

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
ESCOLA DE VETERINÁRIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS AGENTES ANTICIMROBIANOS DE AMOSTRAS
DE *Campylobacter* sp. ISOLADAS DE ANIMAIS EM MINAS GERAIS**

CRISTIANE PINHEIRO TOSCANO DE BRITO

**Belo Horizonte
UFMG - Escola de veterinária**

2004

Cristiane Pinheiro Toscano de Brito

**PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS DE AMOSTRAS
DE *Campylobacter* sp. ISOLADAS DE ANIMAIS EM MINAS GERAIS**

**Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em
Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária**

**Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva
Orientador: Prof. Andrey Pereira Lage**

**Belo Horizonte
UFMG - Escola de Veterinária**

2004

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	5
INTRODUÇÃO	6
OBJETIVO	15
MATERIAL E MÉTODOS	16
Amostras	16
Condições de cultivo	17
Determinação da Concentração Inibitória Mínima	17
Preparo do inóculo	18
Controle de Qualidade	18
RESULTADOS	19
DISCUSSÃO	23
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tabela 1- Amostras de <i>Campylobacter</i> sp. isoladas de animais em Minas Gerais	16
Tabela 2	Valores dos pontos de corte utilizados para determinar a resistência em <i>Campylobacter</i> sp.	17
Tabela 3	CIM 50 e CIM 90 das 49 amostras de <i>Campylobacter</i> sp. testadas	19
Tabela 4	Perfil de resistência das amostras de <i>C. fetus</i> isoladas de fezes de bezerro	21
Tabela 5	Perfil de resistência das amostras de <i>C. fetus</i> isoladas do trato genital de bovinos	21
Tabela 6	Perfil de resistência das amostras de <i>C. jejuni</i> e <i>C. coli</i> isoladas de suab retal de frangos	21
Tabela 7	Perfil de resistência das amostras de <i>C. jejuni</i> e <i>C. coli</i> isoladas de suab retal de suínos	22
Tabela 8	Perfil de resistência das amostras de <i>C. jejuni</i> isoladas de fezes de cão	22
Tabela 9	Perfil de resistência das amostras de <i>C. jejuni</i> isoladas de fezes de saguis	22

RESUMO

O padrão de susceptibilidade de 49 amostras de *Campylobacter* sp., 23 *C. fetus*, 18 *C. jejuni* e 8 de *C. coli* isoladas de bovinos, suínos, cães, frangos e sagüis em Minas Gerais foi determinado pelo método de diluição em ágar para 13 antimicrobianos: ácido nalidíxico, ampicilina, canamicina, cefoperazona, cloranfenicol, eritromicina, estreptomicina, gentamicina, penicilina G, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfametoxazol + trimetoprim e tetraciclina. Todas as amostras de *Campylobacter* sp. testadas foram sensíveis a gentamicina. Todas as amostras de *C. fetus* isoladas do trato genital foram sensíveis a estreptomicina. As amostras de *C. jejuni* e *C. coli* isoladas de aves e principalmente de suínos apresentaram maior resistência aos agentes antimicrobianos que os isolados de bovinos, cães e sagüis. Três amostras de *C. coli* e duas de *C. jejuni* isoladas de suínos foram as únicas amostras dessas espécies resistentes a eritromicina. Três amostras de *C. coli*, quatro amostras de *C. jejuni* e uma de *C. fetus* apresentaram resistência múltipla aos antimicrobianos testados.

ABSTRACT

The susceptibilities of the 49 *Campylobacter* sp. strains, 23 *C. fetus*, 18 *C. jejuni*, e 8 *C. coli*, searched of the bovine, swine, dogs, broilers and marmosets was determinate for the agar dilution method for the 13 antimicrobial agents, nalidixic acid, ampicillin, kanamycin, cefoperazone, chloranphenicol, erythromycin, streptomycin, gentamicin, penicillin G, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfamethoxazole+ trimethoprim and tetracycline. All *Campylobacter* strains were susceptible to gentamicin. All genital tract isolated *C. fetus* were susceptible to streptomycin. *C. jejuni* and *C. coli* strains isolated from chicken and mostly swine showed most resistance to the antimicrobial agents than the bovine, dogs and marmosets isolated strains. Three *C. coli* and *C. jejuni* strains isolated from swine were the only strains resistant to erythromycin. Three *C. coli*, four *C. jejuni* and one *C. fetus* strains were multiresistant all antimicrobial agents.

INTRODUÇÃO

A determinação do padrão de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos para *Campylobacter* sp. é importante por diversas razões, entre elas permitir a identificação de drogas que *Campylobacter* sp. são sensíveis, podendo essas drogas serem utilizadas no tratamento de doenças, quando necessário; selecionar os antibióticos que *Campylobacter* sp. são sempre resistentes, podendo essas drogas serem utilizadas para melhorar a seletividade do meio de isolamento e detectar amostras que possuem um padrão de resistência "especial", que possivelmente pode ser devido a presença de plasmídeos.

Dentre as espécies de *Campylobacter* existentes, *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* e *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* são os principais patógenos animais, enquanto *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* são os principais causadores de diarreia no homem, principalmente em crianças menores de cinco anos. A Campilobacteriose está difundida por todo mundo, causando grandes prejuízos econômicos, principalmente na área veterinária, sendo as espécies animais importantes reservatórios para a transmissão da bactéria ao homem, constituindo assim uma zoonose de incidência elevada.

O presente trabalho tem como objetivo determinar o padrão de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de 48 amostras de *Campylobacter* sp. isoladas de animais em Minas Gerais.

REVISÃO DE LITERATURA

Os microorganismos do gênero *Campylobacter* são bastonetes gram negativos, espiralados em forma de vírgula ou "asa de gaivota". Medem de 0,2 a 0,8 μm de largura e de 0,5 a 5 μm de comprimento. São microaerófilos, necessitando de uma atmosfera rica em CO_2 (10%) e reduzida concentração de O_2 (5%). A temperatura ótima de crescimento varia segundo as espécies entre 22°C e 45°C (Vandamme, 2000). Possuem um ou dois flagelos polares, sendo sua motilidade característica melhor observada em microscopia de contraste de fase ou de campo escuro (Vandamme, 2000). Células de culturas velhas podem formar corpos cocóides, considerados formas degenerativas que ficam em estado de dormência (Hazeleger et al., 1994).

Campylobacter fetus se divide em duas subespécies: *C. fetus* subsp. *fetus* e *C. fetus* subsp. *venerealis*. *C. fetus* subsp. *fetus* pode causar aborto em ovelhas, abortos esporádicos em bovinos e infecção esporádica no homem, podendo ser isolada de placentas, conteúdos estomacais e do sangue de fetos abortados de ovelhas e vacas; e dos conteúdos intestinais e bile de ovelhas e vacas infectadas (Vandamme, 2000). No homem, é esporadicamente isolada do sangue, fluido espinhal, fetos abortados e abscessos em várias das partes do corpo (Vandamme, 2000). *C. fetus* subsp. *venerealis* pode causar aborto e infertilidade em bovinos e pode ser isolada da mucosa vaginal de vacas infectadas, do sêmen e prepúcio de touros e da placenta e tecidos de fetos abortados (Vandamme, 2000).

C. jejuni e *C. coli* são os principais agentes etiológicos de diarreia em crianças menores de 5 anos. Nas espécies domésticas causam diarreia em neonatos, mas a maioria destes hospedeiros colonizada por *Campylobacter* sp. não manifesta nenhum tipo de doença (Vandamme, 2000). Os animais domésticos possuem um importante papel na epidemiologia da infecção intestinal por microorganismos do gênero *Campylobacter*. As aves domésticas e selvagens, os suínos e bovinos, os cães e os gatos podem ser considerados importantes reservatórios de *Campylobacter* sp. para o homem, constituindo uma zoonose de incidência elevada (Blaser et al., 1980).

Surtos de diarreia por *C. jejuni* e *C. coli* no homem, estão frequentemente associados a ingestão de leite não pasteurizado e fontes de águas contaminadas. O consumo de carnes mal cozidas de frango, de suínos e de bovinos também está associado a casos esporádicos de diarreia (Vogt et al., 1982; Hopkins e Scott, 1983; Orr et al., 1995).

Nos países em desenvolvimento, como por exemplo o México, a incidência anual de diarreia por *C. jejuni* é muito alta: 2,1 casos de diarreia por criança com idade inferior a 5 anos. *C. jejuni* foi mais frequentemente isolado de casos de diarreia do que outros agentes etiológicos, como *Salmonella* sp, *Shigella* sp e *Escherichia coli* invasiva (Calva et al., 1988). Infelizmente, no Brasil, não existem trabalhos epidemiológicos que avaliem a real situação de infecção por *Campylobacter* sp. em crianças.

O desenvolvimento de resistência aos agentes antimicrobianos principalmente nas últimas quatro décadas tem levado a uma discussão intensa sobre o seu modo de uso, principalmente em medicina veterinária, onde o uso e o aparecimento de resistência aos agentes antimicrobianos em bactérias isoladas de animais estão relacionados com o aparecimento de resistência em amostras isolados do homem (Caprioli et al., 2000).

A escolha de um antimicrobiano para o tratamento de uma infecção bacteriana deve seguir determinados critérios. Em geral, dois princípios importantes são a identificação do organismo infectante (quando possível) e a determinação de sua sensibilidade aos agentes antimicrobianos. Além disso, deve-se levar em consideração alguns aspectos do hospedeiro, como a exposição prévia a antibióticos, a idade, as funções hepática e renal, o local da infecção, a administração concomitante de outras drogas que possam interagir com o antibiótico e o fato do paciente estar gestante ou tratar-se de um paciente com o sistema imunológico comprometido (Rang, et al., 1997).

