

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MARIANA COMASSIO CHUEIRI

**IDENTIFICAÇÃO DE *Salmonella* spp. E *Campylobacter* spp. EM MAMÍFEROS E
TRATADORES DO ZOOLOGICO MUNICIPAL DE UBERLÂNDIA**

UBERLÂNDIA – MG

2022

MARIANA COMASSIO CHUEIRI

**IDENTIFICAÇÃO DE *Salmonella* spp. E *Campylobacter* spp. EM MAMÍFEROS E
TRATADORES DO ZOOLOGICO MUNICIPAL DE UBERLÂNDIA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Área de Concentração: Medicina Veterinária

Orientadora: Profa. Dra. Roberta Torres de Melo

UBERLÂNDIA – MG

2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por me guiar e amparar em todos os momentos dessa minha jornada.

À minha família, meus pais Vanda e Michel, minha irmã Laura e meu irmão Gustavo que me apoiaram em todos os passos que dei, com todo o carinho e amor que me fez crescer e ser quem eu sou hoje.

À minha orientadora, Profa. Dra. Roberta Torres de Melo, por todos os ensinamentos, pela paciência de me orientar e por sempre me incentivar a melhorar.

Aos amigos que a graduação me proporcionou, agradeço imensamente todo o suporte, aprendizado e por passarem comigo pelos bons e maus momentos com leveza e muita risada. Esses 5 anos ao lado de vocês me trouxe um crescimento pessoal e profissional e sei que vou levar a amizade de vocês para a vida.

Aos amigos que fiz no LABIO, pelos ensinamentos, pela ajuda durante toda a pesquisa e por todas as risadas, carinho e compreensão mesmo nos momentos difíceis.

Aos funcionários do Zoológico Municipal de Uberlândia que aceitaram participar da pesquisa e por todo o suporte na realização das coletas e principalmente, às médicas veterinárias por toda a ajuda.

À professora Daise e a pós-graduanda Rosanne por aceitarem o convite para compor a banca avaliadora.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

A Saúde Única é a integração da saúde animal, humana e ambiental, a fim de obter uma melhor resposta na prevenção e controle de problemas de âmbito universal, tais como as doenças zoonóticas e a resistência antimicrobiana. As bactérias dos gêneros *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. são zoonóticas e podem causar enfermidade gastrointestinal a humanos e animais, de maneira que uma das formas de transmissão ocorre pela via oral-fecal direta ou mediante a ingestão do micro-organismo, principalmente por água e/ou alimento contaminado. O contato de humanos com reservatórios, como mamíferos dos zoológicos e seus tratadores, pode constituir uma forma de transmissão desses patógenos. Tanto a salmonelose quanto a campilobacteriose apresentam caráter autolimitante, mas em alguns casos o tratamento antimicrobiano é recomendado, porém o aumento da resistência bacteriana gera uma preocupação constante para a saúde pública. Portanto, torna-se relevante a realização da avaliação epidemiológica desses patógenos na cadeia animal-humano-animal. Assim, o estudo visou identificar a presença de *Salmonella* e *Campylobacter* em amostras de fezes dos mamíferos do Zoológico Municipal de Uberlândia e de seus respectivos tratadores, determinar o caráter sazonal e avaliar o perfil de resistência das cepas isoladas. Ao todo foram coletadas 120 amostras que foram submetidas aos testes de identificação fenotípica, por meio do isolamento bacteriano com meios específicos para cada micro-organismo. Posteriormente, a confirmação foi realizada pela identificação genotípica, por PCR convencional, seguido da realização do teste de concentração inibitória mínima (CIM) para seis classes de antimicrobianos para ambos os gêneros. A confirmação permitiu a identificação de 13/120 (10,8%) cepas de *Salmonella* spp. e 2/120 (1,7%) de *Campylobacter* spp., todos de animais e humanos assintomáticos, o que mostra o possível *status* de reservatórios/portadores, sem influência sazonal na prevalência ($p > 0,05$). A análise dos sorovares de três cepas de *Salmonella* spp. de animais classificou-as como *Salmonella enterica* não pertencente à subsespécie *enterica*, sendo os animais silvestres e exóticos reservatórios desses micro-organismo. As drogas menos efetivas para o controle de *Salmonella* foram ampicilina e sulfonamida ($p < 0,05$) com todas as cepas resistentes e a mais efetiva foi ciprofloxacina com 100% das cepas susceptíveis ($p < 0,05$). As duas cepas de *Campylobacter* spp. também apresentaram resistência a ampicilina e sulfonamida, e susceptibilidade a ciprofloxacina, sendo a cepa animal multirresistente (MR) e a cepa de humano co-resistente. Em *Salmonella*, a MR esteve presente em 92,3% (12/13) das cepas. Cabe destacar a importância do controle do uso indiscriminado de

antimicrobianos nas práticas veterinárias em zoológicos, aliada a adoção de métodos mais efetivos de higiene no sentido de reduzir os riscos de transmissão desses patógenos.

Palavras-chaves: Campilobacteriose, Salmonelose, Saúde Única, Saúde Pública, Silvestre.

ABSTRACT

One Health is the integration of animal, human and environmental health in order to obtain a better response in the prevention and control of problems of universal scope, such as zoonotic diseases and antimicrobial resistance. The bacteria of the genera *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. are zoonoses that can cause gastrointestinal disease to humans and animals, so that one form of transmission occurs by oral-fecal direct or by ingestion of the microorganism, mainly by water and/or contaminated food. The contact of humans with reservoirs, such as zoo mammals and their handlers, can constitute a form of transmission of these pathogens. Both salmonellosis and campylobacteriosis are self-limiting, but in some cases antimicrobial treatment is recommended, although the increase in bacterial resistance generates a constant concern for public health. Therefore, it is relevant to perform the epidemiological evaluation of the possible transmission of these animal-human-animal pathogens. Thus, the study aimed to identify the presence of *Salmonella* and *Campylobacter* in fecal samples of mammals of the Municipal Zoo of Uberlândia and their respective handlers, determine the seasonal character and evaluate the resistance profile of isolated strains. A total of 120 samples were collected from which the phenotypic identification tests were performed, by means of bacterial isolation with specific means for each microorganism. Subsequently, confirmation was performed by genotypic identification, by conventional PCR, followed by the minimum inhibitory concentration test (MIC) for six classes of antimicrobials for both genders. The confirmation allowed the identification of 13/120 (10.8%) strains of *Salmonella* spp. and 2/120 (1.7%) *Campylobacter* spp. all animals and asymptomatic humans, which shows the possible status of reservoirs/carriers, without seasonal influence on prevalence ($p > 0.05$). The analysis of the serovars of the three strains of *Salmonella* spp. animals classified as *Salmonella* enterica not belonging to the subspecies enterica, wild and exotic animals being reservoirs of these microorganisms. The least effective drugs for the control of *Salmonella* were ampicillin and sulfonamide ($p < 0.05$) with all resistant strains and the most effective was ciprofloxacin with 100% of susceptible strains ($p < 0.05$). The two strains of *Campylobacter* spp. showed resistance to ampicillin and sulfonamide, as well as susceptibility to ciprofloxacin, being the multi-resistant animal strain (MR) and the human strain co-resistant. In *Salmonella*, MR was present in 92.3% (12/13) of the strains. It is important to highlight the importance of controlling the indiscriminate use of antimicrobials in veterinary practices in zoos, combined with the adoption

of more effective methods of hygiene in order to reduce the risks of transmission of these pathogens.

Keywords: Campilobacteriosis, Salmonellosis, One Health, Public Health, Wild Animals.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Relação entre a quantidade de recintos para cada espécie e a quantidade de animais em cada recinto.	25
TABELA 2. Sequências, tamanho das bandas e temperatura de anelamento dos <i>primers</i> utilizados para identificação de <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i>	29
TABELA 3. Prevalência de animais e tratadores positivos para <i>Salmonella</i> spp. e <i>Campylobacter</i> spp., de acordo com cada estação do ano.	33
TABELA 4. Distribuição da CIM das 15 cepas de <i>Samonella</i> spp. e <i>Campylobacter</i> isoladas de animais e tratadores do Zoológico Municipal de Uberlândia.	35
TABELA 5. Perfis de resistência identificados nas 15 cepas de <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i> isoladas de animais do zoológico e seus tratadores.	36

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Gel de eletroforese das amostras de *Salmonella* spp. confirmadas pelo gene *ompC*. M: marcador de peso molecular, C+: Controle positivo de *Salmonella*, 01-06 cepas isoladas no presente estudo oriundas de animais. 32
- FIGURA 2.** Imagem visualizada pela leitura do kit Check&Trace *Salmonella* (Check-Points B.V.). Pontos pretos indicam presença dos produtos hibridizados das sondas ligante, que permitem a análise e identificação dos sorotipos. 34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 Geral	13
2.2 Específicos	13
3 JUSTIFICATIVA	14
4 REVISÃO DE LITERATURA	14
4.1 O gênero Salmonella	14
4.2 O gênero Campylobacter	15
4.3 Resistência antimicrobiana em <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i>	17
4.4 Aspectos epidemiológicos de <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i> em mamíferos de zoológico 21	
4.5 Importância da <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i> na Saúde Pública	22
5 MATERIAL E MÉTODOS	25
5.1 Desenho do estudo	25
5.2 Coletas	25
5.3 Identificação fenotípica dos patógenos	27
5.3 Identificação genotípica dos patógenos	28
5.4 Concentração Mínima Inibitória (CIM)	30
5.5 Análise estatística	31
6 RESULTADOS	31

6.1 Prevalência de <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i>	31
6.2 Resistência antimicrobiana nos isolados	34
7 DISCUSSÃO	37
7.1 Frequência de <i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i>	37
7.2 Multirresistência antimicrobiana nos isolados	41
8 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A Saúde Única compreende o equilíbrio entre a saúde humana, animal e ambiental. A desestruturação de algum desses pilares gera consequências que afetam direta ou indiretamente as três esferas. Dessa forma, a atenção no sentido holístico da saúde única contribui, entre outros, para a diminuição das doenças zoonóticas e dos problemas relacionados à resistência antimicrobiana (CDC, 2022; WHO, 2022a). Estima-se que 60% das doenças humanas causadas por patógenos tem origem zoonótica, ou seja, possuem transmissão natural entre humanos e animais vertebrados (OIE, 2021; WHO, 2022b).

Dentre as zoonoses de importância na saúde única, a salmonelose e campilobacteriose compõem as principais enfermidades bacterianas causadoras de doenças gastrointestinais em humanos. A transmissão desses micro-organismos é por via oral e a ingestão do alimento de origem animal contaminado com material fecal consiste a principal forma na maioria das infecções por esses patógenos (CHLEBICZ; ŚLIŹEWSKA, 2018; FACCIOLÀ et al., 2017). Em países desenvolvidos ambas as bactérias representam a principal causa de doença transmitida por alimentos (EFSA, 2021; TACK et al., 2019). No Brasil, a segunda bactéria que mais causou enfermidades do trato intestinal entre 2010 e 2018 no Brasil foi *Salmonella* spp., já *Campylobacter* spp. não entrou nessa lista, devido as dificuldades de diagnóstico desse patógeno, a qual demanda equipes e laboratórios habilitados para a realização das análises, além da falta de infraestrutura (BRASIL, 2018; HANSSON et al., 2018).

Os animais também são acometidos pelas bactérias dos gêneros *Salmonella* e *Campylobacter*, as quais podem causar doenças gastrointestinais e alguns casos podem até levar a óbito, mas a maioria se comporta como reservatórios de linhagens de importância em saúde pública (DE WITTE et al., 2018; NAKAMURA et al., 2017; THÉPAULT et al., 2020). Por ser agentes zoonóticos, a transmissão desses micro-organismos presentes nas fezes dos animais para seres humanos também é uma preocupação para a saúde pública. Essa infecção pode ocorrer devido o contato com *pets*, animais de produção e os mamíferos de zoológico (DE WITTE et al., 2018; KAGAMBÈGA et al., 2013; KEEBLE; KOTERWAS, 2020).

A resistência antimicrobiana desses patógenos representam outra preocupação para a Saúde Única, em virtude da dificuldade no tratamento das enfermidades apresentadas de forma mais grave (CDC, 2022; KAGAMBÈGA et al., 2013). O uso indiscriminado de antibióticos

para controle e prevenção de doenças é uma das principais causas de resistência bacteriana aos antimicrobianos (CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2020). Animais em cativeiro, como o plantel do zoológico, possui contato constante com antimicrobianos, por meio dos tratamentos veterinários. Por esse motivo, alguns relatos expõem a resistência das bactérias do gênero *Salmonella* e *Campylobacter* a alguns antimicrobianos (CLYDE; RAMSAY; BEMIS, 1997; MCWHORTER et al., 2021; OLKKOLA et al., 2016; SILVA-HIDALGO et al., 2014).

A identificação de *Salmonella* e *Campylobacter* nos mamíferos do zoológico é importante para a saúde pública, a fim de conhecer a circulação desses patógenos entre os diferentes hospedeiros. Ademais, a caracterização do perfil de resistência a antimicrobianos é essencial para determinar medidas mais restritivas quanto ao uso e no protocolo de tratamento do plantel do zoológico.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificar a presença e o perfil de resistência antimicrobiana de *Salmonella* e *Campylobacter* em amostras de fezes de animais, tratadores e médicos veterinários do Zoológico Municipal de Uberlândia.

