

## IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM MARITACAS (*Psittacara leucophthalmus*) DE VIDA LIVRE

IDENTIFICATION OF ENTEROBACTERIA AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN WILD  
WHITE-EYED PARAKEETS (*Psittacara leucophthalmus*)

M. C. BIAGIONI<sup>1\*</sup>; G. G. SOLANE<sup>2</sup>; N. H. F. CREPALDI<sup>3</sup>; M. L. SILVA<sup>4</sup>; M. G.  
CAIAFFA<sup>5</sup>; M. R. DAS MERCEDES<sup>6</sup>; M. V. M. OLIVEIRA<sup>7</sup>; R. H. F. TEIXEIRA<sup>8</sup>

### RESUMO

O presente estudo avaliou a ocorrência de enterobactérias resistentes a antibióticos em maritacas (*Psittacara leucophthalmus*) de vida livre que habitam a região metropolitana de Sorocaba. Para isso, foram coletados swabs da cloaca de 30 maritacas, resgatadas e direcionadas ao Zoológico Municipal da cidade. Para a identificação das enterobactérias, foi realizada cultura bacteriana das amostras biológicas em meios seletivos e provas bioquímicas laboratoriais. Foi observado *Escherichia coli* em 16 aves (53%), *Edwardsiella tarda* em três (10%), *Serratia liquefaciens* em duas (6%), *Citrobacter freundii* em duas (6%), *Enterobacter cloacae* em uma (3%) e *Serratia odorifera* também em apenas uma ave (3%). Entre os antibióticos testados, o cloranfenicol foi o antibiótico que apresentou maior sensibilidade bacteriana e aztreonam, cefepime e ceftazidima não apresentaram eficácia para nenhuma das enterobactérias identificadas no estudo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antimicrobianos. Aves silvestres. Doenças infecciosas. Resistência. Saúde Pública.

### SUMMARY

The present study assessed the occurrence of antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* in free-living White-eyed Parakeets (*Psittacara leucophthalmus*) inhabiting the metropolitan region of Sorocaba. For this purpose, cloacal swabs were collected from 30 parakeets, which were subsequently rescued and directed to the Municipal Zoo of the city. Bacterial culture of the biological samples on selective media and laboratory biochemical tests were conducted for the identification of *Enterobacteriaceae*. *Escherichia coli* was observed in 16 birds (53%), *Edwardsiella tarda* in three (10%), *Serratia liquefaciens* in two (6%), *Citrobacter freundii* in two (6%), *Enterobacter cloacae* in one (3%), and *Serratia odorifera* in only one bird (3%). Among the tested antibiotics, chloramphenicol exhibited the highest bacterial sensitivity, while aztreonam, cefepime, and ceftazidime showed no efficacy against any of the *Enterobacteriaceae* identified in the study.

**KEY-WORDS:** Antimicrobials. Wild Birds. Infectious Diseases. Resistance. Public Health.

<sup>1</sup> Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, São Paulo, Brasil; (autor de correspondência).

<sup>2</sup> Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

<sup>4</sup> Parque Zoológico Municipal “Quinzinho de Barros” (PZMQB), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

<sup>5</sup> Parque Zoológico Municipal “Quinzinho de Barros” (PZMQB), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

<sup>6</sup> Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

<sup>7</sup> Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

<sup>8</sup> Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

Parque Zoológico Municipal “Quinzinho de Barros” (PZMQB), Sorocaba, São Paulo, Brasil.

Programa de Pós-Graduação em Animais Selvagens da Universidade Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP - Botucatu), Botucatu, São Paulo, Brasil

## INTRODUÇÃO

A maritaca (*Psittacara leucophthalmus* Statius Muller, 1776), também conhecida como jandaia-maracanã, araguai, periquitão-maracanã, aratinga-debando, é uma ave da ordem Psittaciformes e família Psittacidae. Essas aves são comuns no ambiente urbano, com fácil adaptação às alterações antrópicas no ambiente (GRESPLAN, 2014).

As aves silvestres, dentre elas as maritacas, podem abrigar enterobactérias no trato gastrointestinal causando ou não sinais clínicos nas aves portadoras, sendo consideradas possíveis disseminadoras de agentes patogênicos para humanos e outros animais (DE CARVALHO, 2014; GRESPLAN, 2014; WANG, 2017).

