

## **RESISTÊNCIA AOS MACROLÍDEOS E CIPROFLOXACINA EM *Campylobacter jejuni* ISOLADOS DE FRANGOS DURANTE AS ETAPAS DE ABATE**

NATALIE RAUBER KLEINUBING<sup>1</sup>; MAURICÉIA GREICI DE OLIVEIRA<sup>2</sup>; SIMONE DE FÁTIMA RAUBER WÜRFEL<sup>2</sup>; MARIANA ALMEIDA IGLESIAS<sup>2</sup>, CRISTIANE VANIEL<sup>2</sup>, WLADIMIR PADILHA DA SILVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – natalierk10@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – simone\_rauber@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – wladimir.padilha2011@gmail.com

### **1. INTRODUÇÃO**

Bactérias do gênero *Campylobacter* são os principais patógenos causadores de gastroenterite de origem alimentar (WHO, 2013) sendo mais frequentes que as ocasionadas por *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* e *Escherichia coli* (ALLOS, 2015). A campilobacteriose humana geralmente não tem caráter agressivo, sendo auto limitante e cursando com sintomas como diarreia, febre e dor abdominal (MOORE et al., 2005). Porém, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, podem ocorrer agravantes como a Síndrome de Guillain-Barré, patologia desmielinizante que evolui para paralisia neuromuscular aguda, podendo levar a morte (ALTERKRUSE et al., 1999).

Os frangos são considerados o principal reservatório intestinal de *C. jejuni*, mas não apresentam sintomatologia clínica (HORROCKS et al., 2008). Devido a isto, o consumo de carne de frango inadequadamente cozida e a contaminação cruzada de alimentos, representam as principais fontes de infecção alimentar por essas bactérias (EFSA/ECDC, 2013).

Mesmo com um número pequeno de casos onde é necessário tratamento, o protocolo terapêutico preconizado é composto por terapia de suporte e uso de antimicrobianos, o que é preocupante devido a crescente resistência de *Campylobacter spp.* a esses fármacos (EFSA/ECDC, 2013).

Alguns antimicrobianos, principalmente os pertencentes a classe das fluoroquinolonas e macrolídeos, apresentam grande importância na medicina humana (WIECZOREK et al., 2013), destacando-se como tratamento utilizado nas infecções graves ocasionadas por *Campylobacter spp.* (EFSA/ECDC, 2013).

Frente ao exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência a antimicrobianos pertencentes a classe dos macrolídeos e das fluoroquinolonas em *C. jejuni* isolados de frangos durante as etapas de abate

### **2. METODOLOGIA**

Foram analisados 38 isolados de *C. jejuni* oriundos de frangos amostrados após as etapas de sangria, escalda, depenagem, evisceração e *chiller*, em abatedouro localizado na região sul do Rio Grande do Sul. A resistência a antimicrobianos foi testada pela técnica de disco difusão em ágar, através do método *Kirby-Bauer* (BAUER et al., 1966).

Inicialmente, preparou-se uma suspensão bacteriana em solução salina 0,85 % a partir do cultivo em AS2, que foi ajustada para  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>, de acordo

com a escala 0,5 de *McFarland*. Em seguida, essa suspensão foi inoculada em ágar Mueller-Hinton (Acumedia®) adicionado de 5% de sangue equino desfibrinado e 20mg.L<sup>-1</sup> de β-NAD (Sigma-Aldrich®), com auxílio de um suabe esterilizado. Após, os discos contendo os princípios ativos a serem testados foram colocados na superfície do ágar e incubou-se a 41 ± 1°C por 24 - 48h, em condições de microaerofilia, conforme recomendações do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2015a).

As análises foram realizadas utilizando discos impregnados (Laborclin®) com princípios ativos pertencentes a classe dos macrolídeos (azitromicina - AZI 15µg, claritromicina - CLA 15µg e eritromicina - ERI 15µg) e das fluoroquinolonas (Ciprofloxacina - CIP 5µg).