2.2 Específicos

a) Coletar amostras de fezes de animais e humanos ao longo de um período de um ano a fim de avaliar a presença de *Salmonella* e *Campylobacter* no plantel de mamíferos silvestres e em funcionários do Zoológico Municipal de Uberlândia;

b) Determinar o efeito sazonal quanto à prevalência dessas bactérias;

c) Confirmar a positividade de ambos os gêneros por métodos fenotípicos e genotípicos;

d) Determinar o perfil de resistência antimicrobiana das bactérias isoladas pelo método de CIM realizada com os antibióticos usados na rotina e os de importância na saúde pública.

e) Comparar os perfis de resistência das cepas isoladas de humanos e animais por método estatístico.

3 JUSTIFICATIVA

Campilobacteriose e salmonelose são zoonoses de extrema importância para a saúde pública, por acometer humanos e animais de diversos países e causar vários prejuízos. Esses micro-organismos podem estar presentes nas fezes dos animais e dos seres humanos, e sua transmissão pode ocorrer pela via fecal-oral e ser determinante da ocorrência de quadros gastrointestinais que variam em sua gravidade especialmente para humanos. Diante disso, é importante realizar a investigação desses patógenos em locais onde há contato direto entre humanos e animais, como os zoológicos. A pesquisa desses patógenos em mamíferos silvestres do Zoológico Municipal de Uberlândia assim como de seus tratadores aliada à investigação do perfil de resistência antimicrobiana permitiu conhecer melhor os riscos relacionados e poderá contribuir na elaboração de estratégias de controle e prevenção a ser adotadas no zoológico.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 O gênero *Salmonella*

As bactérias do gênero *Salmonella* são pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. Esse gênero é dividido em duas espécies *S. bongori* e *S. enterica*, a última possui seis subespécies *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (PEARCE et al., 2020). A *S. enterica* subespécie *enterica* pode ser dividida em tifoide, o qual compreende cepas causadoras de doença septicêmica e não tifoide que são os patógenos que mais causam doenças gastrointestinais em seres humanos e animais vertebrados e está relacionada a contaminação de alimentos de origem animal, como a carne e o ovo (KADHIM, 2020). Além disso, existe a

subdivisão em sorovares, os quais constituem na variação do antígeno H (flagelar), do antígeno O e do antígeno Vi (capsular), um exemplo de sorovar causador de enfermidade gastrointestinal em humanos e animais é *S. Typhimurium* (CRISCUOLO et al., 2019; HARAGA; OHLSON; MILLER, 2008).

O gênero compreende bacilos Gram negativos, não esporuladas, aeróbico ou anaeróbico facultativo e a maioria dos sorovares são móveis por possuírem flagelo peritríquio. Possui tamanho entre 2 e 3µm, é intracelular facultativo, além de conseguir se reproduzir no ambiente a uma temperatura entre 8 e 45°C e pH entre 4 e 9,5. Porém, a 70°C bactérias do gênero *Salmonella* não sobrevivem, por esse motivo recomenda-se cozinhar bem os alimentos de origem animal (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018; JAJERE, 2019; KADHIM, 2020).

S. enterica compreende mais de 2600 sorovares descritos, os quais apresentam maior preocupação para a saúde pública e a indústria de alimentos (CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019). A transmissão desse patógeno ocorre por via fecal-oral, principalmente pela contaminação de alimentos e água e ao infectar humanos e animais pode causar sinais clínicos de doença gastrointestinal, como diarreia, vômito e dor abdominal com caráter autolimitante na maioria dos casos. (HARAGA; OHLSON; MILLER, 2008; KADHIM, 2020; MCDERMOTT; ZHAO; TATE, 2018). Quadros sistêmicos podem ser identificados nos grupos de risco que incluem imunocomprometidos e crianças (WEN; BEST; NOURSE, 2017; YIN; ZHOU, 2018).

O tratamento da infecção por *Salmonella* spp. é feito com antibióticos, os casos leves e moderados não necessitam de tratamento, porém os casos graves e a salmonelose em pessoas imunocomprometidas devem ser tratados (BRASIL, 2021). Para as formas graves da doença, os antibióticos de escolha para realizar o tratamento são as fluoquinolonas (CUYPERS et al., 2018).

4.2 O gênero *Campylobacter*

Os micro-organismos do gênero *Campylobacter* são pertencentes a família *Campylobacteriaceae*. Esse gênero é composto por 39 espécies e 16 subespécies, algumas das espécies de maior importância por causarem doenças em humanos e animais são *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. curvus* e *C. fetus*, a última é considerada não termotolerante, enquanto as outras espécies são termotolerantes (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018; KRELING et al., 2020). As

duas espécies que mais causam a campilobacteriose em humanos e animais são *C. jejuni* (mais de 80% dos casos da doença) e *C. coli* que inclui cerca de 10% dos casos notificados a nível mundial. A espécie *C. jejuni* comporta as subespécies *jejuni* e *doylei*, sendo a primeira de maior importância para a saúde pública, a saúde animal e a indústria de alimentos (AMMAR et al., 2020; BEN ROMDHANE; MERLE, 2021).

Campylobacter spp. é uma bactéria Gram negativa, não esporulada, de formato espiralado ou curvo, delgada e móvel, a maioria das espécies possuem flagelo em uma ou nas duas extremidades. São patógenos pequenos, o tamanho varia de 0,2 e 0,9 $\mu\text{m} \times 0,2$ e 5 μm , se reproduzem em microaerofilia, 10% CO_2 e 5% O_2 , na temperatura de 40 a 42°C e pH entre 5,5 e 8 (CHLEBICZ; ŚLIŹEWSKA, 2018; KRELING et al., 2020). Para se proteger, as espécies de *Campylobacter* tem a capacidade de mudar sua forma para cocoide e entrar no estado viável, mas não cultivável (VNC), esse mecanismo de defesa ocorre quando há mudança de pH, temperatura, nutrientes e dessecação do ambiente, assim, tem diminuição do metabolismo do micro-organismo e o patógeno consegue suportar as dificuldades ambientais encontradas (KIM et al., 2021; KRELING et al., 2020).

A transmissão da campilobacteriose é de forma fecal-oral, pela ingestão de alimento ou água contaminada. A infecção causada pela *Campylobacter* spp. pode ser autolimitante ou sintomática, os quais são sinais de doença gastrointestinais, como vômito, diarreia e dor abdominal (CASEY; FITZGERALD; LUCEY, 2017). Em pessoas imunocomprometidas, a infecção por esse patógeno pode ser mais grave e determinar a necessidade de antibioticoterapia. O desenvolvimento de doença auto-imune é possível em alguns casos e inclui a síndrome de Guillian-Barré. O patógeno mimetiza em sua membrana externa, lipopolissacarídeos similares aos presentes nos axônios das fibras motoras, dessa forma, o organismo do hospedeiro produz anticorpos (IgG) contra essas estruturas, desenvolvendo assim a resposta auto-imune do organismo contra os nervos que determina um quadro de paralisia ascendente que pode levar ao óbito pela dificuldade respiratória causada pela paralisia do diafragma (KIM et al., 2021; KOIKE; CHIBA; KATSUNO, 2021).

O tratamento da doença causada pela *Campylobacter* spp. normalmente não é feito com antibiótico, por se tratar de casos leves a moderados da doença, mas os casos graves são necessários utilizar antimicrobianos para conter a infecção. As drogas de escolha são os macrolídeos, principalmente a eritromicina e fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina (SPROSTON; WIMALARATHNA; SHEPPARD, 2018; YANG et al., 2019).

4.3 Resistência antimicrobiana em *Salmonella* e *Campylobacter*

A resistência antimicrobiana é um problema mundial, atual e de importância para a Saúde Única (CDC, 2022). O tratamento das infecções graves por *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. é realizado pela antibioticoterapia, porém, com o uso excessivo de antimicrobianos na produção animal e na saúde humana nos últimos anos houve aumento da resistência dessas bactérias a uma diversidade de classes de antimicrobianos (MCDERMOTT; ZHAO; TATE, 2018; SHEN et al., 2018). Pela lista de antibióticos de importância crítica para a medicina humana publicada pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2018), alguns antibióticos foram relatados como prioritários em virtude do desenvolvimento de linhagens de *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. resistentes, como as fluoquinolonas e os macrolídeos, respectivamente. Além desses, as classes das penicilinas, tetraciclina, sulfonamidas e beta-lactâmicos também apresentam sua importância destacada na literatura quanto ao desenvolvimento da resistência por bactérias pertencentes a ambos os gêneros.

A ampicilina é um antibiótico semi-sintético da penicilina, da classe dos beta-lactâmicos e amplamente utilizado para tratamento de infecções por *Enterobacteriaceae*. A resistência da *Salmonella* não tifoide à ampicilina ocorre há muitos anos. Estudo histórico, realizado com cepas isoladas de humanos, animais, ração e alimento, entre 1911 e 1969, encontrou 4% de resistência a ampicilina (TRAN-DIEN et al., 2018). Já García et al. (2019) analisaram a resistência a ampicilina em isolados de *Salmonella* de pacientes humanos no período de 2008 a 2014, em Asturias e 6,1% mostraram resistência. Contudo, Borah et al. (2022) identificaram 45,45% de resistência a ampicilina em cepas isoladas de humanos e animais de diferentes espécies. Em animais de zoológico, cepas de *Salmonella* resistentes a ampicilina já foram identificadas por SILVA-HIDALGO et al. (2014) que encontraram 74,6% de resistência a ampicilina em diversos sorotipos de *Salmonella* isolados de diferentes espécies de animais selvagens de cativeiro. Em Ohio, cepas isoladas de mamíferos selvagens apresentaram 8,8% de resistência a ampicilina (FARIAS et al., 2015).

A resistência a ampicilina não é restrita somente a *Salmonella* spp., cepas de *Campylobacter* spp. também já foram identificadas com essa resistência. *C. jejuni* isoladas de fezes humanas na Austrália, apresentaram 15,4% de resistência a ampicilina (DEVI et al.,

2019). Além disso, na Índia, amostras de fezes coletadas do ceco de frangos, de carne de frango e de ambiente do matadouro apresentaram 46,6% de resistência a ampicilina (SUMAN KUMAR et al., 2021). A presença de *C. jejuni* e *C. coli* isoladas de primatas não humanos de vida livre em Sri Lanka apresentou resistência a ampicilina, das dez cepas de *C. jejuni*, duas apresentaram resistência, enquanto todas as quatro cepas isoladas de *C. coli* foram identificadas como resistentes a esse antimicrobiano (TEGNER et al., 2019). Ainda, cepas isoladas de *C. jejuni* coletadas de aves aquáticas de zoológico de Ohio, mostraram 21,7% de resistência a ampicilina/sulbactam (FALLACARA et al., 2004).

As cefalosporinas são antibióticos da classe dos beta-lactâmicos de amplo espectro que são utilizados para tratamento de Gram-negativas e Gram-positivas. São classificadas em cinco gerações e a diferença entre cada uma se refere à data da descoberta e às suas propriedades, como a amplitude de espectro que o antibiótico apresenta, sendo que a primeira geração apresenta espectro menor que a quinta geração (DAS et al., 2019).

A ceftriaxona é uma cefalosporina de terceira geração, usada no tratamento de *Salmonella* não tifoide (LUVSANSCHARAV et al., 2020). É considerado o tratamento de escolha para os casos de salmonelose sistêmica, além disso, é usado no tratamento empírico de crianças acometidas pela doença (CHEN; WAI CHI CHAN; CHEN, 2019; SHI et al., 2021). Nos EUA, foi identificado entre 1996 e 2013, 2,9% de cepas isoladas de *Salmonella* apresentando resistência a ceftriaxona, o estudo também ressalta o aumento abrupto de resistência a esse antimicrobiano em amostras humanas, já que em 1996 a porcentagem era de 0,2% e passou para 2,5% (IWAMOTO et al., 2017). Além disso, uma revisão de literatura realizada na Etiópia com trabalhos entre os anos de 2010 e 2020, de origem humana e de alimentos de origem animal, indicou que 12,2% das amostras apresentavam resistência a ceftriaxona (ABATE; ASSEFA, 2021).

Já a cefalexina é uma cefalosporina de primeira geração, amplamente usada no tratamento de infecções por *Campylobacter* (NGUYEN; GRABER, 2020). Estudo realizado entre 2015 e 2016, na Itália, em amostras de fezes por swab cloacal de frango, avaliou a presença de *Campylobacter* spp. e sua resistência a antimicrobianos. Para cefalexina, foi identificado 100% de resistência em *C. coli* e *C. jejuni* (CASAGRANDE PROIETTI et al., 2020). Em Gana, a resistência a cefalexina para *Campylobacter* spp. foi de 81%, 91%, 72% e 86% em amostras de fezes e carcaça de bovinos, ovinos, caprinos e suínos, respectivamente (KARIKARI et al., 2017).

