

## O COBRE COMO SUPERFÍCIE DE CONTATO ANTIMICROBIANA E SUA POTENCIAL APLICAÇÃO NA MEDICINA VETERINÁRIA

Ronise Faria Rohde Depner<sup>1</sup>  
Rômulo Alexandre Depner<sup>2</sup>  
Vivian Lucca<sup>3</sup>  
Maristela Lovato<sup>4</sup>

### RESUMO

O cobre metálico tem atraído atenção desde 2008, quando quase 300 ligas foram registradas pela agência norte-americana *Environmental Protection Agency* (EPA) como superfícies de contato antimicrobianas. *Escherichia coli* O157:H7; *Staphylococcus aureus* metilina-resistente (MRSA); *Clostridium difficile*; *Salmonella enterica*; *Campylobacter jejuni*; *Listeria monocytogenes*; *Candida albicans* e Influenza A (H1N1) estão entre os micro-organismos comprovadamente inativados pelo cobre. Ensaios hospitalares demonstraram uma redução de 58% das infecções nosocomiais em pacientes de Unidades de Terapia Intensiva (UTI) em quartos equipados com superfícies de cobre. O objetivo do trabalho foi avaliar a possibilidade da introdução dessas superfícies nas diversas áreas da veterinária por meio de uma revisão bibliográfica dos principais estudos realizados a respeito do cobre e de suas ligas. Com base nas propriedades bactericidas, fungicidas e viricidas encontradas, pode-se inferir a quantidade de benefícios que o cobre pode trazer à medicina veterinária, tanto na produção animal, quanto em segurança dos alimentos e saúde pública. A aplicação das superfícies antimicrobianas poderá resultar em menores taxas de infecções e menor uso de antibióticos, redução de custos com tratamento, melhor desempenho zootécnico e redução da transmissão de zoonoses.

**Palavras-chave:** cobre antimicrobiano, superfícies de toque, infecção hospitalar, segurança dos alimentos.

### THE COPPER AS AN ANTIMICROBIAL TOUCH SURFACE AND ITS POTENTIAL APPLICATION IN VETERINARY MEDICINE

#### ABSTRACT

The metallic copper has attracted attention since 2008, when nearly 300 alloys were registered by the Environmental Protection Agency (EPA) as antimicrobial touch surfaces. *Escherichia coli* O157:H7; *Staphylococcus aureus* methicillin-resistant (MRSA); *Clostridium difficile*; *Salmonella enterica*; *Campylobacter jejuni*; *Listeria monocytogenes*; *Candida albicans* and Influenza A (H1N1) have proven to be inactivated by copper. Hospital assays showed a 58% reduction of nosocomial infections in intensive care units (ICU) in rooms with copper surfaces. This study aimed to assess the possibility of introducing these surfaces in various areas of veterinary medicine through a review of major studies with regard to copper and its alloys. Based on the bactericidal, fungicide and virucide properties found, it can be inferred that the amount of benefits that copper may bring to veterinary medicine, regarding livestock

<sup>1</sup> Médica Veterinária, Mestranda em Medicina Veterinária Preventiva na Universidade Federal de Santa Maria- UFSM. Especialista em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal. Contato principal para correspondência.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Santa Maria - UFSM Médico Veterinário

<sup>3</sup> Graduanda de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

<sup>4</sup> Prof. Dra. do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

as well as for food safety and public health. The application of antimicrobial surfaces could result in lower rates of infections and less antibiotic use, reduce treatment costs, better production performance and reducing transmission of zoonosis.

**Keywords:** antimicrobial copper, touch surfaces, hospital-acquired infection, food safety.

## EL COBRE COMO SUPERFICIE DE CONTACTO ANTIMICROBIANA Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN LA MEDICINA VETERINÁRIA

### RESUMEN

El cobre metálico ha atraído atención desde 2008, cuando casi 300 aleaciones fueron registradas por la agencia estadounidense *Environmental Protection Agency* (EPA) como superficies de contacto antimicrobianas. *Escherichia coli* O157: H7; *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA); *Clostridium difficile*; *Salmonella enterica*; *Campylobacter jejuni*; *Listeria monocytogenes*; *Candida albicans* e Influenza A (H1N1) están entre los microorganismos comprobadamente inactivados por el cobre. Ensayos hospitalarios demostraron una reducción de 58% de las infecciones nosocomiales en pacientes de Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) en habitaciones equipadas con superficies de cobre. El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar la posibilidad de introducir esas superficies en diversas áreas de la veterinaria a través de una revisión bibliográfica de los principales estudios realizados a respecto del cobre y de sus aleaciones. Con base en las propiedades bactericidas, fungicidas y virucidas encontradas, se puede inferir la cantidad de beneficios que el cobre puede traer a la medicina veterinaria tanto en la producción animal como en seguridad de los alimentos y la salud pública. La aplicación de las superficies antimicrobianas podrá resultar en menores tasas de infecciones y menor uso de antibióticos, reducción de costos con tratamiento, mejor desempeño zootécnico y reducción de la transmisión de zoonosis.