O tratamento específico da enterite por *C. jejuni* com drogas antimicrobianas está indicado apenas em situações especiais, como doença grave, de evolução prolongada (Blaser e Reller, 1981). Desde a identificação de enterites causadas por *Campylobacter* sp. na década

de 70, a eritromicina tem sido comumente usada no tratamento da diarreia por *C. jejuni* (Elharrif et al., 1985; Karmali et al., 1981; Nolan et al., 1983; Vanhoof et al., 1978).

A eritromicina é um antimicrobiano pertencente ao grupo dos macrolídeos que possui amplo espectro, semelhante ao da penicilina podendo ser uma alternativa segura e eficaz para pacientes sensíveis a penicilina. O mecanismo de ação da eritromicina é a inibição da síntese de proteínas. Sua ação pode ser bacteriostática ou bactericida dependendo da concentração e do tipo de microorganismo. A eritromicina difunde-se rapidamente para a maioria dos tecidos, inclusive para o líquido prostático e placenta. A meia vida plasmática da eritromicina é cerca de 90 minutos. Essa droga é parcialmente inativada no fígado e sua principal via de eliminação é a bile (Rang et al., 1997).

A taxa de resistência à eritromicina em amostras de *C. jejuni* isoladas do homem, variou entre 0 e 11%, sendo esta taxa geralmente maior para *C. coli*, variando de 0 a 68% (Nachamkin et al., 2000). Com o passar do tempo, a resistência à eritromicina mostrou-se estável e com baixas taxas no Japão, Canadá, Finlândia e Dinamarca, enquanto que dados descritos na Tailândia e Suécia relataram o desenvolvimento de amostras resistentes (Harnett et al., 1995; Sjogren et al., 1997). Vanhoof et al., (1980,1982) relataram uma prevalência de 2 a 4% de amostras resistentes a eritromicina na Bélgica. A frequência de amostras resistentes a eritromicina encontradas em aves domésticas foi cerca de 8% (Svedhem et al., 1981; Vanhoof et al., 1982). Também foram encontradas amostras resistentes à eritromicina em isolados de carneiros e novilhos (Vanhoof et al., 1982). De acordo com Wang et al., (1984) e Elharrif et al., (1985) amostras de *C. jejuni* isoladas de animais domésticos foram significativamente mais resistentes à eritromicina do que os isolados humanos. Em estudo realizado na Tailândia, Taylor et al., (1987) demonstraram que a resistência a eritromicina é um achado comum entre as amostras de *C. jejuni* (53%) e *C. coli* (93%) isoladas de crianças diarreicas. Taylor et al., (1987) relataram ainda que o tratamento com esse macrolídeo não alterou o período da duração da diarreia, nem mesmo a sintomatologia apresentada. Amostras de *C. jejuni* resistentes a eritromicina apresentam um mesmo perfil para outros antibióticos do mesmo grupo, como a espiramicina, tilosina e a clindamicina. Foi demonstrado por Taylor e Courvalin (1988) que esse fenótipo é

mediado por genes cromossômicos e não por genes plasmidiais. As razões para as diferenças geográficas na resistência das amostras a eritromicina não são bem conhecidas. Não é claro se a resistência a eritromicina se desenvolve durante o tratamento, embora isolados pós-tratamento resistentes tenham sido descritos (Pitkanen et al., 1982; Funke et al., 1994; Snijders et al., 1997).

A maioria das amostras de *C. jejuni* e *C. coli* isoladas do homem e de espécies domésticas são resistentes aos agentes β -lactâmicos, principalmente penicilinas e cefalosporinas (Van der Auwera e Scorneaux, 1985). A penicilina G ou benzilpenicilina e a ampicilina são antibióticos do grupo dos β -lactâmicos que também inclui as cefalosporinas. A penicilina G ou benzilpenicilina tem atividade contra uma ampla gama de microorganismos e é a droga de escolha para muitas infecções. Seus principais entraves são a absorção precária na via gastrointestinal (que implica a necessidade de sua administração via intramuscular) e sua sensibilidade às β -lactamases bacterianas. A penicilina G tem efeito bactericida e seu mecanismo de ação é a interferência na síntese do peptídeoglicano da parede celular bacteriana. A eliminação da maioria das penicilinas é principalmente renal, 90% por secreção tubular, e ocorre rapidamente. A meia vida plasmática relativamente curta é um dos problemas principais com o emprego clínico da penicilina G. Os principais efeitos indesejáveis das penicilinas são as reações de hipersensibilidade, cuja base é o fato de os produtos da degradação da penicilina combinarem-se com proteínas do hospedeiro e tornarem-se antigênicos (Rang et al., 1997).

A cefoperazona é uma cefalosporina de terceira geração que possui melhor atividade contra bactérias gram negativas. O mecanismo de ação desta droga é idêntico aos das penicilinas - interferência na síntese do peptídeoglicano da parede celular bacteriana. A meia vida da cefoperazona é de cerca de 2 horas e a excreção é principalmente biliar (Rang et al., 1997).

A ampicilina, também do grupo dos β lactâmicos, possui espectro semelhante ao da penicilina, sendo considerada um pouco menos potente. O mecanismo de ação da ampicilina é o mesmo da penicilina e a meia vida de 80 minutos, sendo excretada pela bile e

na urina. A ampicilina não é recomendada para tratamento de infecções causadas por *C. jejuni* (Gaudreau e Gilbert, 1998).

A β -lactamase de *C. jejuni* e *C. coli* parece exercer papel importante na resistência a ampicilina. Para penicilina G e cefalosporinas o mecanismo de resistência de *C. jejuni* e *C. coli* é considerado dependente principalmente da sua limitada capacidade de se ligar a bactéria e a sua permeabilidade (Lachance, et al., 1991,1993; Tajada et al., 1996). A sensibilidade de *Campylobacter* sp. a cefalotina tem uma grande importância taxonômica e é uma característica fenotípica relevante para diferenciar as espécies do gênero. Karmali et al., (1980) verificaram que as amostras de *C. jejuni* são mais sensíveis à cefotaxima sódica do que o *C. fetus* subsp. *fetus*.

Resistência a agentes β -lactâmicos é comum em *Campylobacter* sp. isoladas da homem e de espécies domésticas, mas o número de amostras resistentes varia dependendo do agente β -lactâmico em questão. Muitas amostras de *C. jejuni* são resistentes a penicilina G e a algumas cefalosporinas (Larivière et al., 1986; Lachance et al., 1991; Tajada et al., 1996); já a taxa de resistência a ampicilina é menor. Amostras de *C. coli* são mais sensíveis aos agentes β -lactâmicos que *C. jejuni*. Amostras de *C. coli* são, em sua maioria, resistentes a penicilina G e a algumas cefalosporinas, mas 96% dessas amostras são sensíveis a ampicilina (Lachance et al., 1993).

Embora as tetraciclina tenham sido sugeridas como a alternativa de escolha para o tratamento de enterites causadas por *C. jejuni* e *C. coli*, grandes diferenças geográficas na susceptibilidade dessas espécies, isoladas do homem e de espécies domésticas, à tetraciclina tem sido relatadas.

As tetraciclina são antibióticos bacteriostáticos que atuam por inibição da síntese protéica. O espectro de atividade das tetraciclina é muito amplo, entretanto, muitas amostras de microorganismos tornaram-se resistentes a estes agentes, fato este que reduziu a sua utilidade (Rang et al., 1997). As tetraciclina tem uma ampla distribuição e penetram a

maioria dos compartimentos líquidos, atravessam a placenta até o feto e aparecem no leite. A excreção da maioria das tetraciclinas é realizada pelas vias biliar e renal, esta última por filtração glomerular (Rang et al., 1997).

A taxa de resistência de isolados de *Campylobacter* sp. isoladas do homem e de espécies domésticas à tetraciclina encontrada na Dinamarca variou entre 0 a 11% e a resistência em isolados humanos foi maior do que em isolados de animais domésticos (Aarestrup et al., 1997; Anonymous, 1998). Na Espanha, foi encontrada uma taxa de 25% de amostras resistentes a tetraciclina (Gomez et al., 1995), nos Estados Unidos de 48% (Anonymous, 1998; Nachamkin, 1994), em Israel de 70% (Schwartz et al., 1993), em Singapura de 79% (Lim e Tay, 1992) e em Taiwan de 85 a 95% (Li et al., 1998). Em estudos realizados no Canadá, em 1998, Gaudreau e Gilbert reportaram um significativo aumento na resistência de *C. jejuni* à tetraciclina de 19,1% em 1985-1986 para 55,7% em 1995-1997. Em geral, o uso da tetraciclina não é recomendado, mas ela pode ser usada em áreas de baixa resistência, ou melhor, após o teste de susceptibilidade em isolados clínicos em situações quando outros agentes são contra-indicados pela resistência das amostras ou de respostas idiosincráticas em pacientes (Nachamkin, 2000).

No Brasil, podem-se citar os trabalhos de Jaramillo (1983), Mendes (1985) e Dias et al., (1990), que relataram o encontro de amostras de *C. jejuni* resistentes a tetraciclina.