A tetraciclina é um antibiótico de amplo espectro usado para tratar infecções por bactérias Gram positivas e Gram negativas (GARGANO et al., 2021a). Esse antibiótico pode ser usado no tratamento de infecções por *Salmonella* spp., apesar do frequente perfil de resistência nesse gênero (MCDERMOTT; ZHAO; TATE, 2018). Uma cepa de *S. Typhimurium* isolada de reptéis de plantel de zoológico na Austrália apresentou resistência a tetraciclina (MCWHORTER et al., 2021). Em mamíferos selvagens que vivem em cativeiro em Ohio foi identificado 11,8% de resistência das cepas de *Salmonella* spp. isoladas a esse antimicrobiano (FARIAS et al., 2015). Na África do Sul, foi identificado 63% de resistência a tetraciclina em isolados de *Salmonella* de fezes de aves, bovinos, suínos, caprinos e ovinos (MTHEMBU; ZISHIRI; EL ZOWALATY, 2019). Enquanto, em *Salmonella* oriundas de fezes de aves, de bezerros e de humanos que possuem contato com animais de produção, durante 2015 e 2016, na província de Beni Suef, no Egito, os autores observaram 100% de resistência a tetraciclina (ABDEL AZIZ et al., 2018).

Para *Campylobacter* spp., a resistência a tetraciclina também já foi descrita na literatura (SHEN et al., 2018). Na Espanha, cepas de bovinos e ovinos apresentaram 82,4% de resistência a esse antimicrobiano (ESPUNYES et al., 2021). A resistência de 56,1% foi identificada de linhagens de *C. jejuni* isoladas no período de 2011 a 2014, de pacientes humanos de quatro hospitais de Detroit, nos EUA (RODRIGUES et al., 2021). Em amostras de fezes de peru e frango a resistência à essa classe foi de, respectivamente, 58,1% e 78,6% em *Campylobacter* spp. (WOŹNIAK-BIEL et al., 2018). Olkkola et al. (2016) identificaram resistência a tetraciclina em 26 cepas de *Campylobacter* spp. isoladas de pacientes humanos, água natural, bovinos, frangos, pássaros selvagens e animais de zoológico.

A sulfonamida também é considerado um antimicrobiano de amplo espectro que inibe o crescimento bacteriano de Gram positivas e Gram negativas (PAVELQUESI et al., 2021). Em fazendas de frango de corte na Nigéria foi encontrado 65% de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a essa classe (JIBRIL et al., 2021). Na Itália, foi identificado 75,86% de resistência a sulfonamida em *Salmonella* spp. isoladas de fezes de suínos e órgão de animais saudáveis, coletados em frigorífico (NGUYEN THI et al., 2020). Ferreira et al. (2021), avaliaram a presença e resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp. em carne de tilápias comercializadas no Distrito Federal, no Brasil, e identificaram 57,9% de resistência a sulfonamida.

Cinco cepas de *Campylobacter jejuni* resistentes a sulfonamida foram encontradas por Gibreel e Sköld (1999). Em outro estudo na Suíça, com amostras swabs cloacais de frangos, os

autores identificaram 15 (55%) de 27 cepas de *Campylobacter* spp. resistente à sulfonamida (WITTEWER et al., 2005). Já na Etiópia, 29% das cepas isoladas de carne de bovino, frango e cabra apresentaram resistência a sulfametoxazole com trimetoprim (HAGOS et al., 2021). Na Irlanda, 62,3% das cepas isoladas de *Campylobacter* spp. de humanos e animais apresentaram resistência a sulfonamida (LUCEY et al., 2000).

O antibiótico ciprofloxacina é uma fluoroquinolona de grande importância para a saúde pública, por ser usada como tratamento de escolha para diversas infecções, que inclui salmonelose (ZLAMAL et al., 2021). É um antimicrobiano de amplo espectro que pode ser usado para o combate de patógenos Gram-positivos e Gram-negativos (SHEN et al., 2018). Chang et al. (2021) isolaram 127 cepas de *Salmonella* de carne suína de um frigorífico entre 2013 e 2014 e identificaram 65 amostras resistentes a ciprofloxacina. Na Nigéria, 46% das cepas isoladas de amostras de frango apresentaram resistência a ciprofloxacina (JIBRIL et al., 2021). Na China, *S. Kentucky* isolada entre 2010 e 2016 de pacientes humanos e da cadeia produtiva de fornecimento de frango de corte apresentaram 60,3% de resistência a ciprofloxacina (XIONG et al., 2020).

As fluoroquinolonas são um dos antibióticos de escolha também para o tratamento da campilobacteriose em humanos e a resistência a esse antimicrobiano é de grande importância para a saúde pública (SHEN et al., 2018). Duas amostras isoladas de fezes de cães de seis abrigo diferentes no Texas apresentaram resistência a ciprofloxacina (LALONDE-PAUL et al., 2019). Além disso, cepas isoladas de amostras de fezes de aves aquáticas do Zoológico Columbus, em Ohio, entre 1998 e 1999, apresentaram 2,4% de resistência a ciprofloxacina (FALLACARA et al., 2004). Já em amostras de humanos apresentando doença gastrointestinal aguda, na Turquia, foi identificado 74,3% de cepas com resistência a esse antibiótico (KAYMAN et al., 2019).

A azitromicina é um antimicrobiano da classe dos macrolídeos usado no tratamento alternativo de *Salmonella* spp., a resistência de cepas dessa bactéria a macrolídeos já foi descrita na literatura. 28,6% de *S. Albany* isolada entre 2017 e 2018, em Taiwan, de humanos e animais, apresentaram resistência a azitromicina (HONG et al., 2021). Amostras de *Salmonella* isoladas de crianças com doença gastrointestinal aguda, na Índia, entre 2000 e 2016, mostraram resistência de 25% a azitromicina (JAIN et al., 2020). Além disso, 5,7% de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a azitromicina foram isoladas de pacientes diarreicos, na China, entre 2014 e 2017 (ZENG et al., 2021).

Outro macrolídeo usado no tratamento de doenças bacterianas, é a eritromicina. Esse antibiótico é amplamente utilizado no tratamento da campilobacteriose (SHEN et al., 2018). Segundo Fallacara et al. (2004), 99,5% das cepas isoladas de *Campylobacter* de aves aquáticas proveniente de zoológico de Ohio apresentaram resistência a eritromicina. Amostras isoladas de crianças com doença gastrointestinal, no Iran, apresentaram 68,8% de resistência a eritromicina (ABBASI; VAN BELKUM; GHAZNAVI-RAD, 2019). Além disso, foi identificado resistência a esse antibiótico em cepas de *Campylobacter* spp. isoladas de carne de frango e de pacientes que apresentam diarreia, como sinal clínico de doença gastrointestinal, na China (DU et al., 2018).

4.4 Aspectos epidemiológicos de *Salmonella* e *Campylobacter* em mamíferos de zoológico

As bactérias *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. estão presentes no intestino dos humanos e animais, como reptéis, aves e mamíferos (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018; FACCIOLÀ et al., 2017; YON et al., 2019). Esses animais podem ser de vida livre ou viverem em cativeiro, como nos zoológicos, além disso, o maior contato com os humanos pode alterar a microbiota intestinal desses animais, o que provoca um aumento das bactérias Gram negativas, um exemplo é a *Salmonella* spp. (CUNHA et al., 2016).

Ao infectar os mamíferos, a *Salmonella* spp. pode ou não causar doença com sinais clínicos gastrointestinais e em alguns casos pode progredir ao óbito do animal (MARCHANT et al., 2016; NAKAMURA et al., 2017; SCHARLING et al., 2021). Para os mamíferos de zoológico, essa bactéria causa preocupação, devido a dieta desses animais ser constituída em alimentos crus, como no caso dos carnívoros e onívoros que são alimentados com carne e/ou ovo cru os quais são veículos de transmissão para a *Salmonella* spp. (CUBAS; RAMOS; DIAS, 2014; LEWIS; BEMIS; RAMSAY, 2002). A prevalência de *Salmonella* em animais de zoológico também já foi descrita, um estudo realizado no zoológico Culiacán, no México identificou 10,5% de *S. Albany*, as amostras foram coletadas de animais do plantel, de roedores e de insetos que possuem contato com os animais do zoológico (SILVA-HIDALGO et al., 2013). Em felídeos selvagens de zoológico, foi identificado *Salmonella* spp. em 94% das amostras fecais coletadas (CLYDE; RAMSAY; BEMIS, 1997). No Chile, foram coletadas fezes de diferentes espécies de animais e observou prevalência de 7,5% de *Salmonella*

(MARCHANT et al., 2016). Já em zoológicos da Europa, nenhuma cepa de *Salmonella* spp. foi identificada (SCHARLING et al., 2021).

Além disso, já foi descrito resistência desse patógeno a antimicrobianos e a multirresistência aos antibióticos, em estudo realizado no Zoológico Emperor Valley, em Trindade foi observado 92% de resistência a cefalotina, 35% a estreptomicina e 29% a tetraciclina, 96% das cepas isoladas apresentavam resistência a um ou mais antibióticos avaliados (GOPEE; ADESIYUN; CAESAR, 2000). Em animais de zoológico no México, foi observado resistência de 100% a penicilina, estreptomicina e diclocaxina, 74,6% a ampicilina, 9,6% a cefalotina e 7,2% a cloranfenicol, nesse mesmo estudo os autores ressaltaram o perfil multirresistente de todas as cepas (SILVA-HIDALGO et al., 2014). Amostras fecais de animais selvagens que vivem em cativeiro, do ambiente e do alimento foram analisadas em Ohio e foi identificado 11,8% de resistência a estreptomicina e a tetraciclina e 8,8% a ampicilina, gentamicina e kanamicina, além disso, 8 (11,8%) cepas isoladas apresentaram resistência a um ou mais antibióticos e seis cepas foram identificadas como resistentes a mais de cinco antibióticos (FARIAS et al., 2015).

Campylobacter spp. em mamíferos pode provocar diarreia, vômito e dor abdominal, como também não causar doença (SOWERBY, 2015). Esse patógeno pode estar presente principalmente em produtos cárneos de aves, de bovino e de suíno (CORRADINI et al., 2021; WÜRFEL et al., 2021), ao ingerirem esses alimentos, os mamíferos dos zoológicos podem se infectar. Alguns estudos mostram a prevalência dessa bactéria nesses animais, em mamíferos terrestres de zoológico na Bélgica foram identificados 9 de 26 amostras positivas para *Campylobacter* (DE WITTE et al., 2018). Já em primatas não humanos, foi identificado 42% de cepas de *Campylobacter* spp., *C. jejuni* e *C. upsaliensis* (CLAYTON et al., 2018). Amostras coletadas de zoológicos e recintos de vida selvagem na Índia, tratadores dos animais, alimentos e água apresentaram prevalência de *Campylobacter* spp. de 0,8% (PRINCE MILTON et al., 2017). Além disso, foi avaliado a resistência desse micro-organismo a antimicrobianos em animais de zoológicos e foi identificado resistência a tetraciclina, ciprofloxacina com ácido nafilidíxico e estreptomicina (OLKKOLA et al., 2016).

4.5 Importância da *Salmonella* e *Campylobacter* na Saúde Pública

A salmonelose e a campilobacteriose são doenças zoonóticas que estão entre as quatro maiores causas de diarreia do mundo relacionadas à ingestão de alimentos contaminados (WHO, 2022c, 2022d). No Brasil, o levantamento de dados sobre os patógenos causadores de doença do trato gastrointestinal entre 2010 e 2018, identificou *Salmonella* spp. como uma das bactérias de maior problema de saúde pública, já alguns outros micro-organismos não fizeram parte desse repertório, como o caso da bactéria *Campylobacter* spp. (BRASIL, 2018). Porém, nos EUA, a *Campylobacter* spp. é considerada o patógeno que mais causa enfermidade diarreicas (CDC, 2019). Na União Europeia, estima-se que a campilobacteriose causa uma perda de aproximadamente 2,4 bilhões de euros para o sistema de saúde (EFSA, 2022a), enquanto a *Salmonella* spp., pode causar perdas acima de 3 bilhões de euros na economia europeia (EFSA, 2022b), o que mostra a importância desses patógenos na saúde pública mundial.

As duas doenças zoonóticas causadoras de sintomas gastrointestinais em humanos de maior importância na União Europeia são a campilobacteriose e a salmonelose, respectivamente. Infecção por *Campylobacter* spp. confirmadas na Europa acometeu 220.682 pessoas em 2019. Segundo a EFSA, essa bactéria foi a terceira maior causadora de surtos por doença transmitida por alimento em 2019, com 319 surtos, 1.254 casos de pessoas acometidas, 125 casos de pessoas que necessitaram de hospitalização e nenhuma morte. Além disso, foi evidenciado que a carne de frango e o leite foram as maiores fontes de transmissão desse patógeno para os humanos (EFSA, 2021).