**Palabras clave:** cobre antimicrobiano, superficies de contacto, infección hospitalaria, seguridad de los alimentos.

### INTRODUÇÃO

O cobre é um elemento de transição na tabela periódica. Sua capacidade de facilmente doar ou receber um elétron é a fonte de muitas de suas propriedades úteis, incluindo condutividade térmica e elétrica e das propriedades eletroquímicas que os sistemas biológicos empregam. Sua forma oxidada é indicada como  $\text{Cu}^{+2}$ , e sua forma reduzida, como  $\text{Cu}^{+1}$ .

Trata-se de um microelemento necessário para quase todos os organismos vivos, incluindo humanos, contribuindo com numerosos processos metabólicos. Entretanto, íons de cobre em níveis elevados são tóxicos para a maioria dos organismos (1). Em humanos, sua deficiência causa anemia, leucopenia, neutropenia, hiperuricemia e retardo no crescimento, e sua toxicidade provoca diarreia, náusea, vômitos, cirrose, anemia e bronquite (2).

Embora a toxicidade humana possa ocorrer, a exposição ao cobre é considerada segura, evidenciada pelo uso disseminado de dispositivos intrauterinos de cobre e pelo baixo risco de reações adversas devido ao contato dérmico com o metal. A baixa sensibilidade do tecido humano ao cobre pode ser contrastada com a dos micro-organismos que são extremamente sensíveis aos seus efeitos tóxicos (3).

O mais antigo uso médico já registrado do cobre é mencionado no Smith Papyrus. Esse texto médico egípcio escrito entre 2.600 e 2.200 antes de Cristo, descreve a aplicação do cobre para esterilizar ferimentos torácicos e água potável. Gregos, romanos, astecas e outros

tratavam dores de cabeça, doenças pulmonares, queimaduras, vermes intestinais e infecções no ouvido e higiene em geral (1,4-6). Sua utilização se difundiu na medicina a partir do século XIX. Seu uso como agente antimicrobiano continuou até a disponibilização de antibióticos em escala comercial em 1932 (3,6).

Mikolay et al. (7) comprovaram, na prática hospitalar, a funcionalidade do cobre e suas ligas, confirmando que essas superfícies podem auxiliar o uso de antibióticos, desinfetantes e a prática de lavagem de mãos, minimizando o risco de aparecimento e disseminação de micro-organismos resistentes.

Faúndez et al. (8) afirmam que o cobre metálico pode ser aplicado em áreas com alta exposição à contaminação bacteriana como as encontradas em avicultura. O uso de folhas de cobre como superfície de contato antimicrobiana seria útil para diminuir a contaminação cruzada, causada por bactérias patogênicas como *Salmonella enterica* e *Campylobacter jejuni*.

Apesar da antiguidade de sua descoberta e utilização, o cobre tem suas propriedades ainda pouco exploradas e suas utilidades estão longe de serem esgotadas. Tendo em vista que até o momento não se encontrou nenhuma pesquisa sobre a aplicabilidade das superfícies de contato à base de cobre na medicina veterinária, o presente trabalho objetivou avaliar a possibilidade da introdução dessas superfícies nas diversas áreas da medicina veterinária por meio de uma revisão bibliográfica dos principais estudos realizados a respeito do cobre e de suas ligas.

## O COBRE COMO AGENTE ANTIMICROBIANO

O estudo das propriedades antimicrobianas das superfícies metálicas de cobre é relativamente recente e ganhou destaque quando o órgão norte-americano *Environmental Protection Agency* (EPA) registrou quase 300 superfícies distintas de cobre como antimicrobianas em 2008. Antes disso, uma série de estudos demonstrou o efeito bactericida do cobre e suas ligas contra cinco cepas de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente (MRSA), *Escherichia coli* O157:H7, *Enterobacter aerogenes* e *Pseudomonas aeruginosa*) testadas de acordo com os protocolos da EPA. O cobre é o primeiro metal a ter reconhecido tal status (3,6,9).

O registro permite a comercialização sob a alegação de que o cobre “mata 99,9% das bactérias dentro de duas horas”. Sua utilização foi autorizada para a fabricação de produtos para ambientes comerciais, residenciais e de saúde. A agência esclarece que as ligas de cobre devem ser utilizadas como um complemento e não para a substituição das práticas padrão de limpeza e desinfecção das superfícies. Acrescenta ainda que tais produtos não representam nenhum risco à saúde pública (10).