O tamanho do halo de inibição formado foi medido e comparado com o valor apresentado na tabela de interpretação estabelecida pela *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2015b). O isolado foi classificado como sensível ou resistente ao antimicrobiano analisado. Como controle, foi utilizada a cepa *C. jejuni subsp. jejuni* ATCC 33560.8

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de isolados de *C. jejuni* avaliados (n=38), 47,36% (n=18) apresentaram resistência a ciprofloxacina. Todas as amostras avaliadas foram sensíveis aos macrolídeos testados (Figura 1).

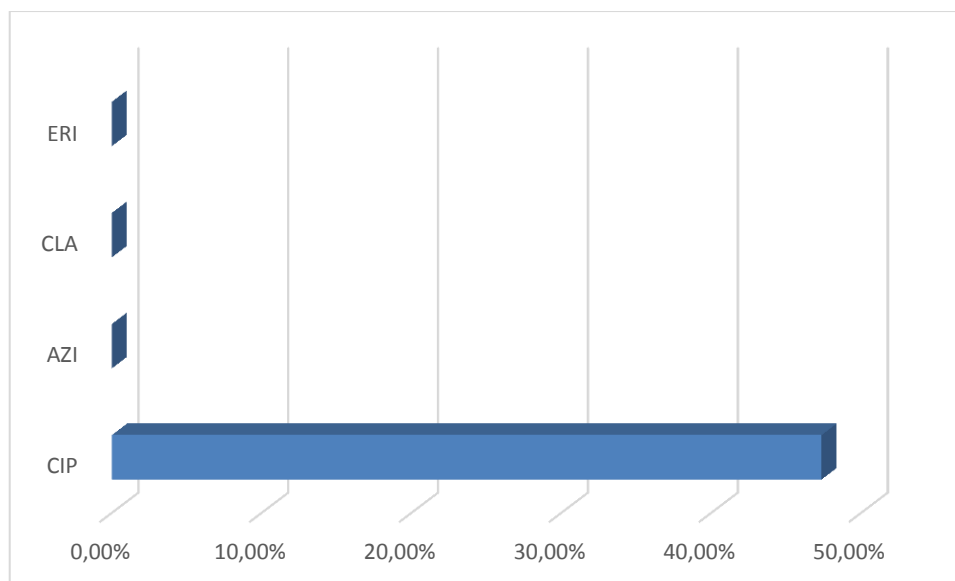


Figura 1 - Percentual de resistência a antimicrobianos em *Campylobacter jejuni* isolados de frangos durante as etapas de abate. AZI - azitromicina; CLA - claritromicina; ERI - eritromicina; CIP – ciprofloxacina

Considerando que os frangos avaliados haviam sido tratados com enrofloxacin, também pertencente a classe das fluoroquinolonas, é possível inferir que a resistência a ciprofloxacina observada esteja correlacionada com a medicação administrada.

Este resultado corrobora os resultados obtidos por Wieczorek, Denis e Osek (2015), que também encontraram um elevado percentual de isolados de *C. jejuni* resistentes a ciprofloxacina em carcaças de frangos abatidos na Polônia.

As fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, são utilizadas para tratamento de diarreia bacteriana aguda, assim, nos casos onde não se obtém o diagnóstico definitivo de campilobacteriose, os animais são tratados empiricamente com essa classe de medicamentos (IOVINE, 2013). Desta forma, a resistência a ciprofloxacina observada nesse estudo enfatiza a importância da adoção de medidas no controle do uso de antimicrobianos, tanto na saúde humana, quanto em animais de produção, pois uma vez que a bactéria adquire resistência ao princípio ativo, a terapêutica da doença é prejudicada.

Foi possível observar, ainda, que os isolados apresentaram sensibilidade frente aos três macrolídeos testados. Considerando que os macrolídeos são as drogas recomendadas para o tratamento de campilobacteriose em humanos (ROZYNEK et al., 2013) e que a eritromicina é a primeira escolha, pois os níveis de resistência são baixos (SKIRROW; BLASER, 1995), é possível inferir que essa classe de antimicrobianos ainda é eficaz na ação contra *C. jejuni*, sendo assim uma boa opção terapêutica.