No caso da infecção por *Salmonella* spp. na União Europeia, em 2019, 87.923 casos dessa doença em humanos foi confirmado. Dentre os surtos de doenças transmitida por alimento em 2019 na União Europeia, a salmonelose teve prevalência 17,9% e 72,4% foi causada pela *S. Enteritidis*. Foram identificados 926 surtos, com 9.169 pessoas doentes, das quais 1.915 precisaram de atendimento em hospital e sete pessoas vieram a óbito. As maiores fontes na transmissão da *Salmonella* spp. foi o ovo e seus derivados, os produtos de confeitaria, a carne suína e seus derivados e os alimentos mistos (EFSA, 2021).

Nos EUA, os dados não são muito diferentes da Europa, as bactérias *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. foram as maiores causadoras de doença do trato gastrointestinal em 2019. De todos os casos registrados de infecção bacteriana (25.866), a campilobacteriose e a salmonelose tiveram a incidência de 19,5 e 17,1 dos casos em 100.000 habitantes, respectivamente. Para *Campylobacter* spp., o número de casos em 2019 foi de 9.731, dentre

eles 1.988 pessoas necessitaram de hospitalização e 26 vieram a óbito. Enquanto para *Salmonella* spp., 8.556 pessoas foram infectadas, 2.430 tiveram atendimento médico no hospital e 46 morreram, o sorotipo *S. Enteritidis* também foi o maior causador de infecções por *Salmonella*, o qual é transmitido principalmente pelo ovo, mas a carne de frango também consitui uma importante fonte (TACK et al., 2019).

Salmonella spp. e *Campylobacter* spp. vivem no intestino de animais e humanos, podendo causar doença ou não. Sua eliminação ocorre pelas fezes dos hospedeiros ou portadores e podem contaminar os alimentos e água. Dessa forma, a transmissão ocorre principalmente pela via fecal-oral, ou seja, pela ingestão desses patógenos, os quais podem estar presente em carne, ovos, leite e água que não foram cozidos corretamente ou que não receba a devida fiscalização, o que provoca grandes problemas na saúde pública (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020; BRASIL, 2021; MOTA-GUTIERREZ et al., 2022). A vigilância dos alimentos ingeridos pela população é fundamental, por meio dela, a União Europeia determinou a prevalência de *Salmonella* spp. nas carnes de frango, bovina, suína, de peru e no ovo no ano de 2019 foram, respectivamente, de 1,68%, 0,13%, 5,82%, 0,48% e 0,01%. Já para *Campylobacter* spp., a prevalência desse patógeno foi descrita em alimentos prontos para consumir e alimentos que precisam de um preparo prévio. O primeiro apresentou 0% em carne e derivados, 0,24% em leite e seus derivados, 0,2% em frutas, verduras e sucos, 0,32% em salada e 0,1% em outros alimentos processados. Enquanto o segundo apresentou prevalência de 22,97% em carne e seus derivados, 2,04% em leite e seus derivados, 0,2% em frutas, verduras e sucos e 0,69% em outros alimentos (EFSA, 2021).

Além da transmissão via alimentação, alguns animais são considerados reservatórios, os quais podem transmitir esses patógenos aos humanos. Dessa forma, o contato de pessoas com os animais domésticos ou silvestres pode representar risco de transmissão desses patógenos e uma preocupação a saúde pública (ANGULO et al., 2006; DRÓŹDŹ et al., 2021; ICHIMI; YOSHINO; HIGASHIGAWA, 2018; KEEBLE; KOTERWAS, 2020; RUKAMBILE et al., 2019; SODAGARI et al., 2020). Na União Europeia, em 2019 a prevalência de *Campylobacter* spp. em frangos, suínos, bovinos, cães e gatos e outros animais, os quais incluem animais selvagens foi de 13,27%, 58,58%, 9,28%, 6,85% e 12,63%, respectivamente. Enquanto para *Salmonella* spp., a prevalência para frangos, bovinos, suínos, perus e matriz de postura foi de 7,76%, 0,24%, 78,87%, 4,08% e 0,91%, respectivamente, no ano de 2019. Dessa forma, o contato humanos com animais pode ser uma importante fonte na cadeia epidemiológica dessas doenças (EFSA, 2021).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Desenho do estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicado (LABIO/UFU) e no Laboratório de Epidemiologia Molecular (LEPIMOL/UFU) e contemplou a análise de fezes frescas, coletadas no ambiente de 22 recintos pertencentes a 14 espécies diferentes de mamíferos do Zoológico Municipal de Uberlândia em cada estação do ano (verão, outono, inverno e primavera), a fim de determinar a positividade para *Salmonella* spp. e/ou *Campylobacter* spp. por metodologia tradicional aliada a confirmação por PCR convencional. Após a confirmação de três bactérias do gênero *Salmonella*, foi realizada a tipificação com o kit Check&Trace *Salmonella* (Check-Points B.V., Holanda).

Além disso, foi realizada a coleta das fezes dos tratadores e médicos veterinários que possuem contato com esses animais durante a rotina do zoológico. A coleta também foi realizada em cada estação do ano e foi determinada a positividade para *Salmonella* spp. e/ou *Campylobacter* spp. pelos mesmos métodos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Uberlândia sob Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) número 54977421.0.0000.5152.

Por fim, foi realizado o teste de susceptibilidade antimicrobiana pelo método de concentração inibitória mínima (CIM) para os antibióticos ampicilina, tetraciclina, sulfonamida, azitromicina, ciprofloxacina, ceftriaxona para as amostras positivas para *Salmonella* e ciprofloxacina, tetraciclina, eritromicina, ampicilina, cefalexina e sulfonamida para cepas de *Campylobacter*.

5.2 Coletas

Foram coletadas 87 amostras contendo aproximadamente 10g de fezes frescas do recinto dos seguintes animais: macaco-bugio (*Alouatta caraya*), macaco-prego (*Sapajus apella*), lobo-

guará (*Chrysocyon brachyurus*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) onça-parda (*Puma concolor*), onça pintada (*Panthera onca*), leoa (*Panthera leo*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*), jupará (*Potos flavus*), veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*), cateto (*Pecari tajacu*), tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá-mirim (*Tamandua-tetradactyla*), totalizando 14 espécies, dispostas em 22 recintos (TABELA 1). As 87 amostras foram divididas em coletas realizadas no verão (23), outono (22), inverno (22) e primavera (20) do ano de 2021.

TABELA 1. Relação entre a quantidade de recintos para cada espécie e a quantidade de animais em cada recinto.

Espécie	Nome científico	Recinto	Animais
Macaco-bugio	<i>Alouatta caraya</i>	2	A: 3* B: 1
Macaco-prego	<i>Sapajus apella</i>	3	A: 1 B: 1 C: 1
Lobo-guará	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	1	A: 1
Cachorro-do-mato	<i>Cerdocyon thous</i>	1	A: 1
Onça-parda	<i>Puma concolor</i>	1	A: 1
Onça-pintada	<i>Panthera onca</i>	1	A: 1°
Leoa	<i>Panthera leo</i>	1	A: 1
Jaguatirica	<i>Leopardus pardalis</i>	3	A: 1 B: 1 C: 1
Gato-do-mato-pequeno	<i>Leopardus guttulus</i>	1	A: 1°
Jupará	<i>Potos flavus</i>	2	A: 1 B: 1
Veado-catingueiro	<i>Mazama gouazoubira</i>	1	A: 3*
Cateto	<i>Pecari tajacu</i>	3	A: 5 B: 3 C: 1
Tamanduá-bandeira	<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	1	A: 1
Tamanduá-mirim	<i>Tamandua-tetradactyla</i>	1	A: 1
Total		22	32

* na coleta realizada durante a primavera teve o nascimento de um animal em cada recintos sinalizados; ° falecimento dos animais no período entre a coleta do inverno e da primavera; A, B e C: recintos.

Paralelamente, 33 amostras contendo 10g de fezes frescas dos tratadores e médicos veterinários que trabalham no Zoológico Municipal de Uberlândia também foram coletadas, conforme especificado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP), totalizando nove indivíduos. Foi entregue o copo coletor estéril e determinado o dia de entrega das fezes. As 33 amostras foram divididas em coletas realizadas na primavera de 2021 (9), verão (9), outono (7), inverno (8) do ano de 2022.

A coleta foi feita em potes esterilizados devidamente identificados e imediatamente transportadas, em caixa de isopor com gel-gelo, para o laboratório para a realização das análises. Foram registradas informações quanto a presença de sinais clínicos de diarreia, tipo de diarreia (como cor, aparência das fezes, curso do tempo) e o uso de antibióticos.

5.3 Identificação fenotípica dos patógenos

No laboratório (LABIO/UFU e LEPIMOL/UFU), as amostras foram submetidas a análise microbiológica tradicional, conforme descrito por Coelho, (2012) e Da Silva et al., (2017).

Para *Salmonella*, foi utilizado 20 mL de caldo infusão de cérebro e coração (BHI) (OXOID®) como meio de enriquecimento não seletivo, além de 20 mL de caldos Tetrionato com iodo (TT) (OXOID®) e 20 mL de Rappaport-Vassiliadis (RV) (DIFCO®), como meios de enriquecimento seletivos. As fezes foram pesadas na balança de precisão de 0,01g (MARTE®), os caldos BHI e TT receberam 2g da amostra, enquanto o caldo RV recebeu 0,2g. As amostras em caldo BHI foram incubadas a 37°C por 24 horas, já aquelas adicionadas em caldo TT e RV foram incubadas a 42°C por 24 horas.

Após o crescimento em caldo, as amostras foram estriadas em placas de ágar de desoxicolato-lisina-xilose (XLD) (KASVI®), incubadas a 37°C e a cada 24 horas foram novamente estriadas em novas placas de ágar XLD até se obter colônias suspeitas isoladas. As colônias típicas de *Salmonella* spp. foram repicadas em ágar MacConkey (MERCK®) para verificação de fermentação de lactose, incubadas a temperatura de 37°C por 24 horas. Além disso, as colônias selecionadas foram repicadas em ágar Rambach (MERCK®) e incubadas a 37°C por 24 horas, para a confirmação. Posteriormente, as colônias compatíveis com

Salmonella spp. foram estriadas em ágar tríptico de soja (TSA) (OXOID®) e incubadas a 37°C por 24 horas, e em seguida repicadas em ágar nutritivo (AN) (OXOID®), incubadas na temperatura de 37°C por 24 horas, como meio de conservação.

Para *Campylobacter* spp., foi utilizado 9 mL de caldo Bolton Broth (OXOID®), como meio de enriquecimento, foi usado 5% de sangue de equino para enriquecer o meio. A amostra de 1g de fezes foi adicionada ao caldo. As amostras foram incubadas em jarra de anaerobiose com um gerador de microaerofilia (PROBAC®), em temperatura de 42°C por 48 horas. Posteriormente, as amostras foram estriadas em ágar *Campylobacter* Selective Agar (CCDA) (NEOGEN®), com antibiótico *Campylobacter* Suplemento Seletivo (OXOID®), incubadas em jarra com gerador de microaerofilia na temperatura de 42°C por 48 horas. Posteriormente, as colônias suspeitas foram repicadas em ágar CCDA, incubadas na temperatura de 42°C por 48 horas, em jarra com gerador de microaerofilia. As colônias isoladas típicas foram armazenadas em leite UHT (NINHO®) a -80°C.

As colônias típicas de *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. foram confirmadas por meio da identificação genotípica.

5.3 Identificação genotípica dos patógenos

Colônias típicas foram submetidas à identificação molecular por meio de técnica de PCR convencional. O DNA foi extraído das colônias por meio de kit Wizard (Promega), os passos utilizados na extração de DNA foram conforme o descrito pelo fabricante.

Após a extração de DNA, a reação de PCR foi executada com *primers* específicos (TABELA 2) para *Salmonella* (*ompC*) e *Campylobacter* (*16S-rRNA*) descritos por Jawad e Al-Charrakh, (2016) e Harmon, Ransom e Wesley, (1997), respectivamente. As reações de PCR foram preparadas com kit GoTaq Green (Promega) conforme instruções do fabricante. Foi usado para *Salmonella* 12,5 µL de solução Green, 10,5 µL de água ultrapura, 1 µL do *primer ompC* (20pmol) e 1 µL de DNA (10ng/µL), como controle positivo foi usada cepa ATCC 13076 de *S. Enteritidis*. Enquanto para *Campylobacter* foi utilizado 12,5 µL de solução Green, 8,5 µL de água ultrapura, 1 µL do *primer 16S-rRNA* (40pmol) e 3 µL de DNA (10ng/µL), como controle positivo foi usada a cepa de *C. jejuni* IAL 2383.

Os ciclos de amplificação foram realizados em termociclador (Eppendorf®), obedecendo a seguinte sequência: 1 ciclo iniciando a 94°C por 5 min, 35 ciclos consistindo de três etapas incluindo desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a 57°C por 1 min e extensão a 72°C por 2 min e um ciclo final com extensão a 72°C por 10 min, para o *primer ompC* e 1 ciclo iniciando 94°C por 1 min, 25 ciclos consistindo de três etapas incluindo desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento 60°C por 1 min e extensão 72°C por 1 min e um ciclo final com extensão de 72°C por 7 min para o primer *16Srna*.

TABELA 2. Sequências, tamanho das bandas e temperatura de anelamento dos *primers* utilizados para identificação de *Salmonella* e *Campylobacter*.

