. R. A., PEREIRA, G. M., ROSSI, D. A., CORBI, P. P., PAVAN, F. R., REZENDE JÚNIOR, C. O., MELO, R. T., & GUERRA, W. New Palladium(II) Complexes Containing Methyl Gallate and Octyl Gallate: Effect against *Mycobacterium tuberculosis* and *Campylobacter jejuni*. **Molecules**, 28(9), 3887, 2023.

SILVA, W.C. *et al.* *Campylobacter*: An overview of cases, occurrence in food, contamination sources, and antimicrobial resistance in Brazil. **Food Reviews International**, 34:364–389, 2018.

SIRINGAN, P.; RIBEIRO, P. L.; PAYNE, I. F. Dispersão bacteriófaga mediada por biofilmes de *Campylobacter jejuni*. **Appl. Meio Ambiente. Microbiol.**, v. 77, pp. 3320- 3326, 2011.

SORO A. B., WHYTE P., BOLTON D. J., TIWARI B. K., “Strategies and novel technologies to control *Campylobacter* in the poultry chain: A review,” **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.**, vol. 19, no. 4, pp. 1353– 1377, 2020, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12544> PMID: 33337085

TACK D. M. *et al.*, “Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food—Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites, 2015–2018,” **Am. J. Transplant.**, vol. 19, no. 6, pp. 1859–1863, 2019, <https://doi.org/10.1111/ajt.15412>

TALAMINI, D.J.D.; MARTINS, F.M. A avicultura brasileira e o mercado mundial de carnes. **Anuário 2022 da Avicultura Industrial**, 114(9):14-21, 2022.

TRAM, G.; DAY, C.J.; KOROLIK, V. Bridging the Gap: A Role for *Campylobacter jejuni* Biofilms. **Microorganisms** **2020**, *8*, 452. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030452>

VAIDYA, M.Y., MCBAIN, A.J., BUTLER, J.A. et al. Antimicrobial Efficacy and Synergy of Metal Ions against *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in Planktonic and Biofilm Phenotypes. **Sci Rep** **7**, 5911, 2017.

VINCENT, MARIN; DUVAL, RAPHAËL E.; HARTEMANN, PHILIPPE; ENGELSDEUTSCH, MARC. Contact killing and antimicrobial properties of copper. **Journal of Applied Microbiology**, 2017.

VINCENT, M. et al. Contact killing and antimicrobial properties of copper. **Journal of applied microbiology**, v. 124, n. 5, p. 1032–1046, 1 maio 2018.

WANG, L.; HU, C.; SHAO, L. The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future. **Int. J. Nanomed.** **12**, 1227–1249, 2017.

WANG, Y.; ZHANG M.; DENG F.; SHEN Z.; WU C.; ZHANG J.; ZHANG Q.; SHEN J. Emergence of multidrug-resistant *Campylobacter* species isolates with a horizontally acquired rRNA methylase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, p. 5405- 12, 2014.

WEAVER, L.; MICHELS, H. T.; KEEVIL, C. W. Survival of *Clostridium difficile* on copper and steel: futuristic options for hospital hygiene. **Journal of Hospital Infection**, v. 68, p. 145-151, 2008.

WHO. World Health Organization. **Five keys to safer food manual**. 2006. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241594639>. Acesso em: 18 dezembro de 2024.

WHO. World Health Organization. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently need**. 2017. Disponível em: <http://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Acesso em: 08 dezembro de 2024.

WHO. World Health Organization. *Campylobacter*. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>. Acesso em: 20 de novembro de 2024.

Worku, M., et al. (2024). *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infection, determinants and antimicrobial resistance patterns among under-five children with diarrhea in Amhara National Regional State, Northwest Ethiopia. **PLOS ONE**, 19(7), e0304409. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0304409>.

WILSON, D. L. *et al.* Identification of ciprofloxacin-resistant *Campylobacter jejuni* by use of a fluorogenic PCR assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, p. 3971-3978, 2000.

WOJCIECHOWSKA, A. *et al.* L-argininato copper(II) complexes in solution exert significant selective anticancer and antimicrobial activities. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 34, n. 8, 1 ago. 2020

Wu, S., *et al.* (2025). Mechanisms Operating in the Use of Transition Metal Coordination Complexes as Antimicrobial Agents. **Frontiers in Pharmacology**, 13, 1570. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1570>

WÜRFEL, S.F.R. *et al.* Genetic diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from poultry meat products sold on the retail market in Southern Brazil. **Poultry Science**, 98(2):932–939, 2019.

WÜRFEL, S.F.R. *et al.* *Campylobacter jejuni* isolated from poultry meat in Brazil: in silico analysis and genomic features of two strains with different phenotypes of antimicrobial susceptibility. **Molecular Biology Reports**, 47(1):671–681, 2020.

WÜRFEL, S.F.R. *et al.* Comprehensive characterization reveals antimicrobial-resistant and potentially virulent *Campylobacter* isolates from poultry meat products in Southern Brazil. **LWT – Food Science and Technology**, 149:111831, 2021.

ZARENEZHAD, Elham; ABDULABBAS, Hussein T.; MARZI, Mahrokh; GHAZY, Esraa; EKRAHI, Mohammad; PEZESHKI, Babak; GHASEMIAN, Abdolmajid; MOAWAD, Amira A. **Nickel nanoparticles: applications and antimicrobial role against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections.** *Antibiotics*, v. 11, n. 9, p. 1208, 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11091208.

ZENG, L.; GUPTA, P.; CHEN, Y.; WANG, E.; JI, L.; CHAO, H.; CHEN, Z.-S. The development of anticancer ruthenium (ii) complexes: From single molecule compounds to nanomaterials. *Chem. Soc. Rev.*, vol. 46, p. 5771–5804, 2017.