As enterobactérias são um grupo de bactérias Gram-negativas que pertencem à família *Enterobacteriaceae*. Essas bactérias são amplamente distribuídas na natureza e podem causar uma variedade de enfermidades em seres vivos (MARIETTO et al., 2010).

A resistência aos antimicrobianos tornou-se uma preocupação significativa e um grande desafio enfrentado pelos profissionais da área da saúde, principalmente pelo uso descontrolado dos antibióticos, oferecendo sérias ameaças para a saúde pública pois alguns desses microrganismos podem ser patogênicos e, ainda, apresentar potencial zoonótico (LOUREIRO, 2016; RAHMAN et. al., 2020; SOARES, 2022). Além disso, a aproximação cada vez maior dos seres humanos com animais selvagens cria oportunidades para a transmissão interespecíficas de bactérias resistentes entre os organismos (ALLEN, 2010).

Ademais, estudos envolvendo a presença de enterobactérias em aves silvestres são, em sua maioria, realizados em animais mantidos sob cuidados humanos, e há pouca informação sobre animais silvestres de vida livre (SAVARIZ et. al., 2017; SILVEIRA, 2021).

Portanto, o objetivo desse estudo é identificar quais são os grupos de enterobactérias presentes no organismo das maritacas de vida livre da região metropolitana de Sorocaba e avaliar a resistência aos antibióticos mais utilizados na saúde humana e animal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material do presente estudo foi proveniente de 30 maritacas (*P. leucophthalmus*) de vida livre resgatadas e direcionadas ao Zoológico Municipal, sendo assim, não houve esforço de captura dos animais. Este projeto foi iniciado após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade, sob o protocolo número 211/2022. Os meios de cultura utilizados no estudo foram fabricados pela empresa KASVI.

Assim que as aves chegaram ao Zoológico, durante avaliação clínica dos indivíduos, os materiais biológicos foram coletados inserindo *swab* estéril da marca Biocon na cloaca de cada ave. Em seguida, o *swab* foi introduzido em um tubo de ensaio com tampa de rosca, contendo 5 ml de meio de cultura líquido Brain Heart Infusion (BHI) e incubado em estufa bacteriológica à temperatura de 37°C, por 24 a 48 horas. Após esse período,

o tubo de BHI que apresentou multiplicação bacteriana positiva (avaliado através da turbidez do meio de cultura líquido), foi semeado em placas de Petri contendo meio de cultura sólido seletivo, de Ágar Mac Conkey e Ágar Salmonella-Shigella.

Foram semeadas amostras de 30 maritacas, sendo que cada amostra foi semeada em um meio de Ágar Mac Conkey e um de Ágar Salmonella-Shigella, totalizando 60 placas (duas por ave). Após 24 a 48 horas em estufa bacteriológica à 37°C, foi realizado a coloração de Gram das colônias de enterobactérias que cresceram nas placas de Petri, para classificá-las em Gram-negativas ou Gram-positivas. Somente as enterobactérias que coraram para Gram-negativas foram, em seguida, submetidas aos testes bioquímicos do Enterokit B, fabricados pela empresa Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda. Esses testes são compostos por três meios de cultura sólido (MILi, EPM e Citrato de Simmons) que têm como função a identificação de enterobactérias, através de oito reações bioquímicas agrupadas em três conjuntos de provas. Após manter os tubos de ensaio do Enterokit B em estufa bacteriológica à 37°C de 24 a 48 horas, as reações bioquímicas foram avaliadas e, através de uma tabela sugerida pelo fabricante, foi possível identificar a espécie bacteriana presente.

Após identificação, as enterobactérias foram submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos pela técnica de disco-difusão, utilizando o produto Polisensidisc 15 Gram-Negativo [GN] BrCAST, da empresa DME (Diagnósticos Microbiológicos Especializados).

Para realizar os antibiogramas, o meio de cultura Mueller Hinton foi preparado, esterilizado e resfriado de acordo com as instruções do fabricante, e distribuído em placas de Petri de maneira a se obter uma superfície plana e uniforme com uma fina lâmina de 4 mm de espessura. Após essa etapa, o caldo bacteriano foi transferido aos tubos de BHI para os meios de Mueller Hinton e, em seguida, os discos dos antibióticos foram posicionados e as placas foram incubadas a 35°C a 37°C por 18 a 24 horas.