#### 4. CONCLUSÕES

*C. jejuni* apresentou sensibilidade aos macrolídeos testados, porém mostrou resistência significativa à ciprofloxacina, o que enfatiza a importância do controle no uso de antimicrobianos na produção animal e na saúde humana.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro (Processo nº 483807/2012-5). À Capes, CNPq e FAPERGS pela concessão de bolsas de estudo. À Fundação Oswaldo Cruz pela cessão das linhagens bacterianas utilizadas como controle.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLOS, B.M. *Campylobacter jejuni* Infections: Update on Emerging Issues and Trends. **Clinical Infectious Disease**. Oxford, v.61, n.2, p.1201 – 1206, 2015.

ALTEKRUSE, S. F.; STERN, N. J.; FIELDS, P. I.; SWERDLOW, D. L. *Campylobacter jejuni*: an emerging foodborne pathogen. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n. 1, p. 28-35, 1999.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M., SHERRIS, J. C. TURCK, M. Antimicrobial susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.

EFSA/ECDC (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY/EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. **EFSA Journal**; 11(4): 3129, p. 250, 2013.

EUCAST (EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING), 2015a. Antimicrobial susceptibility testing – EUCAST disk diffusion method - Version 5.0. Disponível em: <

[http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/Manual\\_v\\_5.0\\_EUCAST\\_Disk\\_Test.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Manual_v_5.0_EUCAST_Disk_Test.pdf)>. Acesso em: 05 jul 2015.

EUCAST (EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCETIBILITY TESTING), 2015b. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Disponível em: <[http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_5.0\\_Breakpoint\\_Table\\_01.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_5.0_Breakpoint_Table_01.pdf)>. Acesso em: 05 jul 2015.

HORROCKS, S. M.; ANDERSON, R. C.; NISBET, D. J.; RICKE, S.C. Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and *coli* in animals. **Anaerobe**, Austria, v.15, p. 18-25, 2008.

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

MOORE, J. E.; CORCORAN, D.; DOOLEY, J. S. G.; FANNING, S.; LUCEY, B.; MATSUDA, M.; MCDOWELL, D. A.; MÉGRAUD, F.; MILLAR, B. C.; O'MAHONY, R.; O'RIORDAN, L.; O'ROURKE, M.; RAO, J. R.; ROONEY, P.J.; SAIL, A.; WHYTE, P. *Campylobacter*. **Veterinary research**, v. 36, p. 351-382, 2005.

ROZYNEK, E.; MACKIW, E.; KAMINSKA, W.; TUMCZUK, K.; ANTOS – BIELSKA, M.; DZIERZANOWSKA – FANGRAT, K.; KORSK, D. Emergence of Macrolide-Resistant *Campylobacter* Strains in Chicken Meat in Poland and the Resistance Mechanisms Involved. **Foodborne Pathogens and Disease**. v. 10 n. 7, 2013.

SKIRROW, M.B.; BLASER, M. J. *Campylobacter jejuni*. **Infections of the gastrointestinal tract**. New York, Raven Press, p. 825–848, 1995.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2013. **The Global View of Campylobacteriosis: report of expert consultation**. Utrecht, Netherlands, p. 9-11, 2012.

WIECZOREK, K.; DENIS, E.; LYNCH, O.; OSEK, J. Molecular characterization and antibiotic resistance profiling of *Campylobacter* isolated from Cattle in Polish slaughterhouses. **Food microbiology**, v. 34, p. 130 – 136, 2013.

WIECZOREK, K.; DENIS, E.; OSEK, J. Comparative analysis of antimicrobial resistance and genetic diversity of *Campylobacter* from broilers slaughtered in Poland. **Food Microbiology**, v. 210, p. 24 – 32, 2015.