### *Aspectos gerais da atividade antimicrobiana*

Com relação à atividade antimicrobiana do cobre e de suas ligas, estudos concluíram que o efeito antimicrobiano aumenta à medida que a temperatura passa da refrigeração para a temperatura ambiente (4,8,11) e à medida que o teor de cobre das ligas aumenta (4,7). A maior resistência à corrosão leva a menor disponibilidade de íons cúpricos ( $\text{Cu}^{+2}$ ) e conseqüentemente menor atividade antimicrobiana (4,6). As superfícies manchadas liberam  $\text{Cu}^{+2}$  mais facilmente, exibindo atividade inibitória mais rapidamente que as superfícies brilhantes (4). Entretanto, espessa camada de óxido de cobre reduz a atividade antimicrobiana das superfícies de contato (6). Como o efeito antimicrobiano é uma propriedade contínua do cobre, a recontaminação é mitigada (12).

Ainda não foi bem estudado como as sujidades, a limpeza, a exposição a produtos químicos e as manchas afetam as propriedades do cobre. Em estudo conduzido por Airey e

Verran (13), as superfícies de cobre e de aço inoxidável foram inoculadas com *Staphylococcus aureus* em solução de albumina a 1%, secas, e depois higienizadas com álcool 70% ou hipoclorito de sódio a 1%, simulando uma situação diária de sujeira/limpeza. Foi observado um aumento do número de células viáveis nas superfícies da sujeira com o passar dos dias. Porém, os produtos utilizados foram reativos ao cobre, não sendo indicados para tais superfícies.

Por outro lado, Wheeldon et al. (14) concluíram que, mesmo na presença de sujidade, o cobre metálico reduziu rapidamente o número de esporos de *Clostridium difficile*. Não houve redução na eficiência antimicrobiana ao longo de 30 ciclos de inoculação bacteriana e subsequente limpeza com detergente não iônico a 1% (6). E, ao longo de dois anos de monitoramento do ambiente hospitalar, as manchas foram mínimas e a atividade antimicrobiana das superfícies não diminuiu (12).

### **Mecanismo de ação bactericida**

O mecanismo pelo qual se dá a morte microbiana em superfícies de contato de cobre é chamado de “morte por contato”. Ele não está completamente elucidado, porém alguns fatores já foram identificados. Existem diferenças significativas entre a exposição de bactérias a concentrações tóxicas de íons de cobre e a exposição por contato com superfícies metálicas. A exposição, durante o crescimento, a meios contendo íons de cobre, o crescimento em biofilmes de sistemas hidráulicos e a colonização de implantes médicos de cobre são exposições crônicas. O contato com o cobre metálico seco é agudo. Assim, essas células enfrentam desafios diferentes daqueles enfrentados por células cronicamente desafiadas por íons de cobre (6).

A toxicidade ocorre devido à sua tendência em alternar seu estado de oxidação entre cuproso ( $\text{Cu}^{1+}$ ) e cúprico ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Em condições aeróbicas, esse ciclo redox leva à geração de radicais hidroxila altamente reativos que danificam as biomoléculas, tais como DNA, proteínas e lipídeos (6,15,16). Fatores que aumentam as espécies reativas de oxigênio (ROS) aumentam a taxa de morte bacteriana. Assim, a produção de radical hidroxila pela reação de Fenton contribui para a inativação (7).

Os íons cobre têm alta afinidade por aminoácidos como a cisteína e a histidina. Isso resulta em proteínas deformadas ou no deslocamento de outros cátions de metais de transição dos seus sítios ativos (15). Entretanto, uma vez que células expostas a superfícies de cobre secas não se multiplicam, os clusters Fe-S sensíveis dentro das proteínas, necessários para o metabolismo das células, não constituem um alvo provável de toxicidade (17).

Superfícies secas de cobre metálico tem maior poder antimicrobiano que as mesmas superfícies úmidas. Em inoculações bacterianas úmidas em superfícies de cobre, os sistemas de homeostase de cobre nas células desempenham um papel claro. Quando deletados os genes de resistência ao cobre, as bactérias foram mortas mais rapidamente. Esses sistemas de resistência prolongaram a sobrevivência, mas não ofereceram proteção contra a “morte por contato” (6).

Células expostas a superfícies secas de cobre acumulam grandes quantidades de íons mais rapidamente que nas superfícies úmidas. Elas sofrem extensos danos nas membranas e perdem a integridade celular em poucos minutos. É provável que as proteínas ou os lipídeos das membranas constituam os maiores alvos de toxicidade. O contato agudo com as superfícies de cobre metálico não resultou em aumento das taxas de mutação ou de alterações no DNA (17).

Warnes et al. (18) descreveram que o DNA é um dos principais alvos da toxicidade do cobre, levando à rápida fragmentação deste e morte celular. As análises do genoma e dos plasmídeos das células bacterianas recuperadas das superfícies metálicas indicaram

substancial degradação de DNA após a exposição ao cobre. No entanto, diversos autores afirmam que os danos ao DNA são secundários, ocasionados pela morte celular. A “morte por contato” se efetua pelos sucessivos danos na membrana, influxo de cobre para dentro das células, danos oxidativos, morte celular e degradação do DNA (6,16,19). Além disso, células de *Deinococcus radiodurans*, que têm grande capacidade de reparar seu genoma e retomar a divisão celular mesmo quando expostas à radiação ionizante, mostraram-se sensíveis à “morte por contato”, indicando que a destruição do DNA não é a causa primária de morte bacteriana (17).