Genes	Primers	Sequência 5' → 3'	Tamanho (pb)	Anelamento	Referência
<i>16S-rRNA</i>	16S-rRNA-F	ATCTAATGGCTTAACCATTA AAC	857	60°C – 1min	LINTON et al., (1997)
	16S-rRNA-R	GGACGGTAACTAGTTTAGTATT			
<i>ompC</i>	ompC-F	ATCGCTGACTTATGCAATCG	204	57°C – 1min	JAWAD; AL-CHARRAKH, (2016)
	ompC-R	CGGGTTGCGTTATAGGTCTG			

Os produtos amplificados foram separados por eletroforese, corados com solução de SYBR® Safe DNA gel stain (Invitrogen®), com a inclusão de marcador de peso molecular de 100 bp (Invitrogen®). Os resultados foram visualizados por luz ultravioleta em transluminador (L PIX EX Loccus Biotechnology).

Após confirmação das amostras como pertencentes ao gênero *Salmonella* spp., três cepas foram sorotipificadas utilizando o kit Check&Trace *Salmonella* (Check-Points B.V.). As cepas testadas incluíram as oriundas de jupará (*Potos flavus*), onça-parda (*Puma concolor*) coletadas no verão e cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) coletada no outono.

De forma geral, a técnica de sorotipificação pelo kit Check&Trace *Salmonella* (Check-Points B.V.) parte de uma colônia pura para extração do DNA, em seguida há o reconhecimento de diferentes regiões do DNA de *Salmonella* pelas sondas presentes no kit. Para cada reação, foram 32 sondas distintas com sequências complementares ao DNA de *Salmonella*, as sondas que tiveram 100% de complementaridade ao DNA bacteriano se emparelharam a ele, e por meio de uma solução de ligase forma-se uma estrutura circular. As sondas não emparelhadas são eliminadas na próxima etapa, onde a solução enzimática de exonuclease vai degradá-las, e ao final permanece apenas os *targets* necessários para tipificação das amostras. Na etapa subsequente foi realizado uma PCR para amplificação dos produtos e finalmente foi realizada a detecção, que foi iniciada pela hibridização das sondas ligantes ao microarranjo presente na base de um microtubo. Na estrutura de cada sonda, há um segmento chamado ZIP Code,

responsável por direcioná-la para uma região específica no microarranjo. Finalmente as sondas hibridizadas foram reveladas por uma reação colorimétrica após conjugação de enzimas específicas presentes no teste. Os pontos negros significam presença de produto hibridizado e os brancos ausência, isso resulta uma imagem em que um padrão é revelado e traduzido pelo *software* do fabricante em um sorovar específico que esteja registrado em seu banco de dados, ou um genótipo caso não esteja presente.

5.4 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para a realização da CIM, foi utilizado o método da microdiluição em caldo (CLSI, 2020, 2022; EUCAST, 2022), para os antibióticos de uso na rotina de tratamento do Zoológico Municipal de Uberlândia e antimicrobianos de importância na saúde pública, seguindo as especificações e pontos de corte específicos para *Campylobacter* e *Enterobacteriaceae*. Os antibióticos testados em oito concentrações para as cepas isoladas de *Salmonella* foram ampicilina (AMP), tetraciclina (TET), sulfonamida (SUL), azitromicina (AZI), ciprofloxacina (CIP), ceftriaxona (CRO). Enquanto, para *Campylobacter* foram ciprofloxacina (CIP), tetraciclina, (TET), eritromicina (ERI), ampicilina (AMP), cefalexina (CFE) e sulfonamida (SUL). As maiores concentrações testadas para cada antimicrobiano foram: amostras humanas de *Salmonella* 256, 128, 4.096, 128, 8 e 32 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, respectivamente para AMP, TET, SUL, AZI, CIP e CRO, as amostras animais tinham as mesmas concentrações que de humanos exceto para AMP, a qual foi de 8 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Para as amostras humanas de *Campylobacter*, as maiores concentrações foram 256, 16, 4.096, 64, 2 e 256 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, respectivamente para AMP, TET, SUL, ERI, CIP e CFE, as concentrações para as amostras de animais só diferiram em 8 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ para AMP e 64 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ para CFE. A determinação das concentrações que foram utilizadas no estudo foi retirada dos documentos M100 e VET01S disponibilizados pelo CLSI, além da lista disponibilizada pelo EUCAST (CLSI, 2020, 2022; EUCAST, 2022).

Na preparação do inóculo das cepas de *Salmonella* foram usadas 10mL de solução salina (NaCl) (ÊXODO®) 0,9% e a turbidez foi ajustada para 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Uma alíquota de 20 μL da suspensão bacteriana foi transferida para 180 μL de caldo Müller Hinton (MH) (DIFCO®) com o antimicrobiano nas distintas concentrações em microplacas de 96 poços. Posteriormente, as placas foram incubadas a 36°C por 18-24 horas.

A avaliação foi realizada visualmente de maneira a determinar a menor concentração de cada antimicrobiano capaz de inibir a turbidez do meio. Como controle positivo foi utilizada a cepa de *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis ATCC 13076 e o controle negativo foi composto pelo caldo MH.

Já na preparação da suspensão do inóculo de *Campylobacter* foi utilizado 10mL de solução salina (NaCl) 0,9% e foi ajustado a turbidez para 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Uma alíquota de 20 μ L da suspensão bacteriana foi transferida para 180 μ L de caldo MH (DIFCO®) suplementado com íons Ca^{2+} 20-25 mg, Mg^{2+} 10-12,5 mg e 5% de sangue desfibrinado de carneiro com o antimicrobiano nas distintas concentrações em microplacas de 96 poços. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas em microaerofilia. Por fim, a avaliação foi realizada visualmente e em paralelo uma alíquota de 10 μ L de cada inóculo diluído foi semeada em ágar CCDA (ACUMEDIA®) para verificar o crescimento bacteriano (viabilidade) do respectivo poço de diluição. Em todas as placas, como controle positivo foi utilizada a cepa de *Campylobacter jejuni* IAL 2383 e o controle negativo foi composto pelo caldo MH (Difco®).

5.5 Análise estatística

Os resultados dos testes foram submetidos à estatística descritiva, análise de normalidade, seguida da aplicação do teste T Student/Mann-Whitney (para comparações de resultados referentes às amostras de animais e humanos) e teste exato de Fisher (utilizado nas comparações sazonais e de resistência antimicrobiana). Foi adotado o nível de significância de 5%, utilizando-se o programa Graph Pad Prism 8.0.1 para os cálculos.

6 RESULTADOS

6.1 Prevalência de *Salmonella* e *Campylobacter*

Após o isolamento de colônias típicas e confirmação em meio Rambach e por PCR convencional (FIGURA 1), constatou-se que 10/87 (11,5%) amostras foram positivas para *Salmonella* spp. em animais e 3/33 (9,1%) em humanos. Enquanto para *Campylobacter* spp., foram confirmadas 1/87 (1,1%) cepa em mamíferos e 1/33 (3,0%) dos tratadores (TABELA 3). Nenhum dos animais ou humanos positivos apresentavam sinais clínicos de salmonelose ou campilobacteriose, ou quaisquer sintomas de doença entérica, nem faziam uso de antimicrobianos em um intervalo de 15 dias.



FIGURA 1. Gel de eletroforese das amostras de *Salmonella* spp. confirmadas pelo gene *ompC*. M: marcador de peso molecular, C+: Controle positivo de *Salmonella*, 01-06 cepas isoladas no presente estudo oriundas de animais.

Os animais pertencentes a ordem *Carnivora* apresentaram maior prevalência de *Salmonella* (8/10 – 80,0%; $p=0,0119$). O isolamento de *Salmonella* em uma amostra de veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) representou um achado relevante devido à ausência de registros na literatura. Cabe ressaltar também a coabitação de ambos os gêneros bacterianos em jupará (*Potos flavus*) identificado no verão. Já em humanos, esse caráter não foi observado. Paralelamente, a manutenção de *Salmonella* foi identificada nessa mesma espécie animal em estações do ano diferentes, assim como em onça-parda (*Puma concolor*) e em cachorro-domato (*Cerdocyon thous*).

TABELA 3. Prevalência de animais e tratadores positivos para *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp., de acordo com cada estação do ano.

Estação (N amostras)	Patógeno	Animais	Tratadores n(%)	Total n(%)
		Espécie		
Verão (n=23 ^a / 9 ^h)	<i>Salmonella</i>	<i>Puma concolor, Potos</i>	2 (8,7)	0
		<i>flavus</i>		
	<i>Campylobacter</i>	<i>Potos flavus</i>	1 (4,3)	0
Outono (n=22 ^a / 7 ^h)	<i>Salmonella</i>	<i>Cerdocyon thous,</i>	2 (9,1)	0
		<i>Mazama gouazoubira</i>		
	<i>Campylobacter</i>	-	0	1 (14,3)
Inverno (n=22 ^a / 8 ^h)	<i>Salmonella</i>	<i>Panthera onca,</i>	4 (18,2)	NC
		<i>Cerdocyon thous, Potos</i>		
	<i>Campylobacter</i>	<i>flavus, Sapajus apella</i>	0	0
Primavera (n=20 ^a / 9 ^h)	<i>Salmonella</i>	<i>Puma concolor,</i>	2 (10,0)	3 (33,3)
		<i>Cerdocyon thous</i>		
	<i>Campylobacter</i>	-	0	0
TOTAL <i>Salmonella</i>		-	10	3
TOTAL <i>Campylobacter</i>		-	1	1

^a: amostras de animais; ^h: amostras de humanos; NC: não confirmadas; ^{a,b} p<0,05 pelo teste de Fisher.

Não houve diferença significativa na prevalência de isolados de *Salmonella* e *Campylobacter* em animais e humanos em cada uma das estações do ano, separadamente. A análise considerando o total de isolados de cada gênero confirmou a prevalência significativa de *Salmonella* (5/29 – 17,2%) em relação a *Campylobacter* na primavera (p=0,0418 - Teste de Fisher).

A sorotipificação das três cepas de *Salmonella* spp. pelo kit Check&Trace *Salmonella* (Check-Points B.V) comprovou que se tratava de *Salmonella enterica*, mas possivelmente não pertencente à subespécie *enterica* (FIGURA 2).

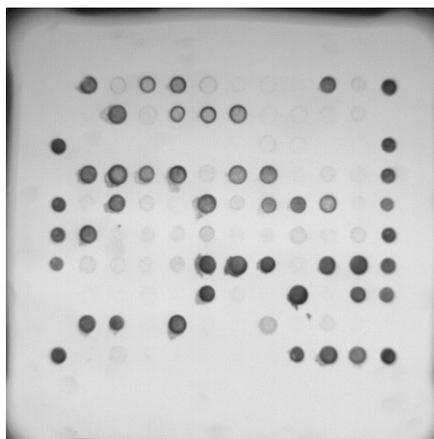


FIGURA 2. Imagem visualizada pela leitura do kit Check&Trace *Salmonella* (Check-Points B.V.). Pontos pretos indicam presença dos produtos hibridizados das sondas ligante, que permitem a análise e identificação dos sorotipos.

6.2 Resistência antimicrobiana nos isolados

As dez cepas de *Salmonella* spp. isoladas de animais apresentaram 100% de resistência a ampicilina, já as três de humanos demonstraram 66,7% (2/3) de resistência e 33,3% (1/3) de resistência intermediária. Para tetraciclina, a porcentagem de resistência nos isolados de animais e humanos foi de 38,5% (5/13) das cepas e 61,5% (8/13) de susceptibilidade, diferente de sulfonamida que apresentou 100% de resistência e para ciprofloxacina as cepas foram todas susceptíveis. 53,8% (7/13) das cepas apresentaram resistência a azitromicina e 46,2% (6/13) susceptibilidade. Enquanto para ceftriaxona, as cepas obtiveram 84,6% (11/13) de resistência, 7,7% (1/13) de resistência intermediária e de susceptibilidade. Dessa forma, a droga mais efetiva para controle de *Salmonella* foi CIP ($p=0,0391$) e as menos efetivas foram SUL, AMP e CRO ($p<0,05$) (TABELA 4).

A determinação da CIM₅₀ só foi possível em *Salmonella* pelo quantitativo de cepas. Para SUL e AMP as CIM₅₀ foram as maiores identificadas e superiores à maior concentração testada (4.096 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ e 8 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, respectivamente). Diferente para CIP, a qual foi necessária concentração inferior à menor testada (0,0625 $\mu\text{g. mL}^{-1}$) para controle das cepas. As CIM₅₀ para AZI e CRO foram superiores às concentrações que determinam a resistência do gênero *Salmonella* (16 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ e 8 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, respectivamente).

TABELA 4. Distribuição da CIM das 15 cepas de *Samonella* spp. e *Campylobacter* isoladas de animais e tratadores do Zoológico Municipal de Uberlândia.