Na década de 1990, houve um surpreendente aparecimento de amostras de *Campylobacter* sp. e outros enteropatógenos resistentes ao ácido nalidíxico (quinolona) e às fluoroquinolonas. Antes de 1990, amostras de *Campylobacter* sp. resistentes à quinolonas eram raramente encontradas. Com a introdução da enrofloxacina (um derivado da ciprofloxacina) em medicina veterinária, foi relatado o aparecimento de um grande número de amostras de *Campylobacter* sp. isoladas do homem resistentes as quinolonas (Adler et al., 1991; Rautelin et al., 1991; Chatzipanagiotou et al., 1993; Reina et al., 1994). A sensibilidade ao ácido nalidíxico é uma importante característica taxinômica para diferenciar espécies do gênero *Campylobacter* (Carvalho, 1992).

O cloranfenicol possui amplo espectro de atividade antimicrobiana. É bacteriostático e seu mecanismo de ação é pela inibição da síntese protéica. Quando administrado por via oral, o cloranfenicol é rápida e completamente absorvido, atingindo a sua concentração plasmática máxima em 2 horas. Distribui-se amplamente pelos tecidos e líquidos corporais, inclusive pelo sistema nervoso central, onde sua concentração pode atingir níveis equivalentes a 60% dos níveis plasmáticos. No plasma, 30 a 50% do cloranfenicol ligam-se a proteínas, e a meia vida é de aproximadamente 2 horas. Cerca de 10% da droga é excretada sem sofrer modificações na urina e o restante é inativado pelo fígado. O cloranfenicol pode causar depressão da medula óssea, que gera uma diminuição em todos os elementos celulares sangüíneos. Seu uso deve ficar reservado apenas para infecções graves, nas quais os benefícios da droga sejam maiores do que o risco de toxicidade (Rang et al., 1997).

Larivière et al., (1986) e Taylor (1992), demonstraram em seus estudos, que a resistência de isolados de *Campylobacter* sp. ao cloranfenicol é muito baixa, com taxas variando de 0,6 a 10%. Vanhoof et al., (1982) demonstraram que o cloranfenicol foi considerado um dos compostos mais ativos contra isolados de *C. jejuni* e a maioria dos isolados foram inibidos por uma concentração de 8 µg/ml. Apesar da boa atividade do cloranfenicol contra *Campylobacter* sp., seu uso em animais foi proibido devido aos riscos que resíduos desta droga na carne, leite e ovos oriundos de animais tratados podem causar a saúde pública. Os estudos toxicológicos e o estabelecimento dos limites máximos de resíduos ainda não foram estudados (Brasil, 1998).

Os aminoglicosídeos são um grupo de antibióticos com uma estrutura química complexa que se assemelham quanto a atividade antimicrobiana, características farmacocinéticas e toxicidade. Estreptomicina, gentamicina e canamicina, pertencem a esse grupo de antibióticos (Rang et al., 1997). Os aminoglicosídeos inibem a síntese protéica bacteriana e são bactericidas. São mais amplamente usados contra os microorganismos entéricos gram negativos, sendo a gentamicina mais comumente utilizada. Os aminoglicosídeos não são absorvidos na via gastrointestinal, sendo geralmente administrados por via intramuscular ou intravenosa. Os aminoglicosídeos penetram o humor vítreo ocular ou atingem concentrações elevadas em secreções e líquidos corporais. A meia vida plasmática desses

compostos é de 2 a 3 horas, sendo a eliminação feita quase totalmente por filtração glomerular renal. Os aminoglicosídeos podem ter sérios efeitos colaterais prejudiciais a audição relacionados com a dose (Rang et al., 1997).

Os aminoglicosídeos estão entre os compostos mais ativos, sendo a gentamicina considerada a droga dessa classe de antibióticos com melhor atividade em isolados de *C. jejuni* de homem e de animais domésticos (Ahonkhai et al., 1981; Buck e Kelly, 1982; Karmali et al., 1981; Ringertz et al., 1981; Svedhem et al., 1981; Vanhoof et al., 1978, 1980, 1982), mas a estreptomicina apresentou atividade razoável sobre isolados de *C. jejuni* (Vanhoof et al., 1982).

Resistência aos aminoglicosídeos têm sido reportadas em *C. jejuni* e *C. coli*, sendo menos comum em *C. jejuni*. Estudos realizados com canamicina encontraram uma taxa de 3% de amostras de *C. jejuni* e de 11 a 20% de amostras *C. coli* resistentes (Trieber e Taylor, 2000).

As sulfonamidas são bacteriostáticas e atuam por interferência com a síntese do ácido fólico, e portanto, com a síntese de nucleotídeos. As sulfonamidas são rapidamente absorvidas na via gastrointestinal e atingem concentrações plasmáticas máximas em 4 a 6 horas. São biotransformadas principalmente no fígado e excretadas na urina (Rang et al., 1997).

As sulfonamidas possuem fraca atividade sobre isolados de *C. jejuni*. Em estudos realizados por diversos autores (Karmali et al. 1981; Ringertz et al. 1981; Vanhoof et al., 1982) foi constatado que a maioria das amostras de *C. jejuni* isoladas do homem e de animais foram resistentes ao sulfametoxazol. O mesmo foi válido para sulfadiazina (Svedhem et al., 1981).

Poucos dados estão disponíveis sobre a susceptibilidade de *C. fetus* subsp. *fetus* aos agentes antimicrobianos. De acordo com Butzler et al., (1974) e Chow et al., (1978), *C. fetus*

subsp. *fetus* é relativamente sensível à penicilina e a maioria das amostras foi sensível a ampicilina e relativamente resistente às cefalosporinas. Karmali et al., (1980) demonstraram que *C. fetus* subsp. *fetus* foram significadamente mais sensíveis a maioria das cefalosporinas do que *C. jejuni*.

Em estudos realizados por diversos autores, 100% dos isolados de *C. fetus* foram sensíveis a ampicilina (Spelhaug et al., 1981; Goossens et al., 1989, Tremblay et al., 2003).

Butzler et al., (1974) e Chow et al., (1978), reportaram que isolados de *C. fetus* subsp. *fetus* foram altamente sensíveis às tetraciclinas, gentamicina e estreptomicina. Eritromicina não parece ter uma atividade uniforme sobre *C. fetus* subsp. *fetus*. Chow et al., (1978) demonstraram que uma pequena porcentagem dos isolados de *C. fetus* subsp. *fetus* foram resistentes à eritromicina, com CIMs variando de 0,2 a ≥ 25 $\mu\text{g/ml}$ e com uma CIM 50 igual a 2,5 $\mu\text{g/ml}$, enquanto que nos estudos de Butzler et al., (1974), todas as amostras foram totalmente sensíveis, com CIMs variando entre 0,097 a 1,56 $\mu\text{g/ml}$.

Nos estudos realizados por Tremblay et al., (2003), no Canadá em isolados de pacientes infectados com *C. fetus* a gentamicina foi considerada a droga mais eficaz e não foi encontrada nenhuma amostra resistente a essa droga como reportado por outros autores (Butzler et al., 1974; Chow et al., 1978; Spelhaug et al., 1981; Edmonds et al., 1975; Goossens et al., 1989; Kwon et al., 1994).

Goossens et al., (1989) e Blaser (1995) obtiveram com uma combinação de ampicilina e gentamicina, ótimo resultado no tratamento de pacientes com infecções endovasculares devido a *C. fetus*.

O teste de susceptibilidade antimicrobiana para *Campylobacter* sp. pode ser realizado tanto pelo método de diluição em ágar quanto pelo método de disco difusão. A escolha do método depende de vários fatores, entre eles facilidade de execução e disponibilidade do laboratório (Nachamkin et al., 2000). Para *Campylobacter* sp., os testes de susceptibilidade

não são padronizados, e conseqüentemente encontramos na literatura uma grande variedade de dados reportados. Tenover et al., (1992) reportou que o teste de diluição em ágar, incluindo o uso do ágar Mueller Hinton suplementado com 5% de sangue de equinos ou ovinos em condições de microaerofilia é recomendado para *Campylobacter* sp.

Aarestrup et al., (1997), Goldstein et al., (2001), Tremblay e Gaudreau (1998), e Tremblay et al., (2003) tem utilizado a técnica de diluição em agar para determinar a susceptibilidade de *Campylobacter* sp. aos agentes antimicrobianos, por ser uma técnica prática, de fácil execução e que permite boa visualização do crescimento bacteriano. Tremblay e Gaudreau (1998), comparando os resultados das técnicas de diluição em agar, difusão em disco e E-teste em 59 isolados de *C. fetus* encontrou boa concordância entre os três métodos para a maioria dos agentes antimicrobianos; os resultados para eritromicina variaram de 39 a 100% de suscetíveis e os isolados foram sensíveis a maioria dos agente antimicrobianos, exceto para tetraciclina que foi encontrada uma taxa de 27% dos isolados resistentes.

OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo determinar o padrão de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de 48 amostras de *Campylobacter* sp. isoladas de animais em Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram utilizadas 48 amostras de *Campylobacter* sp., sendo 22 de *C. fetus*, 18 de *C. jejuni* e 8 de *C. coli* da coleção dos Departamentos de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária e de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (Tabela 1).