Bactérias que sofrem diversas condições estressantes, frequentemente passam por uma diferenciação fisiológica conhecida como o estado de “viável, mas não cultivável”. Nesse estado, as bactérias ainda estão viáveis e apresentam atividade metabólica e respiração, mas não podem ser detectáveis como Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por contagens em placas. No entanto, as bactérias expostas às superfícies de cobre metálico não entram neste estado, elas são completamente inativadas (15).

Em condições de anaerobiose, a ausência de oxigênio apenas aumentou o tempo necessário para a inativação de  $10^9$  células de *E. coli* (de 1 para 2 minutos) em plaqueamento seco, mas não as protegeu da morte. O contato com as células pode oxidar diretamente a superfície de cobre, levando à liberação de íons  $\text{Cu}^{+1}$ . Esses não são muito solúveis e não são estáveis em aerobiose, porém são mais tóxicos que os íons  $\text{Cu}^{+2}$ . Sendo assim, as condições de anaerobiose não aumentam significativamente a sobrevivência em cobre metálico (15).

### ***Mecanismo de ação viricida e fungicida***

Noyce et al. (20), estudando a inativação do vírus da Influenza A (H1N1), concluíram que os íons de cobre podem danificar o RNA genômico do vírus, inibindo sua replicação. Warnes e Keevil (21) afirmam que um dos alvos de toxicidade do cobre é mesmo o genoma viral e que um reduzido número de cópias do gene que codifica a proteína viral VPg (viral-protein-genome-linked), que é essencial para a sua infectividade, foi observado após o contato com superfícies secas de cobre e latão.

O mecanismo da “morte por contato” das leveduras segue as mesmas regras de inativação nas superfícies de cobre observadas para bactérias gram-positivas e gram-negativas (19). Células de *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* absorveram grandes quantidades de íons de cobre assim que entraram em contato com a superfície antimicrobiana. A despolarização da membrana citoplasmática foi seguida de um rápido e extenso dano. Os vacúolos se tornaram aumentados e depois desapareceram. Por fim, o estresse oxidativo no citoplasma e nas mitocôndrias foi elevado e não houve efeitos deletérios no material genético. Deletando os genes de resistência, constatou-se que a adequada homeostase aos íons de cobre retardou a cinética da morte celular, mas não a impediu (22).

Com relação à atividade fungicida,  $10^6$  células de *Candida albicans* e de *Saccharomyces cerevisiae* foram inativadas depois de 5 minutos e de 30 segundos de exposição à superfície seca de cobre antimicrobiano, respectivamente. *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* e esporos de *Candida albicans* também já foram inativados nessas superfícies (22).

### ***Testes laboratoriais***

A concentração de *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* (patógenos de origem alimentar) e MRSA (causadora de grave infecção nosocomial) reduziu 9 log, chegando a zero, em aproximadamente uma hora, na maioria dos casos (4). Infecções por MRSA causam preocupações também em animais de fazenda. Na Holanda, foi relatada uma nova cepa de

MRSA, relacionada a suínos e bovinos, e um levantamento realizado demonstrou que 40% dos suínos eram portadores. Na Coreia, cepas de MRSA foram encontradas em galinhas e vacas leiteiras. MRSA, que se tornou presente também na pecuária, tem o potencial de ser transmitido dos animais para os seus tratadores e destes para o público em geral (9).

Três cepas de MRSA (MRSA, MRSA-1 e MRSA-16) foram completamente inativadas ( $10^7$  log) por superfícies de cobre a 20°C em 45, 60 e 90 minutos, respectivamente. As superfícies de latão (80% Cu) também demonstraram boa capacidade bactericida, porém levaram mais tempo para mostrar reduções significativas das contagens bacterianas. A 4°C, o tempo necessário para a completa inativação bacteriana na superfície de cobre foi maior (3 a 6 horas), porém os resultados demonstram que tais superfícies mantêm sua ação em temperaturas de resfriamento (23).

O cobre e mais cinco ligas foram testados frente a isolados clínicos de importantes patógenos. *Candida albicans* ( $10^7$  UFC/mL) e *Klebsiella pneumoniae* ( $10^8$  UFC/mL) foram completamente inativadas em 60 minutos. *Acinetobacter baumannii* ( $10^7$  UFC/mL) em 180 minutos e *Pseudomonas aeruginosa* ( $10^8$  UFC/mL) e MRSA ( $10^8$  UFC/mL) em 270 minutos. Duas cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* (R267 e R432) mostraram 98% e 88% de inibição, respectivamente (11).

Gould et al. (5) verificaram a completa inativação de bactérias isoladas de pacientes do Reino Unido (MRSA, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) em 60 minutos e níveis não detectáveis de *Enterococcus* Vancomicina-resistente (VRE) foram atingidos em apenas 40 minutos. Espírito Santo et al. (19) inativaram  $10^6$  células de *Staphylococcus haemolyticus* em apenas 7 minutos.