Concentrações	S-AMP	S-AMP ^h	C-AMP	S-TET	C-TET	S-SUL	C-SUL	S-AZI	C-ERI	S-CIP	C-CIP	S-CRO	C-CFE
<A	-	-	-	1-1 ^h	1 ^h	-	-	-	1 ^h	10-3 ^h	1-1 ^h	1	-
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	-	-	-	2-1 ^h	-	-	-	1	-	-	-	-	-
C	-	-	-	2-1 ^h	-	-	-	3-1 ^h	-	-	-	1 ^h	-
D	-	1	-	-	-	-	-	1 ^h	-	-	-	1 ^h	1 ^h
E	-	1	-	-	-	2 ^h	-	1 ^h	-	-	-	2-1 ^h	-
F	-	1	-	1	-	1 ^h	-	2	-	-	-	4	-
G	1	-	-	3	-	2	-	1	-	-	-	1	-
H	1	-	-	1	-	-	-	3	1	-	-	2	1
>H	8	-	1-1 ^h	-	1	8	1-1 ^h	-	-	-	-	-	-
R (%)	10 (100)	2 (66,7)	2 (100)	5 (38,5)	1 (50)	13 (100)	2 (100)	7 (53,8)	1 (50)	0 (0)	0	11 (84,6)	1 (50)
I (%)	0 (0)	1 (33,3)	0	0 (0)	0	0	0	0	0	0 (0)	0	1 (7,7)	0
S (%)	0 (0)	0 (0)	0	8 (61,5)	1 (50)	0 (0)	0	6 (46,2)	1 (50)	13 (100)	2 (100)	1 (7,7)	1 (50)
CIM₅₀ (µg.mL⁻¹)	>8	-	-	4	-	>4.096	-	16	-	<0,0625	-	8	-

A–H: concentrações dobradas utilizadas para cada antimicrobiano. h: cepas de humanos. S-: resultados de *Salmonella*. C-: Resultados de *Campylobacter*. AMP: ampicilina na concentração para cepas de animais (<A: <0,0625 µg. mL⁻¹, >H: >8 µg. mL⁻¹); AMP^h: ampicilina na concentração para cepas de humanos (<A: <2 µg. mL⁻¹, >H: >256 µg. mL⁻¹); TET: tetraciclina (<A: <1 µg. mL⁻¹, >H: >128 µg. mL⁻¹); SUL: sulfonamida (<A: <32 µg. mL⁻¹, >H: >4.096 µg. mL⁻¹); AZI: azitromicina (<A: <1 µg. mL⁻¹, >H: >128 µg. mL⁻¹); CIP: ciprofloxacina (<A: <0,0625 µg. mL⁻¹, >H: >8 µg. mL⁻¹); CRO: ceftriaxona (<A: <0,25 µg. mL⁻¹, >H: >32 µg. mL⁻¹) __ (linha) – ponto de corte de acordo com CLSI, 2020 e 2022; sombreamento cinza escuro – resistente (R); cinza claro – resistência intermediária (I); branco – susceptível (S).

As cepas de animal e humano isoladas de *Campylobacter* spp. obtiveram resistência a ampicilina (>8 e >256 µg. mL⁻¹, respectivamente). Para tetraciclina, a cepa de animal apresentou resistência ao antibiótico (>16 µg. mL⁻¹) e a de humano foi susceptível (<0,125 µg. mL⁻¹). As duas cepas tiveram resistência a sulfonamida (>4.096 µg. mL⁻¹), enquanto para o antibiótico ciprofloxacina, as duas cepas apresentaram susceptibilidade (<0,016 µg. mL⁻¹). A cepa isolada de animal obteve resistência a eritromicina (64 µg. mL⁻¹) e a de humano apresentou susceptibilidade ao antibiótico (<0,5 µg. mL⁻¹). Por fim, a cepa de animal apresentou resistência ao antibiótico cefalexina (64 µg. mL⁻¹), já a de humano teve susceptibilidade (16 µg. mL⁻¹).

Identificamos seis perfis de resistência nas cepas testadas, conforme descrito na Tabela 5. Das 15 cepas isoladas identificamos co-resistência em 2/15 (13,3%) e MR em 13/15 (86,7%) (p<0,0001 – teste de Fisher).

TABELA 5. Perfis de resistência identificados nas 15 cepas de *Salmonella* e *Campylobacter* isoladas de animais do zoológico e seus tratadores.

Antimicrobial agents	<i>Salmonella</i> ^A N (%)	<i>Salmonella</i> ^H N (%)	<i>Campylobacter</i> N (%)	Total N (%)
(P1) AMP-SUL	1	0	1 ^H	2
Total isolados co-resistentes	1 (10)^a	0	1 (50)	2 (13,3)^a
(P2) AMP-SUL-CRO	3	1	-	4
(P3) AMP-SUL-AZI	0	1	-	1
(P4) AMP-SUL-CRO-AZI	1	1	-	2
(P5) AMP-SUL-CRO-AZI-TET	5	0	-	5
(P6) AMP-SUL-TET-ERI-CFE	-	-	1	1
Total isolados multirresistente	9 (90)^b	3 (100)	1 (50)	13 (86,7)^b

CIP, ciprofloxacina; TET, tetraciclina; SUL, sulfonamida; AZI, azitromicina; ERI, eritromicina; CRO, ceftriaxone; CFE, cefalexina N (%), número e porcentagem total de *Salmonella* e *Campylobacter*; P, perfil; Letra sobrescrita (^{A ou H}) indicando que a cepa foi isolada de animal ou humano; Letra sobrescrita (^{a e b}) na mesma coluna indica diferença significativa pelo teste de Fisher (p<0,05).

As cepas de *Salmonella* isoladas de animais pertencentes aos perfis MR foram significativamente mais frequentes (90%) (p=0,0011 – teste de Fisher). A cepa de *Salmonella* spp. isolada no verão da onça-parda apresentou perfil P1 de resistência, e foi a única cepa de *Salmonella* co-resistente. O perfil P2 foi identificado em uma cepa oriunda de jupará no verão e outras duas isoladas no outono de cachorro-do-mato e veado-catingueiro. O perfil P5 foi prevalente no inverno com 4/5 (80%) cepas isoladas dos dois juparás, do macaco-prego e da onça-pintada. Na primavera, a estirpe isolada de onça-parda apresentou perfil P4 e de cachorro-do-mato teve perfil P5. Todas as *Salmonella* isoladas de humanos foram MR, sendo que 2/3 (66,6%) apresentaram perfis de resistência idênticos aos encontrados em cepas isoladas de animais (P2 e P4).

Para *Campylobacter*, a cepa de origem animal foi penta resistente (P6), incluindo à eritromicina, droga de escolha para tratamento em humanos em caso de doença. Já a cepa isolada de humano, pertencente ao perfil P1 apresentou co-resistência a ampicilina e sulfonamida.

7 DISCUSSÃO

7.1 Frequência de *Salmonella* e *Campylobacter*

A prevalência da *Salmonella* spp. (13/120 – 10,8%) nas fezes dos animais foi maior que de *Campylobacter* spp. (2/120 – 1,7%), o que corrobora com alguns dados da presença dessas bactérias em coleção de zoológico. No estudo feito por Samu, Stacy e Pye, (2021) os autores avaliaram 692 amostras do banco de dados de mamíferos de zoológicos e foi identificado oito (1%) cepas de *Salmonella* e duas (0,3%) de *Campylobacter*. Adesiyun et al., (1998) investigaram a prevalência dessas bactérias em 291 animais de vida livre de Trinidad e obtiveram seis (2%) amostras positivas para *Salmonella* spp. e uma (<1%) de positividade para *Campylobacter* spp.

A transmissão desses patógenos ocorre por via fecal-oral, principalmente pela ingestão de alimento contaminado. O alimento de origem animal, como a carne e o ovo são os maiores veiculadores dessas bactérias, mas verduras e frutas mal manejadas podem ser contaminadas com *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. e participar da cadeia de transmissão desses micro-organismos (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018).

A baixa prevalência em amostras humanas também foi identificada por Milton et al., (2018) que analisaram 314 amostras de fezes de animais silvestres de quatro jardins zoológicos e recintos de vida selvagem na Índia e 18 (5,7%) das cepas isoladas apresentaram positividade a *Salmonella* spp. Neste mesmo estudo foi coletado fezes de 30 tratadores desses animais e foi identificado 5 (16,7%) amostras com presença de bactérias do gênero *Salmonella*. Nosso estudo difere dos demais no que diz respeito a identificação de sorovar dos isolados de *Salmonella* dos quais as três cepas identificadas pertenciam a *S. enterica* possivelmente não pertencente à subespécie *enterica*. No zoológico de Culiacán no México, foram identificadas 28 (10,5%) cepas de *Salmonella enterica* Albany, as 267 amostras eram de fezes dos animais, de insetos e

da alimentação (SILVA-HIDALGO et al., 2013). Gargano et al. (2021a) avaliaram 60 cepas de *Salmonella* de diferentes origens, incluindo animais de produção, *pets*, animais de zoológico, animais de vida livre, além de alimentos na Sicília, Itália, e identificaram oito cepas nos animais de zoológico, as quais apresentaram os sorovares *S. Typhimurium*, Richmond, Potsdam, Kiambu, Infantis e Bahrenfeld.

Os animais da ordem *Carnivora* (NCBI, 2020a) representaram no presente estudo o grupo que mais se isolou *Salmonella* spp. de suas fezes (8/10 – 80%), e inclui a onça-parda (*Puma concolor*), onça-pintada (*Panthera onca*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e jupará (*Potos flavus*). Clyde, Ramsay e Bemis, (1997) coletaram amostras de felídeos de uma coleção privada e do zoológico de Knoxville nos EUA, as quais apresentaram *Salmonella* de diversos sorovares, incluindo *S. Panama*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* 13A e *S. Johannesburg* em fezes de onça-parda (*Puma concolor*). Em cachorro-do-mato do Parque Estadual de Dois Irmãos, em Pernambuco, no Brasil, Lima et al. (2012) identificaram *Salmonella* spp. em seis animais, dos nove analisados. Os sorovares *S. Seigburg*, *S. Javiana* e *S. Oldenburg* foram encontrados em 25% (4/16) dos juparás do plantel do Emperor Valley Zoo, em Trinidad (GOPEE; ADESIYUN; CAESAR, 2000). Ainda nesse estudo, os autores relataram a maior prevalência de *Salmonella* em animais da ordem *Carvívora*, de maneira que das 404 amostras de fezes de mamíferos coletadas 29 (7%) apresentaram positividade para o patógeno. Dessas, 135 tratavam-se de amostras de animais da ordem *Carnívora* cuja presença foi identificada em 17% (23/135). Sabe-se que esses animais precisam da proteína animal em sua alimentação, assim, podem ter se infectado com a bactéria por meio da ingestão de alimentos de origem animal que devem ser oferecidos crus (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018).

No presente estudo, foi identificado *Salmonella* spp. em macaco-prego (*Sapajus apella*). A alimentação dessa espécie em cativeiro ainda é controversa, esse animal é um primata onívoro que pode ser alimentado com ovo cru, insetos, frutas e verduras (DA SILVA et al., 2021) e alguns autores trazem a carne crua como uma possibilidade de alimento (WATTS, 2020). A alimentação desse animal no Zoológico Municipal de Uberlândia possui apenas ovo na dieta. Em estudo realizado em zoológicos do Chile, 10 amostras de fezes de macaco-prego foram analisadas e um animal apresentou positividade para *S. Enteritidis* (MARCHANT et al., 2016). Já no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) de João Pessoa e no Zoológico de João Pessoa, 80% (4/5) das amostras de fezes da espécie macaco prego-galego (*Sapajus lavius*) apresentaram *Salmonella* spp. (RAMALHO et al., 2015).

O isolamento da *Salmonella* spp. em veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) causa preocupação quanto ao manejo dos alimentos do zoológico, visto que são animais herbívoros e em cativeiro se alimentam de ração, frutas, verduras, gramíneas e leguminosas (CUBAS; RAMOS; DIAS, 2014). Dessa forma, a infecção desses animais pode ocorrer pela contaminação cruzada desses alimentos devido à falta de higiene durante a manipulação (EHUWA; JAISWAL; JAISWAL, 2021; ZARKANI; SCHIKORA, 2021). A identificação desse micro-organismo em outra espécie desse gênero (*Mazama americana trinitatis*) já foi descrita na literatura (ADESIYUN et al., 1998; GOPEE; ADESIYUN; CAESAR, 2000), porém não há relatos em veado-catingueiro.

Três cepas de *Salmonella* spp. foram isoladas dos humanos que possuem contato direto com os animais do Zoológico, no presente estudo. A transmissão desse patógeno de animais para humanos ocorre principalmente pela ingestão de água e alimentos contaminados, como a carne e o ovo (KURTZ; GOGGINS; MCLACHLAN, 2017). Porém, essa infecção pode ocorrer também pelo contato direto com fezes contaminadas de animais com esse patógeno (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018). A transmissão desse micro-organismo de répteis e anfíbios para humanos é bem descrita, diferente de mamíferos selvagens de vida livre ou de cativeiro (FARIAS et al., 2015). Entretanto, alguns casos de surtos de salmonelose em humanos que tiveram contato com animais mamíferos de zoológico já foi relatada, como retratado na revisão de literatura escrita por LeJeune e Davis, (2004), no Centro de Ciências do Pacífico nos EUA, em 1991, após uma exibição de alguns animais silvestres, como pequenos mamíferos.