Tabela 1- Amostras de *Campylobacter* sp isoladas de animais em Minas Gerais

Amostras	Espécie	Origem		Referências
		Animal	Material	
206	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
207	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
301	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
319	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
334	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
339	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
354	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
356	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
363	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
367	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
368	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
392	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
383	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
393	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
401	<i>C. fetus</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
EV5	<i>C. fetus</i>	bovino	feto abortado	Leite, 1977
EV389	<i>C. fetus</i>	bovino	feto abortado	LBA, 2000
Curvelo	<i>C. fetus</i>	bovino	lavado prepucial	LBA, 2000
Gaúcho	<i>C. fetus</i>	bovino	lavado prepucial	LBA, 2000
Magneto	<i>C. fetus</i>	bovino	lavado prepucial	LBA, 2000
Grécia	<i>C. fetus</i>	bovino	mucosa cérvico vaginal	LBA, 2000
Olinda	<i>C. fetus</i>	bovino	mucosa cérvico vaginal	LBA, 2000
84	<i>C. jejuni</i>	frango	suab retal	LBA, 1990
86	<i>C. jejuni</i>	frango	suab retal	LBA, 1990
88	<i>C. jejuni</i>	frango	suab retal	LBA, 1990
112	<i>C. jejuni</i>	cão	Fezes	LBA, 1990
113	<i>C. jejuni</i>	cão	Fezes	LBA, 1990
114	<i>C. jejuni</i>	cão	Fezes	LBA, 1990
116	<i>C. jejuni</i>	cão	Fezes	LBA, 1990
119	<i>C. jejuni</i>	cão	Fezes	LBA, 1990
151	<i>C. jejuni</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
154	<i>C. jejuni</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
156	<i>C. jejuni</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
204	<i>C. jejuni</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
208	<i>C. jejuni</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992
4792	<i>C. jejuni</i>	sagüi	Fezes	Carvalho, 1992
4797	<i>C. jejuni</i>	sagüi	Fezes	Carvalho, 1992
4810	<i>C. jejuni</i>	sagüi	Fezes	Carvalho, 1992
4815	<i>C. jejuni</i>	sagüi	Fezes	Carvalho, 1992
4820	<i>C. jejuni</i>	sagüi	Fezes	Carvalho, 1992
85	<i>C. coli</i>	frango	suab retal	LBA, 1990
152	<i>C. coli</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
166	<i>C. coli</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
168	<i>C. coli</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
182	<i>C. coli</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
183	<i>C. coli</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
195	<i>C. coli</i>	suíno	suab retal	LBA, 1990
302	<i>C. coli</i>	bezerro	Fezes	Lage, 1992

1- Laboratório de Bacteriologia Aplicada do Núcleo de Pesquisa em Saúde Anial do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG

Os microorganismos isolados foram identificados no Laboratório de Bacteriologia Aplicada do Núcleo de Pesquisa em Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, segundo as técnicas descritas por Vandamme (2000) e mantidos a -70°C em caldo tioglicolato acrescido de 20% de glicerol, até a realização dos testes.

Condições de cultivo

As amostras foram cultivadas em agar BHI (Difco, Brasil), acrescido de 10% de sangue eqüino, em condições de microaerofilia em estufa a 37°C por 48 horas.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada segundo as recomendações de Tenover et al. (1992), utilizando-se repicador de Steers, agar Mueller-Hinton acrescido de 5% de sangue eqüino, em condições de microaerofilia por 48h. Foram utilizados os seguintes antimicrobianos: ácido nalidíxico (Inlab, Brasil), ampicilina (Invitrogen, EUA), canamicina (Inlab, Brasil), cefoperazona (Pfizer, Brasil), cloranfenicol (Invitrogen, EUA), eritromicina (Gerbrás Química Farmacêutica, Brasil), estreptomicina (Merc, Alemanha), gentamicina (Inlab, Brasil), penicilina G (Inlab, Brasil), sulfadiazina (Inlab, Brasil), sulfametoxazol (Sigma, EUA), sulfametoxazol + trimetoprim na proporção de 5:1 respectivamente (Inlab, Brasil), tetraciclina (Inlab, Brasil), diluídos na base 2, nas seguintes concentrações: de 256 $\mu\text{g/ml}$ a 0,06 $\mu\text{g/ml}$.

Para a preparação da diluição dos antibióticos utilizados, foi empregada a técnica descrita por Frost, (1994).

Preparo do inóculo

Foi preparada uma suspensão (em PBS estéril) de cada bactéria a partir do crescimento em placas de agar BHI com 10% de sangue de cavalo, incubadas a 37°C por 48 hs equivalente ao tubo 0,5 da escala de Macfarland. Essa suspensão foi diluída na proporção 1 : 10 e transferida para os pocinhos do repicador de Steers. As bactérias foram inoculadas nas

placas, em duplicata, e as placas foram incubadas em condições de microaerofilia, à 37°C por 48h. Após esse período foi realizada a leitura.

A interpretação dos resultados seguiu os critérios recomendados pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS (2001), descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Valores dos pontos de corte segundo NCCLS (2001) utilizados para determinar a resistência em *Campylobacter* sp

Antimicrobianos	Ponto de corte
ácido nalidíxico	32
ampicilina	32
canamicina	64
cefoperazona	64
cloranfenicol	32
eritromicina	8
estreptomicina	64
gentamicina	16
penicilina	32
sulfadiazina	256
sulfametoxazol	256
sulfametoxazol + trimetoprim	256
tetraciclina	16

Controle de Qualidade

As amostras de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) foram utilizadas como controle de qualidade dos testes (Aarestrup et al. 1997). Além disso foram preparadas duas placas sem antibiótico que foram empregadas como controle de crescimento das amostras.

RESULTADOS

A Tabela 3 apresenta os valores das CIMs 50 e CIMs 90 para as 22 amostras de *C. fetus*, 18 de *C. jejuni* e 8 de *C. coli* testadas. Pode-se observar que a gentamicina foi a droga que apresentou melhor atividade contra as três espécies de *Campylobacter* testadas. *C. fetus* e *C. jejuni* tiveram CIM 90 de 1 µg/ml e *C. coli* CIM 90 igual a 0,5 µg/ml para gentamicina.. Eritromicina, canamicina e cloranfenicol foram, depois da gentamicina, as drogas que apresentaram atividade contra *C. fetus*, *C. jejuni* e *C. coli*, sendo que a eritromicina apresentou atividade mais fraca contra *C. coli*, CIM 90 ≥ 256 µg/ml.

Tabela 3- Concentração Inibitória Mínima 50 e 90% das amostras de *Campylobacter* sp isoladas de animais em Minas gerais

Antibióticos	<i>C. coli</i>			<i>C. jejuni</i>			<i>C. fetus</i>		
	CIM 50 ¹	CIM 90 ²	Intervalo ³	CIM 50	CIM 90	Intervalo	CIM 50	CIM 90	Intervalo
ANA	8	64	4 - ≥ 256	8	128	0,25 - ≥ 256	64	≥ 256	2 - ≥ 256
AMP	16	16	0,25 - 32	16	32	≤ 0,06 - 64	8	32	0,25 - 64
CAN	4	4	2 - 128	4	16	2 - 128	4	8	0,25 - 8
CEF	≥ 256	≥ 256	0,5 - ≥ 256	128	≥ 256	0,5 - ≥ 256	64	≥ 256	1 - ≥ 256
CLO	8	8	0,5 - 8	2	4	0,5 - 4	2	4	2 - 64
ERI	≥ 256	≥ 256	0,125 - ≥ 256	0,5	4	0,125 - ≥ 256	0,5	1	0,25 - ≥ 256
EST	≥ 256	≥ 256	0,25 - ≥ 256	4	64	0,5 - ≥ 256	1	128	0,125 - ≥ 256
GEN	0,5	0,5	0,125 - 0,5	0,5	1	≤ 0,06 - 16	0,5	1	0,125 - 2
PEN	64	64	≤ 0,06 - 64	4	64	≤ 0,06 - 128	4	128	0,125 - 128
SDZ	32	32	4 - ≥ 256	64	≥ 256	4 - ≥ 256	32	256	4 - ≥ 256
SMZ	32	32	0,5 - ≥ 256	256	≥ 256	2 - ≥ 256	64	≥ 256	8 - ≥ 256
STR	≥ 256	≥ 256	8 - ≥ 256	32	≥ 256	8 - ≥ 256	32	128	2 - ≥ 256
TET	≥ 256	≥ 256	0,125 - ≥ 256	4	≥ 256	≤ 0,06 - ≥ 256	4	256	0,125 - ≥ 256

ANA- ácido nalidíxico; AMP- ampicilina; CAN - canamicina; CEF- cefoperazona; ERI - eritromicina; EST- estreptomicina; GEN- gentamicina; PEN- penicilina; SDZ- sulfadiazina; SMZ- sulfametoxazol; STR- sulfametoxazol + trimetoprim

CIM 50¹: Concentração Inibitória Mínima 50% em µg/ml

CIM 90²: Concentração Inibitória Mínima 90% em µg/ml

Intervalo³: Intervalo das Concentrações Inibitórias Mínimas em µg/ml

Os resultados encontrados nas tabelas 4, 5, 6, 7, 8 e 9 mostram os perfis de resistência das amostras de *Campylobacter* sp. aos 13 agentes antimicrobianos testados, analisados de acordo com a espécie, origem e o material de isolamento.

Todas as amostras de *C. fetus* isoladas de fezes e do trato genital foram sensíveis a gentamicina e a canamicina.

Nas amostras de *C. fetus* isoladas de fezes, mais de 50% foram resistentes à tetraciclina, enquanto as amostras isoladas do trato genital foram todas sensíveis a este antimicrobiano.