Cada disco de antibiograma apresenta 15 antibióticos. Os antibióticos, suas concentrações e as medidas a serem consideradas na leitura dos halos de inibição para cada antibiótico, estão descritos na Tabela 1. Em seguida, o crescimento das enterobactérias nos antibiogramas foi avaliado de forma a se medir os halos de inibição em milímetros de cada antibiótico, através de uma régua. Em seguida, a partir das orientações do fabricante, cada antibiótico foi descrito como sensível ou resistente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos meios de cultura que apresentaram multiplicação enterobacteriana positiva, foi isolado e identificado *Escherichia coli* em 16 aves (16/30, 53%), *Edwardsiella tarda* em três (3/30, 10%), *Serratia liquefaciens* em duas (2/30, 6%), *Citrobacter freundii* em duas (2/30, 6%), *Enterobacter cloacae* em uma (1/30, 3%) e *Serratia odorifera* também em apenas uma ave (1/30, 3%).

Em três aves (3/10, 10%) foram detectadas mais de uma enterobactéria. Foram encontradas *C. freundii* e *E.*

*cloacae* na amostra da ave 12, *E. coli* e *E. tarda* na amostra da ave 22 e *E. tarda* e *S. liquefaciens* na amostra da ave 28.

Nas amostras coletadas das aves foram encontrados altos níveis de resistência aos antimicrobianos testados, sendo o cloranfenicol o antibiótico em que houve

maior sensibilidade bacteriana e os antibióticos aztreonam, cefepime e ceftazidima não apresentaram eficácia para nenhuma das enterobactérias identificadas no estudo (Tabela 2).

**Tabela 1** - Antibióticos utilizados para a pesquisa com suas respectivas concentrações em microlitro (µl) e seus valores de referência para a medição dos halos de crescimento de *Enterobacterales* em milímetros (mm).

ANTIBACTERIANO	CONCENTRAÇÃO (µl)	RESISTENTE (mm)	SENSÍVEL (mm)
Amicacina	30	< 18	≥ 18
Amoxicilina/Ac. Clavulânico	20/10	<19	≥ 19
Ampicilina	10	<14	≥ 14
Aztreonam	30	< 21	≥ 26
Cefepime	30	<24	≥ 27
Cefoxitina	30	<19	≥ 19
Cefotaxima	05	<17	≥ 20
Ceftazidima	10	<19	≥ 22
Ceftriaxona	30	<22	≥ 25
Ciprofloxacina	05	<22	≥ 25
Cloranfenicol	30	<17	≥ 17
Gentamicina	10	<17	≥ 17
Meropenem	10	<16	≥ 22
Sulfazotrim	25	<11	≥ 14
Piperacilina/Tazobactam	30/6	<20	≥ 20

**Tabela 2** - Número de amostras das enterobactérias isoladas que apresentaram sensibilidade aos antibióticos.

ANTIBACTERIANO	<i>E. coli</i> (N=16)	<i>C. freundii</i> (N=2)	<i>E. cloacae</i> (N=1)	<i>S. liquefaciens</i> (N=2)	<i>S. odorifera</i> (N=1)	<i>E. tarda</i> (N=3)
Amicacina	1 (6,2%)	1 (50%)	1 (100%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
Amox./Ac. Clav.	3 (18,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ampicilina	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Cefotaxina	1 (6,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Cefoxitina	3 (18,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ceftriaxona	1 (6,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ciprofloxacina	2 (12,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Cloranfenicol	9 (56,2%)	1 (50%)	1 (100%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (66%)
Gentamicina	1 (6,2%)	1 (50%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Meropenem	3 (18,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Sulfazotrim	1 (6,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Piperac./Tazobac.	3 (18,7%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	1 (33%)
Aztreonam	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Cefepime	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ceftazidima	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Em um estudo realizado por Hidasi et al. (2013) com 300 papagaios capturados do comércio ilegal de animais silvestres em Goiás, foram isoladas nove bactérias. Entre elas, foram identificadas: *E. coli* (57,3%), *Enterobacter* spp. (51,0%), *Klebsiella* spp. (29,7%), *Citrobacter* spp. (19,7%), *Proteus vulgaris* (7,0%), *Providencia alcalifaciens* (1,67%), *Serratia* sp. (1,67%), *Hafnia aivei* (1,00%) e *Salmonella* sp. (0,33%). Assim como no presente estudo, a enterobactéria mais isolada foi a *E. coli*, a qual também apresentou multirresistência antimicrobiana em sua pesquisa após ser testada à amoxicilina, ampicilina, ciprofloxacina, cloranfenicol, doxiciclina, enrofloxacin, tetraciclina e sulfonamida.