Os animais e humanos que apresentaram positividade para esse patógeno, não tinham sinais clínicos da salmonelose, a qual compreende sintomas gastrointestinais, como diarreia, vômito e dor abdominal (HARAGA; OHLSON; MILLER, 2008). Alguns mamíferos selvagens podem ser assintomáticos e reservatórios para a *Salmonella* spp., o que pode causar preocupação para a saúde dos humanos. Esses animais também podem ser reservatórios de espécies *Salmonella enterica* não pertencentes a subespécie *enterica*, conforme identificado no presente estudo, porém esses micro-organismos não são comumente isolados de infecções humanas e são considerados oportunistas, por acometer pessoas com sistema imune debilitado. Além disso, o isolamento dessa subespécie não *enterica* normalmente está associado a animais de sangue frio, como os répteis, diferente do que foi encontrado no presente estudo (CHRISTIDIS et al., 2020; DESAI et al., 2013; LAMAS et al., 2018).

A prevalência da *Salmonella* spp. foi maior na primavera (17,2%) e inverno (13,3%), do que nas outras estações do ano, porém não houve diferença significativa nos valores identificados no presente estudo. Segundo estudo realizado em Melbourne, na Austrália, a prevalência de *Salmonella* spp. em água e sedimento proveniente do rio Yarra é maior no verão que no inverno (SIDDIQEE et al., 2020). Vale considerar que a temperatura ótima para o crescimento dessa bactéria é 37°C, visto que o Brasil é um país tropical, o qual não possui as quatro estações bem definidas, mas sim duas estações, uma fria e seca e outra quente e chuvosa, porém a temperatura na cidade de Uberlândia, durante o verão pode ultrapassar 30°C, com a umidade relativa do ar mais elevada, fator importante que pode ter permitido a coabitação de ambos os gêneros (*Salmonella* e *Campylobacter*) em fezes de jupará (*Potos flavus*) (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018; PETRUCCI, 2018).

A presença de *Campylobacter* spp. em jupará (*Potos flavus*) assintomático indica seu *status* de portador e potencial risco para a saúde pública (DE WITTE et al., 2018). Assim como a salmonelose, a campilobacteriose é transmitida principalmente pela ingestão de alimentos contaminados, como carne e ovo (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020). O jupará é uma espécie onívora e recebe alimento de origem animal em sua dieta (CUBAS; RAMOS; DIAS, 2014), o que pode proporcionar a transmissão desse patógeno. Não há relatos de infecção por *Campylobacter* spp. em jupará (*Potos flavus*), porém, no Canadá, de 1.096 *swabs* fecais de guaxinins (*Procyon lotor*) de vida livre analisados para essa bactéria, 508 (46,3%) foram positivos (MUTSCHALL et al., 2020). Esses animais são da mesma família que os juparás (NCBI, 2020b).

No presente estudo, um tratador apresentou positividade para *Campylobacter* spp. A transmissão de animais para seres humanos ocorre principalmente pela ingestão de alimento e água contaminada. Porém, o contato direto com o ambiente contaminado e as fezes de animais infectados também pode acarretar na aquisição desse patógeno (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018). Já foi relatado a infecção por *Campylobacter* spp. de um funcionário do Zoológico de Auckland, a origem não foi identificada, mas acredita-se que a transmissão ocorreu pelo contato com os animais, o que pode representar risco também no local onde o presente estudo foi executado (FORSYTH et al., 2012).

Identificamos *Campylobacter* spp. somente no verão e outono. Além do reduzido número de cepas isoladas que não garante representatividade em uma análise epidemiológica, isso pode ter ocorrido devido às baixas temperaturas, juntamente com a baixa umidade relativa do ar, atingidas na cidade de Uberlândia durante o inverno de 2021 (INMET, 2022). A

temperatura ótima para o crescimento da bactéria *Campylobacter* spp. é 42°C, porém, quando submetidas a temperaturas abaixo de 4°C, ocorre a mudança para o estado viável, mas não cultivável (VNC), a qual muda a forma para cocoide e diminui seu metabolismo, a fim de sobreviver durante as condições adversas de estresse (CASEY; FITZGERALD; LUCEY, 2017; LV et al., 2020). A primavera é a estação do ano seguinte ao inverno, dessa forma, os microorganismos que mudam sua forma para VNC se tornam viáveis somente após se instalarem no intestino do hospedeiro e terem condições adequadas para crescimento (YAGI; OKADA; INOSHIMA, 2022). Além disso, as bactérias do gênero *Campylobacter* não são boas competidoras quando estão na presença de outras bactérias, as quais ocupam seu sítio de ligação no intestino de humanos e animais (SZOTT et al., 2022), o que também pode justificar sua baixa prevalência.

Das três cepas sorotipificadas, duas apresentaram perfil multirresistente, apesar das cepas de *Salmonella enterica* pertencentes a subespécies não *enterica* não apresentarem grande importância a saúde pública, causa preocupação quando a transferência de genes de virulência/resistência para outras bactérias relevantes na saúde dos humanos (DESAI et al., 2013; FERNÁNDEZ; GUERRA; RODICIO, 2018). A transferência de genes também pode acontecer em cepas do gênero *Campylobacter*, por meio dos plasmídeos (MIN et al., 2022), o que em uma visão de saúde única causa preocupação.

7.2 Multirresistência antimicrobiana nos isolados

A infecção causada por *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. geralmente é autolimitante e com rápida resolução. Para os casos graves, como pessoas imunocomprometidas, é indicado realizar tratamento da salmonelose com os antimicrobianos, ciprofloxacina, ceftriaxona e azitromicina, enquanto para a campilobacteriose são utilizados os antibióticos ciprofloxacina e a eritromicina (DAI et al., 2020; MCDERMOTT; ZHAO; TATE, 2018). Entretanto, o uso indiscriminado de antimicrobianos nos últimos anos, contribuiu para o aparecimento de linhagens resistentes a diversas classes de antibióticos. Essa resistência é compartilhada e interfere diretamente nos três pilares da Saúde Única, as saúdes animal, humana e ambiental (CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2020).

No presente estudo, somente uma cepa de *Salmonella* spp. apresentou resistência intermediária ao antibiótico ampicilina, os outros isolados obtiveram resistência a esse antimicrobiano. A resistência de cepas de *Salmonella* spp. a ampicilina é antiga e ocorre pela presença de genes beta lactamase, devido a utilização em grande escala desse antibiótico para tratamento de bactérias da família das *Enterobacteriaceas*. O primeiro surto de salmonelose resistente a ampicilina conhecido ocorreu no Reino Unido de 1962 a 1964 (TRAN-DIEN et al., 2018). Cepas do gênero *Salmonella* resistentes a ampicilina isoladas de animais selvagens já foram relatadas na literatura, Silva-Hidalgo et al. (2014) identificou 74,3% de resistência a ampicilina nas 83 cepas isoladas do Zoológico de Culiacan e do Aquário de Mazatlan de diferentes animais silvestres. A concentração recomendada para animais é 32 vezes menor que a recomendada para humanos (CLSI, 2020, 2022) e a CIM necessária para eliminar 50% das bactérias de animal foi quatro vezes maior que a encontrada para humano, isso serve de alerta para a necessidade de mudanças no tratamento com esse antimicrobiano.

Em *Salmonella*, 38,5% (5/13) das cepas isoladas obtiveram resistência a tetraciclina, sendo todas provenientes dos mamíferos avaliados. Os dados encontrados no presente estudo vão de encontro com o trabalho realizado no Zoológico de Emperor Valley, em Trinidad, o qual identificou *Salmonella* spp. em mamíferos, répteis e aves e 29% das cepas isoladas apresentaram resistência a tetraciclina (GOPEE; ADESIYUN; CAESAR, 2000). A resistência identificada para essa classe de antimicrobianos pode estar associada ao amplo uso nas práticas veterinárias e é possível que o valor identificado (38,5%) possa ser superior, considerando que algumas cepas de *Salmonella* podem apresentar genes de resistência e ter susceptibilidade ao antimicrobiano por meio de testes como CIM e teste disco difusão. Esse fato foi relatado no estudo realizado em Burquina Fasso que sequenciou o material genético de algumas estirpes isoladas de humanos e de frangos (KAGAMBÈGA et al., 2018).

Todas as cepas isoladas no presente trabalho apresentaram resistência a sulfonamida. A CIM₅₀ dos micro-organismos foi maior que 4.096 µg. mL⁻¹, a qual compreende uma concentração maior que todos os antimicrobianos testados. Estudos mostram alta resistência a essa classe de antimicrobianos, como a revisão realizada na África do Sul que relatou esta característica em 92% de cepas de *Salmonella* isoladas do ambiente, animais e humanos (RAMATLA et al., 2021). Além disso, 140 *Salmonella* Dublin isoladas de bovinos com sintomatologia, nos EUA, apresentaram 96% de resistência a sulfonamida (SREDNIK et al., 2021), o que indica que cepas resistentes a esse antibiótico pode estar presente na alimentação de animais e humanos.

A resistência a azitromicina ocorreu em 53,8% (7/13) das cepas de *Salmonella* spp. isoladas. Esse antibiótico é largamente usado no tratamento da febre entérica causada por *Salmonella* tifóide, pelo aumento dos casos de resistência a fluorquinolonas (OCTAVIA et al., 2021). Porém, em *Salmonella* não tifóide, poucos estudos trazem sua resistência. De 12 *S. Typhimurium* identificadas de pacientes hospitalizados na China, somente duas cepas eram resistentes a azitromicina (WONG et al., 2014). O uso desse macrolídeo para o tratamento da salmonelose grave não é de primeira escolha, mas pode ser usado de forma alternativa, caso encontre resistência às fluorquinolonas e às cefalosporinas de terceira geração (CUYPERS et al., 2018).

Todas as 13 cepas foram susceptíveis a ciprofloxacina. A fluorquinolona ciprofloxacina é um antibiótico de escolha para o tratamento de bactérias do gênero *Salmonella*, portanto, a susceptibilidade a essa droga é de grande importância para a saúde pública (CUYPERS et al., 2018). Em estudo realizado com fezes de animais selvagens em cativeiro nos EUA, amostras de alimento e do ambiente, as 319 cepas isoladas não apresentaram resistência a ciprofloxacina (FARIAS et al., 2015). Já em nove cepas na Itália isoladas de amostras de animais e de alimento, somente uma cepa apresentou resistência a ciprofloxacina, as outras foram susceptíveis (GARGANO et al., 2021b).

No presente estudo as cepas isoladas de *Salmonella* apresentaram 84,6% (11/13) de resistência a ceftriaxona. Esse antimicrobiano é uma cefalosporina de terceira geração e de escolha para o tratamento da salmonelose (CUYPERS et al., 2018). Em estudo realizado com amostras humanas e não humanas em Shangai, na China, foi identificado em 2011, 2012 e 2013 aumento de 5,0% (51/1022), 7,5% (77/1031) e 8,4% (92/1100), respectivamente, em cepas isoladas de *Salmonella* com resistência a ceftriaxona (KUANG et al., 2018). Outro trabalho realizado com 83 cepas isoladas de animais selvagens em cativeiro, no México, apresentou 100% de susceptibilidade a ceftriaxona (SILVA-HIDALGO et al., 2014). O valor encontrado no presente estudo é alto e causa preocupação em saúde pública.

Identificamos perfis de resistência idênticos em *Salmonella* isoladas de animais e humanos. Apesar de não representar dado suficiente para constatar similaridade entre cepas de diferentes origens, estudo realizado por Smith et al. (2014) identificou *S. Enteritidis* em fezes diarréicas de onça-pintada (*Panthera onca*) na província de Gauteng, na África do Sul, em Johannesburg e ao realizar PFGE identificou dois isolados de humanos com o mesmo padrão.

As duas cepas isoladas de *Campylobacter* spp. apresentaram resistência a ampicilina. A ampicilina é considerada como um antibiótico de crítica importância para a saúde pública pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2018). A resistência a esse antimicrobiano é relatada na produção animal, 378 cepas isoladas de uma produção intensiva de suínos apresentaram 69% *C. coli* resistentes e 85% *C. jejuni* (SITHOLE et al., 2021). Mas também, em animais silvestres, como uma amostra de *C. jejuni* isolada de águia-de-bonelli de vida livre, na Espanha que apresentou resistência a ampicilina (MARTÍN-MALDONADO et al., 2019).

A cepa de *Campylobacter* spp. do presente estudo isolada de jupará também apresentou resistência a tetraciclina. Em revisão realizada na Finlândia, cepas de *Campylobacter* spp. isoladas de diferentes origens apresentaram resistência a tetraciclina, os isolados incluíam aves silvestres, água e de animais do zoológico, os quais apresentaram resistência equivalente a 11,4%, 6,3% e 31,4%, respectivamente (OLKKOLA et al., 2016). Já a cepa isolada de humano apresentou susceptibilidade a tetraciclina, diferente do que foi relatado por Rodrigues et al., (2021) que avaliou dados de pacientes com campilobacteriose entre 2011 e 2014, em Detroit nos EUA, 120 de 214 (56,1%) cepas isoladas apresentaram resistência a esse antibiótico.