Todas as amostras de *C. fetus* isoladas do trato genital foram sensíveis a estreptomicina, a combinação de sulfametoxazol + trimetoprim e a tetraciclina.

A eritromicina, o cloranfenicol e a combinação do sulfametoxazol + trimetoprim também apresentaram boa atividade sobre as amostras de *C. fetus* isoladas de fezes com o aparecimento de apenas uma amostra resistente para cada um destes antimicrobianos.

Podemos observar que 11 amostras de *C. fetus*, sendo 10 isolada de fezes e uma isolada do trato genital apresentaram multiresistência. Foram consideradas multiresistentes as amostras que foram resistentes a mais de um antimicrobiano de grupo diferentes testados.

Tabela 4 - Perfil de resistência segundo o NCCLS (1994, 1997) das amostras de *Campylobacter* sp isoladas de fezes de bezerro em Minas Gerais

No *	Espécie	ANA	AMP	CAN	CEF	CLO	ERI	EST	GEN	PEN	SDZ	SMZ	STR	TET
1	<i>C. fetus</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	<i>C. fetus</i>	R	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R
1	<i>C. fetus</i>	R	R	S	R	S	S	R	S	R	R	R	S	R
1	<i>C. fetus</i>	R	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R
2	<i>C. fetus</i>	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
2	<i>C. fetus</i>	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	<i>C. fetus</i>	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R
2	<i>C. fetus</i>	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R
1	<i>C. fetus</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S
1	<i>C. fetus</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
1	<i>C. fetus</i>	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
1	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	<i>C. coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R

*Número de amostras com o mesmo perfil de resistência

ANA- ácido nalidíxico; AMP- ampicilina; CAN - canamicina; CEF- cefoperazona; ERI - eritromicina; EST- estreptomicina; GEN- gentamicina; PEN- penicilina; SDZ- sulfadiazina; SMZ- sulfametoxazol; STR- sulfametoxazol + trimetoprim

Tabela 5 - Perfil de resistência segundo o NCCLS (1994, 1997) das amostras de *C. fetus* isoladas do trato genital de bovinos em Minas Gerais

No *	Material	ANA	AMP	CAN	CEF	CLO	ERI	EST	GEN	PEN	SDZ	SMZ	STR	TET
1	feto abortado	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	feto abortado	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	lavado prepucial	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	Muco cérvico vaginal	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	muco cérvico vaginal	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S

*Número de amostras com o mesmo perfil de resistência

ANA- ácido nalidíxico; AMP- ampicilina; CAN - canamicina; CEF- cefoperazona; ERI - eritromicina; EST- estreptomicina; GEN- gentamicina; PEN- penicilina; SDZ- sulfadiazina; SMZ- sulfametoxazol; STR- sulfametoxazol + trimetoprim

Os resultados apresentados nas tabelas 6, 7, 8 e 9, demonstram que as amostras de *C. coli* e *C. jejuni* isoladas de frango e as amostras de *C. jejuni* de cães e saguis foram todas sensíveis a eritromicina. Em contraste, foi observado resistência em 50% das amostras de *C. jejuni* e em 50% das amostras *C. coli* isoladas de suínos a esse antimicrobiano.

Não foram encontradas amostras de *C. jejuni* e *C. coli* resistentes a gentamicina. Duas amostras de *C. jejuni*, sendo uma isolada de frango e uma de suíno, e uma amostra de *C. coli* isolada de suíno foram resistentes a canamicina (tabelas 6 e 7)

Na tabela 7 podemos observar uma diferença significativa no perfil de duas amostras de *C. coli* isoladas de suínos: uma foi sensível a todos antimicrobianos testados e a outra foi sensível somente ao clorofenicol e a gentamicina.

Tabela 6- Perfil de resistência segundo o NCCLS (1994, 1997) das amostras de *C. jejuni* e *C. coli* isoladas de “swab”retal de frangos em Minas Gerais

No *	Espécie	ANA	AMP	CAN	CEF	CLO	ERI	EST	GEN	PEN	SDZ	SMZ	STR	TET
1	<i>C. jejuni</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	<i>C. jejuni</i>	S	S	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S
1	<i>C. jejuni</i>	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R
1	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R

*Número de amostras com o mesmo perfil de resistência

ANA- ácido nalidíxico; AMP- ampicilina; CAN - canamicina; CEF- cefoperazona; ERI - eritromicina; EST- estreptomicina; GEN- gentamicina; PEN- penicilina; SDZ- sulfadiazina; SMZ- sulfametoxazol; STR- sulfametoxazol + trimetoprim

Tabela 7 - Perfil de resistência segundo o NCCLS (1994, 1997) das amostras de *C. jejuni* e *C. coli* isoladas de “swab”retal de suínos em Minas Gerais

No *	Espécie	ANA	AMP	CAN	CEF	CLO	ERI	EST	GEN	PEN	SDZ	SMZ	STR	TET
1	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R
1	<i>C. jejuni</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R
1	<i>C. jejuni</i>	R	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S
1	<i>C. jejuni</i>	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
1	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R
1	<i>C. coli</i>	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	R	S
1	<i>C. coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	<i>C. coli</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	<i>C. coli</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R
1	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S

*Número de amostras com o mesmo perfil de resistência

ANA- ácido nalidíxico; AMP- ampicilina; CAN - canamicina; CEF- cefoperazona; ERI - eritromicina; EST- estreptomicina; GEN- gentamicina; PEN- penicilina; SDZ- sulfadiazina; SMZ- sulfametoxazol; STR- sulfametoxazol + trimetoprim

Todas as amostras de *C. jejuni* isoladas de cão foram sensíveis a eritromicina, canamicina, cloranfenicol, estreptomina, gentamicina e ao ácido nalidíxico (Tabela 8).

Tabela 8 - Perfil de resistência segundo o NCCLS (1994, 1997) das amostras de *C. jejuni* isoladas de fezes de cão em Minas Gerais

No *	ANA	AMP	CAN	CEF	CLO	ERI	EST	GEN	PEN	SDZ	SMZ	STR	TET
2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	R	R
1	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	R	S
1	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S

*Número de amostras com o mesmo perfil de resistência

ANA- ácido nalidíxico; AMP- ampicilina; CAN - canamicina; CEF- cefoperazona; ERI - eritromicina; EST- estreptomina; GEN- gentamicina; PEN- penicilina; SDZ- sulfadiazina; SMZ- sulfametoxazol; STR- sulfametoxazol + trimetoprim

As amostras de *C. jejuni* isoladas de saguis foram sensíveis a maioria dos antimicrobianos: cloranfenicol, canamicina, eritromicina, estreptomina, gentamicina, penicilina e a combinação de sulfametoxazol + trimetoprim (Tabela 9).

Tabela 9 - Perfil de resistência segundo o NCCLS (1994, 1997) das amostras de *C. jejuni* isoladas de fezes de saguis em Minas Gerais

No *	ANA	AMP	CAN	CEF	CLO	ERI	EST	GEN	PEN	SDZ	SMZ	STR	TET
1	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R
1	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R

*Número de amostras com o mesmo perfil de resistência

ANA- ácido nalidíxico; AMP- ampicilina; CAN - canamicina; CEF- cefoperazona; ERI - eritromicina; EST- estreptomina; GEN- gentamicina; PEN- penicilina; SDZ- sulfadiazina; SMZ- sulfametoxazol; STR- sulfametoxazol + trimetoprim

DISCUSSÃO

Nas últimas quatro décadas, o aumento da resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos tem sido motivo de grande preocupação para médicos e companhias farmacêuticas. Ela é na maioria das vezes causada pelo uso indiscriminado de agentes antimicrobianos sem prescrição médica ou médica veterinária. As amostras resistentes aos antimicrobianos podem se disseminar nas populações humana e animal, podendo difundir os genes de resistência a outras bactérias por vários mecanismos genéticos, como a transferência de plasmídeos. As bactérias do gênero *Campylobacter* têm facilidade de transferir e/ou incorporar plasmídeos de outras bactérias, o que facilita o aumento da resistência em amostras de bactérias desse gênero (Rang et al. 1997).

Campylobacter sp pode ser isolada de diferentes fontes animais e podem ser transferidas para o homem, constituindo uma zoonose de alta incidência nos países desenvolvidos e subdesenvolvidos e também podem ser uma boa escolha como organismo indicador para monitorar o desenvolvimento de resistência antimicrobiana entre animais de diferentes espécies (Aarestrup et al. 1997). O desenvolvimento de resistência antimicrobiana em *Campylobacter* sp devido ao uso indiscriminado de agentes antimicrobianos em medicina veterinária pode gerar sérias consequências no tratamento de infecções no homem (Aarestrup et al. 1997).

Os valores das CIM permitem analisar as concentrações necessárias para um antimicrobiano eliminar com eficiência um microorganismo. Esses valores são de extrema importância na escolha de um antimicrobiano adequado, pois permite conhecer se a dose necessária de um antimicrobiano para obter boa atividade pode ser administrada com segurança.

No presente trabalho foi constatado que a gentamicina foi a droga que apresentou melhor resultado sobre as amostras de *Campylobacter* sp isoladas de animais. Todas as amostras de *Campylobacter* sp testadas foram inibidas por uma concentração de 2 µg/mL. Bopp et al.

(1985) reportaram que a maior parte das amostras de *Campylobacter* sp. não resistiram à uma concentração superior a 0,5 µg/mL de gentamicina.