Outro estudo, realizado por Lima et al. (2020), avaliou psitacédeos de zoológicos e criadouros comerciais do estado do Ceará e, de 134 swabs cloacais, foram

observadas enterobactérias em 117, sendo identificadas 14 espécies de bactérias. Dentre as espécies de bactérias isoladas, quatro delas também foram encontradas neste estudo: *E. coli* (73,1%), *E. cloacae* (7,5%), *C. freundii* (0,7%) e *S. liquefaciens* (0,7%). Corroborando com os resultados deste estudo, os autores observaram multirresistência em nove (5,7%) dos isolados, sendo observado uma maior prevalência em *E. coli* 7/9 (77,8%), apesar de ter utilizado outros antibacterianos.

Marietto-Gonçalves et al. (2010) também realizou um estudo com psitacédeos em fase de reabilitação para soltura no qual, de 89 aves analisadas, 19% estavam infectadas com *E. coli*. Embora os antibióticos utilizados pelos autores tenham sido distintos do atual estudo, constatou-se que, do total de amostras de *E. coli*, 41,2% (7/17) apresentaram multirresistência.

Trindade et al. (2017) investigou amostras de psitacídeos mantidos sob cuidados humanos no Parque das Aves em Toledo-PR, onde observou-se *E. coli* em 20% das 24 amostras analisadas, nas quais também notou-se a resistência à vários dos antibióticos testados. Corrêa et al. (2013), ao realizar um estudo com psitacídeos mantidos sob cuidados humanos, no qual avaliou 29 swabs, descreveu *E. coli* em 14 amostras.

Com base nos resultados obtidos nesse estudo e por outros pesquisadores, podemos observar que os psitacídeos podem albergar enterobactérias resistentes e/ou multirresistente aos antimicrobianos. Sendo assim, torna-se ainda mais relevante a preocupação com a patogenicidade dos microrganismos que essas aves podem portar já que, ao ter contato com animais infectados ou suas excreções, os seres humanos, animais domésticos e animais selvagens se tornam susceptíveis a serem contaminados por enterobactérias patogênicas (PUVAČA; FRUTOS, 2021; DOS SANTOS, 2022).

A relação próxima entre as aves e os seres humanos pode contribuir consideravelmente para o desenvolvimento e disseminação de resistência bacteriana, o que pode ter implicações significativas para o tratamento de infecções causadas por enterobactérias (TRINDADE; FIGUEIRA, 2017; SILVEIRA, 2021).

## CONCLUSÃO

A maioria das maritacas examinadas apresentou enterobactérias em seu trato gastrointestinal, sendo isoladas *E. tarda*, *S. liquefaciens*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *S. odorifera* e *E. coli*, sendo esta a mais frequente.

Os antibióticos aztreonam, cefepime e ceftazidima não apresentaram eficácia para nenhuma das enterobactérias identificadas na pesquisa. Além disso, as amostras de *E. coli* apresentaram multirresistência aos antibióticos testados.

O cloranfenicol foi o antibiótico em que apresentou maior sensibilidade bacteriana, sendo considerado o mais eficaz para as enterobactérias isoladas neste estudo.

Possivelmente as aves utilizadas para o estudo não estiveram em contato direto com antimicrobianos, pois são aves de vida livre e, ainda assim, foi observado que todas as bactérias encontradas possuíam resistência à pelo menos oito dos antibióticos testados.

Esses resultados demonstram que as opções medicamentosas para infecções por enterobactérias podem estar cada vez mais limitadas, indicando a necessidade de uma maior vigilância e controle no uso de medicamentos antimicrobianos.