*Clostridium difficile* é um importante patógeno formador de esporos que causa diarreia e colite, sendo um dos principais agentes de infecções nosocomiais e um verdadeiro desafio para procedimentos de assepsia (6,14,24). Wheeldon et al. (14) constataram que todas as células vegetativas foram eliminadas em apenas 30 minutos e, apesar de sua maior resistência ao meio, 99,8% dos seus esporos se tornaram inviáveis em 3 horas. WEAVER et al. (24) inativaram células vegetativas e esporos de *Clostridium difficile* em 24-48 horas quando expostos a várias ligas de cobre.

Noyce et al. (20), inocularam  $2 \times 10^8$  partículas do vírus da Influenza A (H1N1) em cobre e em aço inoxidável. Após 24 horas de incubação, encontraram 50.000 partículas virais infecciosas no aço inox e, em apenas 6 horas na superfície de cobre, somente 500 partículas foram detectadas. As noroviroses são a principal causa de gastroenterite viral no mundo todo. O vírus é altamente infeccioso e o toque em superfícies contaminadas contribui para a sua disseminação. Warnes e Keevil (21) relataram a rápida inativação do *Norovírus* murino 1 (MNV-1) em cobre, tanto em superfície seca (5 minutos), quanto em superfície úmida (30 minutos). A taxa de inativação foi proporcional ao percentual de cobre nas ligas.

### **Aplicações em Saúde Pública**

As superfícies de toque encontradas em hospitais tais como portas, puxadores, guardas de camas, botões de chamada, assentos sanitários, podem estar altamente contaminadas (6). Esses micro-organismos podem ser transmitidos pelas mãos para outros objetos inanimados ou para pacientes (3).

Ensaio hospitalares estão em curso em todo o mundo e os primeiros resultados já foram relatados. Os números médios de bactérias recuperadas das superfícies contendo cobre foram entre 90% e 100% menores do que os das superfícies controle em um hospital do Reino Unido (25). Já em um posto de saúde em Grabouw, África do Sul, as superfícies de cobre tiveram uma carga microbiana 71% menor (26) e no Asklepios Hospital, em Hamburgo, Alemanha, a redução média foi de 63% (7). Nesse mesmo estudo, observou-se que a taxa de

recontaminação das superfícies de cobre foi menor (12,4 UFC/h) do que a taxa das superfícies controle (22,5 UFC/h) evidenciando, assim, a continuada ação antimicrobiana de tais superfícies.

O cobre puro pode não ser um substituto apropriado para o aço inox em ambientes hospitalares. Isso se deve às suas propriedades mecânicas em comparação com o aço inoxidável e pelo fato de que se oxida em contato com o ar. Entretanto, suas ligas, como o latão, também exibem atividade antimicrobiana. Essas ligas melhoram as propriedades mecânicas e também estéticas das superfícies (27).

Pesquisadores equiparam oito quartos de Unidades de Terapia Intensiva (UTI) em três hospitais, com superfícies de cobre, e utilizaram como controle outros oito quartos com superfícies convencionais. Os resultados do experimento demonstraram uma redução na taxa de infecção hospitalar e/ou colonização dos pacientes por MRSA/VRE de 58% (12). Também já haviam demonstrado que as superfícies de cobre reduziram em 83% a carga microbiana dos quartos dos hospitais (28). Também foi publicado o primeiro estudo de custo-benefício na aplicação de superfícies de contato em cobre no qual foram utilizadas 20 camas e concluiu-se que o investimento seria recuperado em menos de dois meses (29).

O único local de que se tem notícia que faz uso do cobre como superfície antimicrobiana em medicina veterinária é uma clínica na cidade de Phalaborwa, África do Sul. No local, foram instalados uma mesa cirúrgica, interruptores de luz, puxador da porta da geladeira de vacinas, garrafas de desinfetantes, ajuste do foco das luzes da sala cirúrgica e puxadores das mesas em cobre (30). Porém, não foram divulgados dados sobre o impacto da substituição desses equipamentos na carga microbiana do local.

### *Aplicações em alimentos*

As infecções entéricas causadas por *Campylobacter jejuni* e *Salmonella enterica* são frequentemente associadas à ingestão de carne, ovos e produtos lácteos. A manipulação incorreta e a contaminação cruzada durante os processos industriais podem contribuir para a disseminação desses micro-organismos. Uma significativa atividade bactericida foi verificada quando ambos os patógenos foram colocados em contato com o cobre (8).

A maior via de contaminação por *E. coli* O157 é a carne moída contaminada. Noyce et al. (31) avaliaram a capacidade de inativação dessa bactéria por sete ligas de cobre (61% a 95% Cu), com e sem adição de suco de carne. Sem o extrato de carne, três ligas foram capazes de inativar completamente as bactérias em até seis horas a 22°C. Com o extrato, apenas uma liga obteve o mesmo resultado.