A CIM 90 de *C. fetus* foi igual a 1 µg/mL para a gentamicina e 8 µg/ml para canamicina. Cem por cento das amostras de *C. fetus* isoladas de fezes e do trato genital de bovinos foram sensíveis a gentamicina e a canamicina. Para as amostras de *C. fetus* isoladas de fezes, observamos que no presente estudo a gentamicina poderia ser a droga de escolha para o tratamento de infecções gastrointestinais causadas por *C. fetus*. Butzler et al. (1974) na Bélgica e Tremblay et al. (2003) no Canadá também não encontraram amostras de *C. fetus* resistentes a gentamicina.

A alta sensibilidade de *C. fetus* a gentamicina pode ser esperada devido ao fato de ser essa a droga de escolha para bacteremias causadas por essa espécie bacteriana (Gilman et al. 1996).

Podemos observar que além da gentamicina e da canamicina, 100% das amostras de *C. fetus* isoladas do trato genital foram sensíveis a estreptomicina. É importante ressaltar que a estreptomicina é excretada de forma ativa pela urina, fato esse que facilita a eliminação das bactérias do trato genital (Booth e McDonald, 1992; Gilman, 1996). Esses resultados confirmam a indicação da estreptomicina como droga de escolha para o tratamento das infecções genitais por *C. fetus* em bovinos (Lage e Leite, 2000).

A presença de somente 3 amostras (13%) de *C. fetus* resistentes a ampicilina, associado a ausência e resistência à gentamicina, indica que a associação ampicilina/gentamicina pode ser utilizada no tratamento de infecções sistêmicas causadas por *C. fetus*, como sugerido por Goossen et al. (1989) e Blaser (1995).

O CIM 90 encontrado para as amostras de *C. fetus* foi de 1 µg/ml para eritromicina. Entretanto, houve o aparecimento de duas amostras resistentes a eritromicina, sendo 1 isolada de fezes e outra do trato genital. Essa resistência a eritromicina em amostras de *C.*

fetus pode ser decorrente do uso de outros antimicrobianos do mesmo grupo como a tilosina, muito utilizada para o tratamento de doenças respiratórias em bovinos (Apley, 1997; MANUAL, 2001; McEwen e Cray, 2002).

Podemos observar algumas diferenças nos perfis de resistência das amostras de *C. fetus* isoladas de fezes e do trato genital. Nas amostras de *C. fetus* isoladas de fezes, mais de 50% foram resistentes à tetraciclina, enquanto as amostras isoladas do trato genital foram todas sensíveis a este antimicrobiano. Trinta e três por cento das amostras de *C. jejuni* e 50% das amostras de *C. coli* foram resistentes a tetraciclina. A tetraciclina é um antimicrobiano muito utilizado na medicina veterinária, por ter atividade contra uma ampla gama de microrganismos (Booth e McDonald, 1992; Apley, 1997; MANUAL, 2001; Erchine et al. 2003), portanto não é de se estranhar o alto índice de resistência de amostras de *C. coli*, *C. fetus* e *C. jejuni* isoladas do trato gastrointestinal, já que 30% desse antimicrobiano é excretado inalterado nas fezes (Booth e McDonald, 1992; Gilman et al. 1996).

A eritromicina é a droga de escolha para o tratamento de enterites causadas por *C. jejuni* e *C. coli* (Elharrif et al. 1985; Karmali et al. 1981; Nolan et al. 1983; Vanhoof et al. 1978).

A eritromicina apresentou uma grande diferença na atividade contra *C. jejuni* e *C. coli*. A CIM 90 para *C. jejuni* foi igual a 4 µg/ml enquanto a CIM 90 para *C. coli* foi ≥ 256 µg/ml. Aarestrup et al. (1997) também encontrou maior resistência a eritromicina em isolados de *C. coli* do que em *C. jejuni*. O resultado encontrado em nosso estudo demonstra que a eritromicina não é a droga de escolha para o tratamento de *C. coli* em nosso meio, principalmente se as amostras forem originadas de suínos, pois os macrolídeos são muito empregados no controle de doenças respiratórias dessa espécie (Straw et al, 1999; MANUAL, 2001).

Os resultados apresentados nas tabelas 6, 7, 8 e 9, demonstram que as amostras de *C. coli* e *C. jejuni* isoladas de frango e as amostras de *C. jejuni* isoladas de cães e sagüis foram todas sensíveis a eritromicina. Em contraste, foi observado resistência em 50% das amostras de

C. jejuni e *C. coli* isoladas de suínos a esse antimicrobiano. O aparecimento de amostras de *C. jejuni* e *C. coli* isoladas de suínos resistentes a eritromicina pode estar relacionado ao uso de antimicrobianos adicionados a rações desses animais, em doses menores do que as usadas na terapêutica, como promotores de crescimentos e também a administração de antimicrobianos em doses terapêuticas com o intuito de prevenir e/ou controlar doenças crônicas, principalmente respiratórias, que podem acometer essa espécie (Straw et al. 1999; McEwen e Cray, 2002). Aarestrup et al. (1997) reportaram que o amplo uso da tilosina na Dinamarca provavelmente foi a responsável pelo alto índice de resistência aos macrolídeos em *C. coli* e *C. jejuni* isolados de suínos.

Em razão da presença de amostras de *C. jejuni* e *C. coli* resistentes a eritromicina e a tetraciclina entre as amostras estudadas, drogas de escolha para o tratamento de infecções entéricas por esses agentes (Vanhoof et al. 1978; Karmali et al. 1981; Nolan et al. 1983; Elharrif et al. 1985), e a importância dos animais na epidemiologia das infecções por *C. jejuni* e *C. coli* no homem (Altekruse et al. 1998), pode-se sugerir que a gentamicina seja empregada em nosso meio no tratamento destas infecções.

A penicilina e a ampicilina tiveram CIM 90 igual a 64 µg/ml e a 32 µg/ml para *C. jejuni* e 16 µg/ml e 64 µg/ml para *C. coli*, respectivamente. Van der Auwera e Scoreaux (1985) reportaram que a maioria das amostras de *C. jejuni* e *C. coli* foram resistentes aos agentes β-lactâmicos, principalmente a penicilina e as cefalosporinas. Entretanto, no presente trabalho encontramos mais de 50% das amostras de *C. fetus*, *C. jejuni* e *C. coli* sendo sensíveis a penicilina e ampicilina.

O cloranfenicol, apesar de sua excelente atividade sobre *Campylobacter* sp, como observado no presente estudo, teve seu uso proibido em animais devido aos riscos que os resíduos dessa droga na carne, leite e ovos oriundos de animais tratados podem causar a saúde pública (BRASIL, 1998).

A alta taxa de resistência de *C. fetus* ao ácido nalidíxico, encontrada nesse estudo, é uma característica taxonômica importante, pois permite a diferenciação dessa espécie de outras espécies do gênero, como *C. jejuni* e *C. coli*, que são em sua maioria sensíveis a este composto (Vandamme, 2000).

A presença de resistência ao ácido nalidíxico entre as amostras de *C. jejuni* e *C. coli* estudadas, principalmente em isolados de suínos, característica que pode dificultar a identificação destas amostras (Vandamme, 2000), pode se dever ao freqüente emprego de outras quinolonas, como a enrofloxacin, no tratamento de infecções respiratórias nas espécies domésticas (Booth et al. 1992; MANUAL, 1998; Straw et al. 1999).

Se compararmos os resultados da tabela 3 com os resultados demonstrados nas demais tabelas, onde as espécies de *Campylobacter* sp foram separadas por origem animal e material de isolamento, podemos observar a importância da identificação do local de infecção para o uso adequado de um antimicrobiano. Um exemplo disto, é o uso da estreptomicina no tratamento de infecções do trato genital causadas por *C. fetus* em que todas as amostras de *C. fetus* testadas foram sensíveis a esse antimicrobiano. Em contraste, esta mesma droga, quando utilizada no tratamento de infecções do trato gastrointestinal causadas por *C. fetus*, apresentaria atividade apenas razoável, pois 22% das amostras testadas foram resistentes à estreptomicina.

Podemos observar que duas amostras de *C. fetus*, sendo uma isolada de fezes e uma isolada do trato genital, quatro amostras de *C. jejuni* e três amostras de *C. coli* sendo uma isolada de fezes e uma isolada do trato genital, apresentaram multiresistência aos antimicrobianos testados. Uma das amostras de *C. coli* testadas, só foi sensível ao cloranfenicol e ao ácido nalidíxico. Essa multiresistência provavelmente se deveu ao uso indiscriminado e incorreto de antimicrobianos que ocorre com frequência em medicina veterinária (McEwen e Cray, 2002).

Apesar das altas taxas de amostras multiresistentes que apareceram, principalmente dentre os isolados de suínos, uma amostra de *C. coli* apresentou-se sensível a todos os antibióticos

testados e outra, também de *C. coli*, só foi resistente ao ácido nalidíxico. Isto sugere que o uso indiscriminado e inadequado de antimicrobianos não está disseminado na suinocultura.

O aparecimento de multiresistência entre as amostras de *Campylobacter* sp isoladas de animais, principalmente entre as amostras isoladas de suínos (duas de *C. jejuni* e três de *C. coli*), associados a importância que os animais e os alimentos de origem animal possuem na transmissão da campilobacteriose ao homem, indica que se deve implementar serviços de vigilância epidemiológica e medidas que evitem a disseminação destas amostras multiresistentes entre as populações animais e, principalmente, na população humana (McEwen e Cray, 2002).