## REFERÊNCIAS

ALLEN H. K.; DONATO J.; WANG H. H.; CLOUD-HANSEN K. A.; DAVIES J.; HANDELSMAN J. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. **Nature Reviews Microbiology**, v.8, n.4, p.251-259, 2010.

CORRÊA, I. M. D. O.; FLORES, F.; SCHNEIDERS, G. H.; PEREIRA, L. Q.; BRITO, B. G.; LOVATO, M. Detecção de fatores de virulência de *Escherichia coli* e

análise de *Salmonella* spp. em psitacídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.2, p.241-246, 2013.

DE CARVALHO, V. M. Colibacilose e Salmonelose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, v.2, p.1389-1399, 2014.

DOS SANTOS, M. T. X. Virulência extraintestinal e resistência a antimicrobianos em *Escherichia coli* isoladas de aves de criação e seus habitats – potencial risco para humanos?. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Biomedicina) – Universidade Federal Fluminense, Instituto Biomédico, Niterói, 60 p.2022

GRESPLAN, A.; RASO, T. de F. Psittaciformes (Araras, Papagaios, Periquitos, Calopsitas e Cacatuas). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, v.1.2, p.550-590, 2014.

HIDASI, H. W.; NETO, J. H.; MORAES, D. M. C.; LINHARES, G. F. C.; JAYME V. S.; ANDRADE, M. A. Enterobacterial detection and *Escherichia coli* antimicrobial resistance in parrots seized from the illegal wildlife trade. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.44, n.1, p.1-7, 2013.

LIMA, B. P. Isolamento, tipificação e perfil de sensibilidade de enterobactérias oriundas de psitacídeos de zoológicos e criadouros comerciais do estado do Ceará, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 74 p.2020.

LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: Breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v.34, n.1, p.77-84, 2016.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; ALMEIDA, S. M.; LIMA, E. T. Detecção de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em microbiota intestinal de Psittaciformes em fase de reabilitação para soltura. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.7, n.3, p.185-189, 2010.

MATIAS, C. A. R.; PEREIRA, I. A.; REIS, E. M. F. D.; RODRIGUES, D. D. P.; SICILIANO, S. Frequency of zoonotic bacteria among illegally traded wild birds in Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.47, n.4, p.882-888, 2016.

PUVAČA, N.; FRUTOS, R. de L. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from humans and pet animals. **Antibiotics**. v.10, n.1, p.69, 2021.

RAHMAN, T.; SOBUR, A.; ISLAM, S.; LEVY, S.; HOSSAIN, J.; EL-ZOWALATY, M. E.; RAHMAN, A. N. M. T.; ASHOUR, H. M. Zoonotic diseases: etiology, impact, and control. **Microorganisms**, v.8, n.9, p.1-34, 2020.

SAVARIZ, A.; D'AGOSTINI, F. M.; DEGENHARDT, R. Presença de *Salmonella* spp. em aves silvestres: revisão de literatura. **Seminário de Iniciação Científica e Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 2017. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/siepe/article/view/14814>. Acesso em: 15 fev. 2023.

SILVEIRA, D. R. Bactérias relevantes em saúde única isoladas de animais silvestres e domésticos: similaridade molecular e resistência a antimicrobianos. 2021. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 115p., 2021.

SOARES, M. T.; NAKAZATO, G.; KOBAYASHI, R. K. T.; ZANUTTO, M. de S. *Escherichia coli* em cães e gatos e seu potencial zoonótico – Revisão. **Clínica Veterinária**, v.27, n.156, p.32-43, 2022.

TEIXEIRA, R. H. F. Ocorrência de circovírus, enterobactérias e endoparasitos em psitacídeos exóticos. 2019. Tese (Doutorado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 81 p.2019.

TRINDADE, L. C.; FIGUEIRA, P. T. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana e produção de hemolisina de enterobactérias de psitacídeos de cativeiro. **Pubvet**, v.12, n. 3, p. 30, 2017.

WANG, J.; MA, Z. B.; ZENG, Z. L.; YANG, X. W.; HUANG, Y; LIU, J. H. The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes. **Zoological Research**, v.38, n.2, p.55, 2017.