Outro importante patógeno que pode contaminar os alimentos e causar sérios danos à saúde humana, especialmente em mulheres grávidas e pessoas imunossuprimidas, é a *Listeria monocytogenes*. Wilks et al. (32) relataram a completa inativação de  $10^7$  células desta bactéria nas superfícies de cobre em 60 minutos.

Faúndez et al. (8) observaram que as folhas de cobre, inicialmente de aspecto metálico, tornaram-se marrom-escuras e que as suspensões bacterianas foram adquirindo uma cor azul pálida, indicando a liberação de íons  $\text{Cu}^{2+}$ . A potencial aquisição de cobre pelos alimentos expostos à superfície metálica foi então avaliada, utilizando pedaços de carne de frango e suína, e verificaram que ambas, expostas ao cobre puro por duas horas ou mais, absorveram cobre residual. Essa absorção teve apenas um pequeno aumento após os primeiros 50 minutos e os valores tenderam a atingir um máximo de 2.5 mg/100g. Porém, em condições normais de processamento, o tempo de exposição dos produtos alimentícios às superfícies é de poucos minutos, devendo a aquisição de cobre permanecer muito baixa.

A ingestão diária recomendada de cobre é de 0.9 a 1,6mg e o limite máximo é de 10mg para adultos (19-50 anos). A liberação excessiva de cobre é um fator que deve ser levado em

conta (8,33). No entanto, Gonçalves et al. (2) afirmam que somente 40% a 50% do total de cobre são absorvidos pelo organismo e que o tipo de processamento que a carne sofre também reduz do cobre disponível para absorção. A cocção reduz em até 50% a disponibilidade do metal; o congelamento *in natura* 38%, e o congelamento de carnes processadas termicamente 26%.

Por fim, Faúndez et al. (8) sugerem que as folhas de cobre poderiam ser utilizadas para diminuir a carga bacteriana persistente após a limpeza diária, evitar a formação de biofilmes, reduzir a viabilidade de bactérias patogênicas, reduzir a contaminação cruzada e/ou para atuar como autodesinfetantes em áreas onde a carga bacteriana é continuamente renovada.

Nas condições normais dos abatedouros, as ligas de cobre podem ser ótimas aliadas no combate a micro-organismos patogênicos, especialmente aquelas com maior teor de cobre. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar a aplicabilidade de tais superfícies em estabelecimentos de produtos de origem animal, principalmente no que concerne à higienização, resistência à corrosão, durabilidade e ao estabelecimento da melhor liga para cada superfície, além da realização de testes para verificar a liberação de cobre das superfícies para os alimentos.

### ***Resistência microbiana ao cobre***

Freqüentemente, micro-organismos resistentes são isolados a partir de tubulações de cobre e de outras superfícies de cobre expostas à água, onde desenvolvem biofilmes estáveis. Diversas bactérias heterotróficas já foram isoladas de biofilmes em encanamentos de cobre tais como: *Acidovorax delafieldii*, *Flavobacterium sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, e *Stenotrophomonas maltophilia*. Nesses casos, os íons são liberados pelas superfícies de cobre, mas as bactérias são resistentes a esses íons. Porém, em superfícies de toque secas, as bactérias não têm tempo para desenvolver biofilmes e o estresse e as condições de sobrevivência são diferentes daquelas dos sistemas aquosos. O estresse está diretamente relacionado ao cobre nas condições a seco, uma vez que tem sido demonstrado que as células expostas a outras superfícies metálicas, tais como o aço inoxidável, não foram inativadas (15).

A resistência ao cobre seco ainda não foi bem estudada, mas o surgimento e difusão de bactérias resistentes à “morte por contato” pelo cobre parece improvável devido às seguintes razões: O DNA dos plasmídeos é completamente degradado após a morte celular, prevenindo a transferência de resistência entre os organismos; a “morte por contato” é muito rápida, e as células não se dividem em superfícies de cobre, impedindo a formação de resistência; o cobre e suas ligas têm sido utilizados pela humanidade há milhares de anos e até agora nenhuma bactéria completamente resistente à “morte por contato” foi descoberta (6).

Pesquisadores verificaram que o DNA bacteriano foi rapidamente destruído em *Enterococcus sp* expostos a superfícies de contato de cobre, o que significa que existe pouca chance de desenvolvimento de resistência a altos níveis de cobre e a antibióticos. A desintegração do ácido nucleico bacteriano dá suporte ao uso de ligas de cobre como superfície antimicrobiana em ambientes hospitalares para inativar as células bacterianas sem a ocorrência de mutações no DNA nem transferência de material genético carreando genes de resistência a antibióticos (18). Assim, parece que o cobre tem potencial para destruir a função celular de várias maneiras e como muitos desses mecanismos agem simultaneamente, a possibilidade de os microrganismos desenvolverem resistência é reduzida (4).