Em suma, o uso indiscriminado dos agentes antimicrobianos em medicina veterinária pode propiciar o aparecimento de resistência em amostras de *Campylobacter* sp isoladas de animais, trazendo um grande problema no controle de infecção nestas espécies animais e apresenta um enorme risco de saúde pública, principalmente ligado as amostras multiresistentes. Para controlar este aumento da taxa de bactérias resistentes é necessário que a utilização de antimicrobianos em medicina veterinária observe normas estritas.

CONCLUSÃO

Em relação as amostras de *Campylobacter* sp isoladas de animais em Minas Gerais pode-se concluir que:

todas as amostras de *Campylobacter* sp testadas foram sensíveis a gentamicina;

todas as amostras de *C. fetus* isoladas do trato genital foram sensíveis à estreptomicina;

as amostras de *C. jejuni* e *C. coli* isoladas de aves e, principalmente, de suínos apresentaram maior resistência aos agentes antimicrobianos que os isolados de bovinos, cães e sagüis;

três amostras de *C. coli* e duas de *C. jejuni* isoladas de suínos foram as únicas dessas espécies resistentes a eritromicina;

amostras de *C. coli* (3), de *C. jejuni* (4) e de *C. fetus* (1) apresentaram resistência múltipla aos antimicrobianos testados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F.M.; NIELSEN, E.M.; MADSEN, M.; ENGBERG, J. Antimicrobial susceptibility patterns of thermophilic *Campylobacter* ssp. From humans, pigs, cattle and broilers in Denmark. Ant. Agent. Chemoter., 41: 2244-50, 1997.

ADLER, M.; LUTHY, H.; MARTINETTI, L.; BURNENS, A.; ALTWEGG, M. Development of resistance to quinolonas in five patients with campylobacteriosis treated with norfloxacin or ciprofloxacin. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 10: 953-957, 1991.

AHONKHAI, V.I.; CHERUBIN, C.E.; SIERRA, M.F.; BOKKENHEUSER, V.D.; SHULMAN, M.A.; MOSENTHAL, A.C. In vitro susceptibility of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* to N-formimidoyl thienamycin, rosaramicin, cefoperazone and other antimicrobial agents. Antimicrob. Agents Chemother., 20: 850, 1981.

ANONYMOUS, Danmap 97 - Consumption of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Bacteria from Food Animals, Food and Humans in Denmark. Danish Zoonosis Centre, Copenhagen, Denmark. p 3-59, 1998.

ANONYMOUS, National Antimicrobial Resistance Monitoring system (NARMS) - 1997 Annual Report Revised. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga, 1998.

BLAZER, M.J.; LA FORCE, F.M.; WILSON, N.A.; WANG, W.L.L. Reservoirs for humans campylobacteriosis. J. Infect. Dis., 141: 665-669, 1980

BLASER, M.J. & RELLER, L.B. *Campylobacter* enteritis. N. Engl. J. Med., 305: 1444-52, 1981.

BLASER, M.J. *Campylobacter* and related species. In **MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R.** Principles and Practice of Infectious Disease. Churchill Livingstone. Inc., New York, N.Y. p1948-1956, 1995.

BOOTH, N.; McDONALD, L.E. farmacologia e terapêutica em veterinária. 6. Ed. Rio de janeiro:

BOPP, L.A.; BIRKNESS, K.A.; WACHSMUTH, I.K.; BARRETT, T.J. In vitro antimicrobial susceptibility, plasmids analysis, and serotyping of epidemic associated *Campylobacter jejuni*. Can. J. Microbiol., 21: 4-7, 1985

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº89, de 24 de Março de 1998. Diário Oficial da União, 24 de Março de 1998.

BUCK, G.E. & KELLY, M.T. susceptibility testing of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* using broth microdilution panels. Antimicrob. Agents chemother., 21: 274, 1982

BUTZLER, J.P.; DEKEYSER, P.; LAFONTAINE, T. Susceptibility of related vibrios and *Vibrio fetus* to twelve antibiotics. Ant. Agent. Chemoter., 5: 86-9, 1974.

CALVA, J.J.; RUIZ-PALACIOS, G.M.; LOPEZ-VIDAL, A.B.; RAMOS, A.; BOJALIL, R. Cohor study of intestinal infection with *Campylobacter* in Mexican children. Lancet, 1: 503-6, 1988.

CAPRIOLI, A.; BUSANI, L.; MARTEL, J.L; HELMUTH, R. Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. Inter. J. Antimicrobial agents, 14: 295-301, 2000.

CARVALHO, A.C.T. Fatores de virulência de amostras de *Campylobacter jejuni* isoladas de *Callithrix penicillata* com diarréia. Tese de mestrado. Universidade federal de minas Gerais. 1992, 81p.

CHATZIPANAGIOTOU, S.; PAPAVALIOU, E.; MALAMOU, L. Isolation of *Campylobacter jejuni* strains resistant to nalidixic acid and fluoroquinolones from children with diarrhea in Athens, Greece. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 12: 566-568 (Letter.), 1993.

CHOW, A.W.; PATTEN, V.; BEDNORZ, D. Susceptibility of *Campylobacter fetus* to twenty-two antimicrobial agents. Ant. Agents Chemoter., 13: 416, 1978.

DIAS, T.C.; QUEIROZ, D.M.M.; MENDES, E.N.; PERES, J.N. Chicken carcasses as a source of *Campylobacter jejuni* in Belo Horizonte, Brasil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 32: 414-8, 1990.

EDMONDS, P.; PATTON, C.M.; BARRET, T.J.; MORRIS, G.K.; STEIGERWALT, A.G.; BRENNER, D.J. Biochemical and genetic characteristics of atypical *Campylobacter fetus* subsp *fetus* strains isolated from humans in the United States. J. Clin. Microbiol., 21:936-940, 1985

ELHARRIF, Z.; MEGRAUD, F.; MARCHAND, A.M. Susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to macrolides and related compounds. Ant. Agents Chemoter., 28: 695-7, 1985.

FROST, J.A.; Testing for resistance to antimicrobial drugs. In CHART, H. Methods in Pratical Laboratory Bacteriology. 73-82, 1994.

FUNKE, G.; BAUMANN, R.; PENNER, J.L.; ALTWEGG, M. Development of resistance to macrolide antibiotics in na AIDS patient treated with clarithromycin for *Campylobacter jejuni* diarrhea. Eur. J. Clin Microbiol. Infect Dis., 13: 612-615, 1994.

GAUDREAU, C. & GILBERT, H. Antimicrobial resistance to clinical strains of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isolated from 1985 to 1997 in Quebec, canada. Ant. Agents Chemoter., 42: 2106-2108, 1998.

GILMAN, A.G.; HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, E.L.; MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 9 ed. 1996.

GOLDSTEIN, E.J.C.; CITRON, D.M.; MERRIAM, C.V.; WARREN, Y.A.; TYRREL, K.; FERNANDEZ, H. Comparative *in vitro* activity of estapenem and 11 other antimicrobial agents against aerobic and anaerobic pathogens isolated from skin and soft tissue animal and human bite wound infections. J. Antimicrob. Chemother., 48:641-651, 2001.

GOMEZ, G.; COGOLLOS, R.; ALOS, J.L. Susceptibilities of fluoroquinolone-resistance strains of *Campylobacter jejuni* to 11 oral antimicrobial agents. Antimicrob. Agents Chemother., 39: 542-544, 1995.

GOOSSENS, H.; COIGNAU, L.V.; BUTZLER, J.P. In vitro evaluation of combinations against *Campylobacter fetus*. J. Antimicrob. Chemother., 24:195-201, 1989.

HARNETT, N.; MCLEOD, S.; YONG, Y.A.; HEWITT, C.M.; VEARNCOMBE, M.; KRISHNAN, C. Quinolone resistance in clinical strains of *Campylobacter jejuni* and *campylobacter coli*. J. Antimicrob. Chemother., 36: 269-270 (Letter), 1995.

HAZELEGER W.; ARKESTEIJN, C.; TOOROP, A.B.; BEUMER, R. Detection of the coccoid form of *Campylobacter jejuni* in chicken products with the use of the polymerase chain reaction. Int. J. Food Microbiol., 24: 273-281, 1994.

HOPKINS, R.S. & SCOTT, A.B. Handling raw chicken as a source for sporadic *Campylobacter jejuni* infections. J. infect. Dis., 148: 770, 1983.

JARAMILLO, H.F. Espécies termófilas de *Campylobacter*: aspectos bacteriológicos , epidemiológicos e patogênicos. São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 1983, 144p. (tese de Doutorado).

KARMALI, M.A.; DE GRANDIS, S.; FLEMING, P.C. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* with special reference to resistance patterns of Canadian isolates. Antimicrob. Agents Chemother., 19: 593-597, 1981.

KARMALI, M.A.; DE GRANDIS, S.; FLEMING, P.C. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* to eighth cephalosporins with special reference to species differentiation. Ant. Agents Chemoter., 18: 948-51, 1980.

KWON, S.Y.; CHO, D.H.; LEE, K.; CHONG, Y. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* isolated from blood and synovial fluid. Yonsei Med. J., 35:314-319, 1998.

LACHANCE, N.; GAUDREAU, C.; LAMOTHE, F.; TURGEON, F. Role of the betalactamase of *Campylobacter jejuni* in resistance to beta-lactam agents. Antimicrob. Agents. Chemother., 35: 813-818, 1991.

LACHANCE, N.; GAUDREAU, C.; LAMOTHE, F.; TURGEON, F. Susceptibilities of betalactamase-positive and negative strains of *Campylobacter coli* to beta-lactam agents. Antimicrob. Agents. Chemother., 37: 1174-1176, 1993.

LAGE, A.P.; CARVALHO, A.C.T.; LEITE, R.C. Comparison of procedures for isolating *Campylobacter* sp from diarrheic and normal calves. Rev.Microbiol., 23: 151-4, 1992.

LARIVIERE, L.A.; GAUDREAU, C.L.; TURGEON, F.F. Susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter jejuni* to twenty-five antimicrobial agents. J. antimicrob. Chemother., 18: 681-685, 1986.

LEITE, R.C. Avaliação de alguns métodos de diagnóstico e análise/custo/benefício do controle da campylobacteriose bovina. Tese de mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais. 1977, 52p.

LI, C.C.; CHIU, C.H.; WU, J.L.; HUANG, Y.C.; LIN, T.Y. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *coli* by using E-test in taiwan. Scand. J. Infect. Dis., 30: 39-42, 1998

LIM, Y. & TAY, L. A one-year study of enteric *Campylobacter* infections in Singapore. J. Trop. Med. Hyg., 95: 119-123, 1992.

McEWEN, S.A.; CRAY, P.J. Antimicrobial use and resistance in animals. Clinical Infections Diseases, 34 (suppl 3): 93-106, 2002.

MENDES, E.N. Frequência de *campylobacter jejuni* em crianças com e sem diarréia em Bel Horizonte. Belo Horizonte-MG, Instituto de ciências biológicas da UFMG, 1985. 109p. Tese de mestrado.

NACHAMKIN, I. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to ciprofloxacin, erythromycin and tetracycline from 1982 and 1992. Med. Microbiol. Lett., 3: 300-305, 1994

NACHAMKIN, I.; ENGBERG, J.; AARESTRUP, M.F. Diagnosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* species. In **NACHAMKIN, N.; BLASER, M.J.** eds. Campylobacter, 2000. 2 ed. American Society for Microbiology, Washington. P 45-66.

NATIONAL ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY MONITORING PROGRAM. Veterinary isolates, Athens, Georgia: FDA/USDSA/CDC, 1998.

NATIONAL COOMITTEE FOR CLINICLA LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 6 th edn. Approved standards. NCCLS document M2-M6. Wayne. PA: NCCLS, 1997.

NATIONAL COOMITTEE FOR CLINICLA LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; proposed standard M32-P. NCCLS, Vilanova, Pa, 1994.

NOLAN, C.M.; JOHNSON, K.E.; COYLE, M.B.; FALER, K. *Campylobacter jejuni* enteritis: efficacy of antimicrobial and antimotility drugs. Am. J. Gastroenterol., 78: 621-626, 1983.

ORR, K.E.; LIGHTFOOT, N.F.; SISSON, P.R.; HARKIS, B.A.; TWEDDLE, J.L.; BOYD, P.; CARROLL, A.; JACKSON, C.J.; WAREING, D.R.A.; FREEMAN, R. Direct milk excretion of *Campylobacter jejuni* in a dairy cow causing cases of human enteritis. Epidemiol. Infection., 114: 15-24, 1995.

PITKANEN, T.; PETTERSSON, T.; POMKA, A.; KOSUNEN, T.U. Effect of erythromycin on the fecal excretion of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni*. J. Infect. Dis., 145: 128, 1982.

RANG, H.P.; RITTER, J.M.; DALE, M.M. Farmacologia, 3 ed. 1997

RAUTELIN, H.; RENKONEN, O.V.; KOSUNEN, T.U. emergence of fluoroquinolones resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in subjects from Finland. Ant. Agents Chemoter., 35: 2065-2069, 1991.

REINA, J., ROS, M.J.; SERRA, A. Susceptibilities to 10 antimicrobial agents of 1,220 *Campylobacter* strains isolated from 1987 to 1993 from feces of pediatric patients. Ant. Agents Chemoter., 38: 2917-2920, 1994.

RINGERTZ, S.; ROCKHILL, R.C.; RINGERTZ, O.; SUTOMO, A. Susceptibility of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*, isolated from patients in Jakarta, Indonesia to ten antimicrobial agents. J. Antimicrob. Chemoter., 8: 333, 1981

SCHWARTZ, D.; GOOSSENS, H.; LEVY, J.; BUTZLER, J.P.; GOLDHAR, J. Israeli children with diarrhea. Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis., 279: 368-376, 1993.

SJOGREN, E.; LINDBLOM, G.B.; KAIJSER, B. Norfloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Swedish patients. J. Antimicrob. Chemoter., 40: 257-261, 1997.

SNIJDERS, F.; KUIJPER, E.J.; WEVER, B. VAN DER HOEK, L.; DANNER, S.A.; DANKERT, J. Prevalence of *Campylobacter*-associated diarrhea among patients infected with human immunodeficiency virus. Clin. Infect. Dis., 24: 1107-1113, 1997.

SPELHAUG, D.R.; GILCHRIT, M.J.R.; WASHINGTON II, J.A. Bactericidal activity of antibiotics against *Campylobacter fetus* subspecies *intestinalis*. J. Infect. Dis., 143:500, 1981.

SVEDHEM, A., KAIJSER, B. SJOGREN, E. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolated from humans with diarrhea and from healthy chickens. J. Antimicrob. Chemoter. 7: 301, 1981.

TAJADA, P.; GOMEZ, G.; ALOS, I.J.; BALAS, D.; COGOLLOS, R. antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 beta-lactam agents and combinations with beta-lactamase inhibitors. Ant. Agents Chemoter., 40: 1924-1925, 1996.

TAYLOR, D.E. & COURVALIN, P. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. Ant. Agents Chemoter., 32: 1107-1112, 1988.

TAYLOR, D.E.; JOHNSON, W.M.; LIOR, H. Cytotoxic and enterotoxic activities of *Campylobacter jejuni* are not specific by tetracycline resistance plasmids p MAK175 and pUA466. J. Clin. Microbiol., 25: 150-1, 1987.

TAYLOR, D.N.; BLASER, M.J.; ECHEVERRIA, P.; PITARANGSI, C.; BODHIDATTA, L.; WANG, W.L. Erythromycin-resistant *Campylobacter* infections in Thailand. J. Antimicrob. Chemother., 31: 438-442, 1987.

TAYLOR, D.N. *Campylobacter* infections in developi countries , In **NACHAMKIN, I.; BLASER, M.J.; TOMPKINS, L.S.** eds. *Campylobacter jejuni: Current Status and Future Trends.* American society for microbiology, Washington, D.C., 1992

TENOVER, F.C.; BACKER, C.N.; FENNEL, C.L.; RYAN, C.A. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* species. In **NACHAMKIM, I.; BLASER, M.J.; TOMPKINS, L.S.** *Campylobacter jejuni. Current Status and future trends.* American Society for Microbiology, 66-73, 1992.

TREMBLAY, C.; GAUDREAU, C. Antimicrobial susceptibility testing of 59 strains of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*. Antimicrob. Agents Chemother, 42:1847-1849, 1998.

TREMBLAY, C.; GAUDREAU, C.; LORANGE, M. Epidemiology and Antimicrobial Susceptibilities of 111 *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* Strains Isolated in Québec, Canada, from 1983 to 2000. Journal of Clinical Microbiology, 41: 463-466, 2003.

TRIEBER, C.A. & TAYLOR, D.E. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* In **NACHAMKIM, I.; BLASER, M.J.** *Campylobacter* American Society for Microbiology, 2nd, 441-455, 2000.

VANDAMME, P. Taxonomy of the family Campylobacteraceae In **NACHAMKING, N.; BLASER, M.J.** eds. *Campylobacter*, 2000. 2 ed. American Society for Microbiology, Washington. P 3-20

VAN DER AUWERA, P. & SCORNEAUX, B. In vitro susceptibiliy of *Campylobacter jejuni* to 27 antimicrobial agents and various combinations of beta-lactams with clavulanic acid or sulbactam. Ant. Agents Chemoter., 28: 37-40, 1985.

VANHOOF, R.; VANDERLINDEN, M.P.; DIERICKX, R.; LAUWERS, S.; YOURASSOWSKY, E.; BUTZLER, J.P. Susceptibility of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* to twenty-nine antimicrobial agents. Ant. Agents Chemoter., 14: 553-6, 1978.

VANHOOF, R.; GORDTS, B.; DIERICKX, R.; COIGNAU, H.; BUTZLER, J.P. Bacteriostatic and bactericidal activities of the 24 antimicrobial agents against *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. Ant. Agents Chemoter., 18: 118-21, 1980.

VANHOOF, R.; COIGNAU, S.G.; BUTZLER, J.P. Evaluation of the in vitro activity of nifuroxazide on enteropathogenic microorganisms: determination of bacteriostatic and bactericidal concentrations and disk susceptibility. Acta Clin. Belg., 36, 126, 1982.

VOGT, R.L.; SOURS, H.E.; BARRETT, T.; FELDMAN, R.A.; DICKINSON, R.J.; WHITERELL, L. *Campylobacter* enteritis associated with contaminated water. Ann. Intern. Med., 96: 292-96, 1982.

WANG, W.L.L.; RELLER, L.B.; BLASER, M.J. Comparison of antimicrobial susceptibility patterns of *Campylobacter jejuni* and *campylobacter coli*. Ant. Agents Chemoter., 26: 351-3, 1984.