### ***Perspectivas***

Novas abordagens estão sendo desenvolvidas. Algumas delas são a inserção de compostos de cobre em fibra de vidro, tintas, vernizes e aço inoxidável, além do

desenvolvimento de nanopartículas de cobre e revestimentos de superfícies de silicone com cobre (5). As propriedades antibacterianas e antifúngicas das nanopartículas encontram aplicação em diversos campos como instrumentos médicos, tratamento de água e processamento de alimentos (34).

Os materiais de cobre podem também ser úteis como superfícies antimicrobianas em confinamentos, bebedouros e comedouros para os animais, materiais de gaiolas e recipientes de armazenamento. Os custos podem ser diluídos pelo menor uso de antibióticos e diminuição do risco de seleção para cepas de bactérias multirresistentes aos antibióticos (1).

Está claro que o uso do cobre e suas ligas como superfície antimicrobiana pode ser de grande valia em diversas áreas da medicina veterinária. Hospitais e clínicas, superfícies de laboratórios, instrumentos cirúrgicos, instalações, fômites, abatedouros, laticínios e outras indústrias de alimentos de origem animal, entre outros. Inúmeras são as possibilidades de pesquisa e aplicação das superfícies de contato do cobre e suas ligas como agentes antimicrobianos. Além da já comprovada ação das superfícies de cobre contra bactérias e vírus e fungos, sua aplicação prática na parasitologia também deve ser considerada, especialmente contra protozoários e ovos de helmintos.

Na avicultura, podemos vislumbrar uma extensa aplicação do cobre e suas ligas, a começar pelos incubatórios onde a limpeza dos equipamentos e da sala de nascimento dos pintainhos é fundamental para a sanidade dos animais. Os desinfetantes utilizados atualmente são a amônia quaternária, glutaraldeído, formaldeído, ácido acético, derivados do cloro e iodo. Porém, grande parte deles possuem restrições de uso, como o formaldeído, conhecido pela sua ação carcinogênica, e o iodo e os ácidos, que possuem ação corrosiva (35).

Com a disseminação dessas superfícies e o melhor entendimento do seu processo de higienização, poder-se-á também reduzir a utilização de detergentes e sanitizantes (redução da frequência das higienizações ou das concentrações utilizadas). Com isso, além do impacto financeiro pela redução de custos, haverá menor impacto ambiental pela redução de resíduos químicos liberados no meio-ambiente.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas diversas propriedades bactericidas, fungicidas e viricidas encontradas, pode-se inferir a quantidade de benefícios que o cobre deve trazer para a medicina veterinária, tanto na produção animal quanto em segurança dos alimentos e saúde pública. O uso de superfícies antimicrobianas de cobre poderá resultar em menores taxas de infecções e menor utilização de antibióticos, resultando em menores chances de desenvolvimento de micro-organismos multirresistentes, com benefícios para a saúde animal e humana. Poder-se-á contar ainda com a redução de custos com tratamento de doenças animais, melhor desempenho zootécnico, maior lucratividade e menor gasto com saúde pública pela redução da transmissão das zoonoses.

## REFERÊNCIAS

1. Elguindi J, Hao X, Lin Y, Alwathnani HA, Wei G, Rensing C. Advantages and challenges of increased antimicrobial copper use and copper mining. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011;91(2):237-49.
2. Gonçalves ECBA, Teodoro AJ, Takase I. Teores de cobre em extratos de carne in natura e processada. *Cienc Tecnol Aliment*. 2007;27(2):298-302.

3. O’Gorman J, Humphreys H. Application of copper to prevent and control infection. Where are we now? *J Hosp Infect.* 2012;81(4):217-23.
4. Michels HT, Wilks SA, Noyce JO, Keevil CW. Copper alloys for human infectious disease control. In: *Proceedings of Materials Science and Technology Conference; 2005; Pittsburgh, PA. Pittsburgh, PA; 2005.*
5. Gould SWJ, Fielder MD, Kelly AF, Morgan M, Kenny J, Naughton DP. The antimicrobial properties of copper surfaces against a range of important nosocomial pathogens. *Ann Microbiol.* 2009;59(1):151-6.
6. Grass G, Rensing C, Solioz M. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(5):1541-7.
7. Mikolay A, Huggett S, Tikana L, Grass G, Braun J, Nies DH. Survival of bacteria on metallic copper surfaces in a hospital Trial. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010;87(5):1875-9.
8. Faúdez G, Troncoso M, Navarrete P, Figueroa G. Antimicrobial activity of copper surfaces against suspensions of *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni*. *BMC Microbiol.* 2004;4:19.
9. Michels HT, Noyce JO, Keevil CW. Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* challenged antimicrobial materials containing silver and copper. *Lett Appl Microbiol.* 2009;49(2):191-5.
10. Environmental Protection Agency. EPA registers copper-containing alloy products [Internet]. 2008 [cited 2014 Apr 20]. Washington: EPA; 2008. Available from: <http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/copper-alloy-products.htm>.
11. Mehtar S, Wiid I, Todorov SD. The antimicrobial activity of copper and copper alloys against nosocomial pathogens and *Mycobacterium tuberculosis* isolated from healthcare facilities in the Western Cape: an in-vitro study. *J Hosp Infect.* 2008;68(1):45-51.
12. Salgado CD, Sepkowitz KA, John JF, Cantey JR, Attaway HH, Freeman KD, et al. Copper surfaces reduce the rate of healthcare-acquired infections in the intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34(5):479-86.
13. Airey P, Verran J. Potential use of copper as a hygienic surface: problems associated with cumulative soiling and cleaning. *J Hosp Infect.* 2007;67(3):271-7.
14. Wheeldon LJ, Worthington T, Lambert PA, Hilton AC, Lowden CJ, Elliott TSJ. Antimicrobial efficacy of copper surfaces against spores and vegetative cells of *Clostridium difficile*: the germination theory. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62(3):522-5.
15. Espírito Santo C, Taudte N, Nies DH, Grass G. Contribution of Copper Ion Resistance to Survival of *Escherichia Coli* on Metallic Copper Surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(4):977-86.
16. Souli M, Galani I, Plachouras D, Panagea T, Armaganidis A, Petrikkos G, et al. Antimicrobial activity of copper surfaces against carbapenemase-producing contemporary Gram-negative clinical isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(4):852-7.

17. Espírito Santo C, Lam EW, Elowsky CG, Quaranta D, Domaille DW, Chang CJ, et al. Bacterial killing by dry metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(3):794-802.
18. Warnes SL, Green SM, Michels HT, Keevil CW. Biocidal efficacy of copper alloys against pathogenic enterococci involves degradation of genomic and plasmid DNAs. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76(16):5390-401.
19. Espírito Santo C, Quaranta D, Grass G. Antimicrobial metallic copper surfaces kill *Staphylococcus haemolyticus* via membrane damage. *Microbiologyopen.* 2012;1(1):46-52.
20. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Inactivation of influenza A virus on copper versus stainless steel surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(8):2748-50.
21. Warnes SL, Keevil CW. Inactivation of norovirus on dry copper alloy surfaces. *PloS One.* 2013;8(9); e75017.
22. Quaranta D, Krans T, Espírito Santo C, Elowsky CG, Domaille DW, Chang CJ, et al. Mechanisms of contact-mediated killing of yeast cells on dry metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(2):416-26.
23. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment. *J Hosp Infect.* 2006;63(3):289-97.
24. Weaver L, Michels HT, Keevil CW. Survival of *Clostridium difficile* on copper and steel: futuristic options for hospital hygiene. *J Hosp Infect.* 2008;68(2):145-51.
25. Casey AL, Adams D, Karpanen TJ, Lambert PA, Cookson BD, Nightingale P, et al. Role of copper in reducing hospital environment contamination. *J Hosp Infect.* 2010;74(1):72-7.
26. Marais F, Mehtar S, Chalkley L. Antimicrobial efficacy of copper touch surfaces in reducing environmental bioburden in a South African community healthcare facility. *J Hosp Infect.* 2010;74(1):80-95.
27. Page K, Wilson M, Parkin IP. Antimicrobial surfaces and their potential in reducing the role of the inanimate environment in the incidence of hospital-acquired infections. *J Mater Chem.* 2009; 3819-31.
28. Schmidt MG, Attaway HH, Sharpe PA, John JJ, Sepkowitz KA, Morgan A, et al. Sustained reduction of microbial burden on common hospital surfaces through introduction of copper. *J Clin Microbiol.* 2012;50(7):2217-23.
29. Taylor M, Chaplin S. P368: The economic assessment of an environmental intervention: discrete deployment of copper for infection control in ICUs. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2013;2 Suppl 1:P368.
30. Bryony S. Veterinary Infection Prevention. Antimicrob Copper [Internet]. 2012 [cited 2014 Mar 26]. Available from: <http://www.antimicrobialcopper.com/uk/news-and-download-centre/news/veterinary-infection-prevention.aspx>.

31. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Use of copper cast alloys to control *Escherichia coli* 0157 cross-contamination during food processing. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72(6):4239-44.
32. Wilks SA, Michels HT, Keevil CW. Survival of *Listeria monocytogenes* Scott A on metal surfaces: implication for cross contamination. *Int J Food Microbiol.* 2006;111(2):93-8.
33. Andrade ECB, Barros AM, Mello VS, Takase I. Avaliação do teor de cobre e zinco em carnes cruas, processadas termicamente, resfriadas e congeladas no período de um mês. *Cienc Tecnol Aliment.* 2004;24(3):393-6.
34. Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, Rahuman AA. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Mater Lett.* 2012;71:114-16.
35. Macari M, Gonzales E. Manejo da incubação. 2a ed. Campinas: FACTA; 2003.

**Recebido em: 24/09/2014**

**Aceito em: 07/10/2015**