A resistência a sulfonamida foi visualizada nas duas cepas de *Campylobacter* isoladas, no presente trabalho. A alta prevalência de cepas resistentes a antibióticos dessa classe são relatados na literatura, em uma coleção Irlandesa de *Campylobacter* spp. isoladas entre 1996 e 1998 de fezes humanas e tecido intestinal de suínos e aves, a resistência a essa droga foi de 62,3% (LUCHEY et al., 2000). Já em estudo feito no Marrocos, cepas de *C. jejuni* e *C. coli* apresentaram, respectivamente, resistência de 100% e 71,42% em amostras de carne bovina e 78,57% e 88,73% em carcaça de frango (EL BAABOUA et al., 2021). Além disso, em cepas de *Campylobacter* spp. isoladas de cervos, no Estado de Nova Iorque, nos EUA, foram encontrados genes de resistência para antimicrobianos da classe das sulfonamidas, o qual apresentou a maior prevalência (55,7%) de genes encontrados (ROGERS et al., 2018).

As duas cepas de *Campylobacter* spp. isoladas apresentaram susceptibilidade a ciprofloxacina. Esse antimicrobiano é considerado o medicamento de escolha para tratamento da campilobacteriose grave (DAI et al., 2020). Apesar do quantitativo de cepas identificadas no presente estudo não ser representativo, estudos indicam a existência de linhagens resistentes a ciprofloxacina, porém em cepas isoladas de pacientes humanos infectados com *Campylobacter* spp., na Austrália, foi identificado 20,1% de resistência a ciprofloxacina (WALLACE et al., 2021). Assim como, em revisão feita na Etiópia, de 2000 a 2020, com 291 artigos, cujos autores

encontraram dados compatíveis a 71,2% de cepas resistentes a essa, de diferentes fontes, como humanos, animais e alimento (ZENEBE; ZEGEYE; EGUALE, 2020).

Os macrolídeos como a eritromicina, também são antibióticos de escolha para o tratamento da campilobacteriose (DAI et al., 2020). No presente estudo, a cepa isolada de animal apresentou resistência a eritromicina, enquanto a cepa isolada de humano apresentou susceptibilidade. Olkkola et al. (2016) avaliaram amostras de frangos, bovinos, pacientes humanos, água natural, aves silvestres e animais de zoológico de Finlândia e nenhuma cepa apresentou resistência a eritromicina. Já em cepas isoladas da ave chapim-real (*Parus major*) de vida livre na Polônia, os autores identificaram susceptibilidade dos dez isolados de *C. jejuni* (TRYJANOWSKI et al., 2020).

Campylobacter de origem animal também apresentou resistência a cefalexina, enquanto a de humano obteve susceptibilidade. Os estudos feitos para determinar a susceptibilidade a essa antibiótico, identificam alta resistência. Em amostras isoladas de animais do Zoológico de Belfast, na Irlanda do Norte, os autores identificaram *Campylobacter jejuni*, *C. coli* e *C. lari* em dez espécies de mamíferos e uma ave e todas apresentaram resistência a cefalexina (STIRLING et al., 2008). Em amostras analisadas de cães e gatos, na Áustria, foram identificadas 13 cepas de *Campylobacter* spp. todas com resistência a cefalexina (PÖLZLER; STÜGER; LASSNIG, 2018). Além disso, foi analisado amostras de fezes de bovinos, ovinos, caprinos e suínos, as quais apresentaram 91% de resistência a cefalexina (KARIKARI et al., 2017). A cefalexina é uma cefalosporina de primeira geração que pode ser utilizada no tratamento de patógenos da família *Enterobacteriales* apesar da grande resistência das bactérias a esse antimicrobiano (NGUYEN; GRABER, 2020). A seleção dessa droga levou em consideração o relato dos funcionários do Zoológico da sua utilização para tratamento dos animais do plantel.

A discriminação dos perfis de resistência demonstrou a prevalência do caráter MR especialmente em cepas oriundas de animais, tanto em *Campylobacter* quanto em *Salmonella*. Em humanos, esse caráter foi evidenciado somente para *Salmonella*. A MR a antimicrobianos em animais de zoológico não é prevalente na literatura, Milton et al. (2018) avaliaram fezes de animais de zoológico, seus tratadores e água e alimentos oferecido aos animais, e somente um animal e seu respectivo tratador apresentou *Salmonella* MR a cinco antibióticos. Além disso, Gargano et al., (2021a) investigaram três cepas de *Salmonella* spp. isoladas de animais de zoológico e somente uma apresentou perfil MR, que incluiu resistência a ampicilina,

tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim, kanamicina e ácido nalidíxico. Em estudo realizado com amostras de carcaça de frango e bovinos, pacientes humanos, águas naturais, aves silvestres e animais de zoológico na Finlândia, foi encontrado a maior prevalência de cepas resistentes nos isolados de *Campylobacter jejuni* dos animais de zoológico (5/16 – 31,3%), sendo três co-resistentes e duas MR. Ainda nesse estudo, as cepas de pacientes humanos avaliados apresentaram 11,6% de resistência a antimicrobianos, porém, nenhum isolado obteve perfil multirresistente (OLKKOLA et al., 2016). Foi relatado pelos funcionários do zoológico o uso de penicilina, cefalexina, ceftriaxona, metronidazol, espiramicina/metronidazol, marbofloxacino e ceftiofur no tratamento de enfermidades dos animais do plantel, o que pode ter contribuído para a identificação dos perfis MR nos isolados de animais.

8 CONCLUSÃO

O presente trabalho identificou *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. em mamíferos do plantel e funcionários do Zoológico Municipal de Uberlândia e determinou que não houve influência significativa das estações do ano na prevalência de ambos os gêneros. A presença de *Salmonella enterica* subespécie não *enterica* em três isolados pode não conferir grande importância a saúde pública, mas vale considerar sua relevância nos processos de recombinação gênica. A elevada prevalência de *Salmonella* identificada na ordem *Carnivora*, assim como o primeiro relato de *Salmonella* em veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) e de *Campylobacter* em jupará (*Potos flavus*) traz a inovação ao presente estudo. Um controle mais efetivo deve ser executado na aplicação de agentes antimicrobianos nesses animais considerando os elevados perfis de MR identificados, especialmente nas linhagens isoladas de animais, e a necessidade de estabelecer métodos higiênicos na manipulação desses animais considerando a possibilidade de transmissão de cepas com fenótipos de resistência antimicrobiana idênticos.

REFERÊNCIAS

- ABATE, D.; ASSEFA, N. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates in human stools and animal origin foods in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. **International journal of health sciences**, [S.L], v. 15, n. 1, p. 43–55, 2021.
- ABBASI, E.; VAN BELKUM, A.; GHAZNAVI-RAD, E. Quinolone and Macrolide-Resistant *Campylobacter jejuni* in Pediatric Gastroenteritis Patients from Central Iran. **Microbial Drug Resistance**, [S.L], v. 25, n. 7, p. 1080–1086, 1 set. 2019. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0455>
- ABDEL AZIZ, S. A. et al. Molecular detection of integron and antimicrobial resistance genes in multidrug resistant *Salmonella* isolated from poultry, calves and human in Beni-Suef governorate, Egypt. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, [S.L], v. 7, n. 4, p. 535–542, dez. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.06.005>
- ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. **Journal of Tropical Medicine**, [S.L], v. 2020, p. 1–19, 29 jun. 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4674235>
- ADESIYUN, A. A. et al. SOME BACTERIAL ENTEROPATHOGENS IN WILDLIFE AND RACING PIGEONS FROM TRINIDAD. **Journal of Wildlife Diseases**, [S.L], v. 34, n. 1, p. 73–80, jan. 1998. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-34.1.73>
- AMMAR, A. M. et al. Prevalence, Antimicrobial Susceptibility, Virulence and Genotyping of *Campylobacter jejuni* with a Special Reference to the Anti-Virulence Potential of Eugenol and Beta-Resorcylic Acid on Some Multi-Drug Resistant Isolates in Egypt. **Animals**, [S.L], v. 11, n. 1, p. 3, 22 dez. 2020. <https://doi.org/10.3390/ani11010003>
- ANGULO, F. J. et al. Outbreaks of Enteric Disease Associated with Animal Contact: Not Just a Foodborne Problem Anymore. **Clinical Infectious Diseases**, [S.L], v. 43, n. 12, p. 1596–1602, 15 dez. 2006. <https://doi.org/10.1086/509576>
- BEN ROMDHANE, R.; MERLE, R. The Data Behind Risk Analysis of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Infections. In: [s.l: s.n.]. p. 25–58. https://doi.org/10.1007/978-3-030-65481-8_2
- BORAH, P. et al. Prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes of *Salmonella* serovars isolated from humans and animals. **Veterinary Research Communications**, [S.L], 15 fev. 2022. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09900-z>
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**, Brasília, Ministério da Saúde, , 2018.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Salmonella (Salmonelose)**. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108553](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/salmonella-salmonelose#:~:text=Em geral%2C a infecção causada,hidratação e controlar os sintomas.>>.</p><p>CASAGRANDE PROIETTI, P. et al. Beta-lactam resistance in <i>Campylobacter coli</i> and <i>Campylobacter jejuni</i> chicken isolates and the association between <i>bla</i>OXA-61 gene expression and the action of β-lactamase inhibitors. Veterinary Microbiology, [S.L], v. 241, p. 108553, fev. 2020. <a href=)

CASEY, E.; FITZGERALD, E.; LUCEY, B. Towards understanding clinical campylobacter infection and its transmission: time for a different approach? **British Journal of Biomedical Science**, [S.L], v. 74, n. 2, p. 53–64, 3 abr. 2017. <https://doi.org/10.1080/09674845.2017.1291205>

CDC. **Campylobacter (Campylobacteriosis)**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/campylobacter/faq.html>>.

CDC. **One Health Basics**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html>>.

CHANG, M.-X. et al. Contribution of Different Mechanisms to Ciprofloxacin Resistance in *Salmonella* spp. **Frontiers in Microbiology**, [S.L], v. 12, 6 maio 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.663731>

CHEN, K.; WAI CHI CHAN, E.; CHEN, S. Evolution and transmission of a conjugative plasmid encoding both ciprofloxacin and ceftriaxone resistance in *Salmonella*. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L], v. 8, n. 1, p. 396–403, 1 jan. 2019. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1585965>

CHENG, R. A.; EADE, C. R.; WIEDMANN, M. Embracing Diversity: Differences in Virulence Mechanisms, Disease Severity, and Host Adaptations Contribute to the Success of Nontyphoidal *Salmonella* as a Foodborne Pathogen. **Frontiers in Microbiology**, [S.L], v. 10, 26 jun. 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01368>

CHLEBICZ, A.; ŚLIŻEWSKA, K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [S.L], v. 15, n. 5, p. 863, 26 abr. 2018. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050863>

CHRISTAKI, E.; MARCOU, M.; TOFARIDES, A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. **Journal of Molecular Evolution**, [S.L], v. 88, n. 1, p. 26–40, 28 jan. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09914-3>

CHRISTIDIS, T. et al. A comparative exposure assessment of foodborne, animal contact and waterborne transmission routes of *Salmonella* in Canada. **Food Control**, [S.L], v. 109, p. 106899, mar. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106899>

CLAYTON, J. B. et al. Characterization of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter upsaliensis*, and a novel *Campylobacter* sp. in a captive non-human primate zoological collection. **Journal of Medical Primatology**, [S.L], p. jmp.12393, 9 dez. 2018. <https://doi.org/10.1111/jmp.12393>

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals**. CLSI supplement VET01S. 5. ed. [s.l.] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2020.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. CLSI supplement M100. 32. ed. [s.l.] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2022.

CLYDE, V. L.; RAMSAY, E. C.; BEMIS, D. A. Fecal Shedding of *Salmonella* in Exotic Felids. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [S.L], v. 28, p. 148–152, 1997.

COELHO, L. R. **Equivalência de métodos alternativos ao oficial para determinação de *Salmonella* Enteritidis e Typhimurium em amostras ambientais avícolas**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2012.

CORRADINI, C. et al. Report on the presence of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in fresh meat marketed in Italy. **European Journal of Public Health**, [S.L], v. 31, n. Supplement_3, 20 out. 2021. <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckab165.282>

CRISCUOLO, A. et al. The speciation and hybridization history of the genus *Salmonella*. **Microbial Genomics**, [S.L], v. 5, n. 8, 1 ago. 2019. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000284>

CUBAS, Z. S.; RAMOS, J. C. S.; DIAS, J. L. C. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014.

CUNHA, M. P. V. et al. Bactérias gram-negativas em cardeais (*Paroaria coronata* e *Paroaria dominicana*) apreendidos do tráfico de animais silvestres. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [S.L], v. 53, n. 1, p. 107, 12 abr. 2016. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i1p107-111>

CUYPERS, W. L. et al. Fluoroquinolone resistance in *Salmonella*: insights by whole-genome sequencing. **Microbial Genomics**, [S.L], v. 4, n. 7, 1 jul. 2018. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000195>

DA SILVA, G. P. et al. Validation of a Dehydroepiandrosterone-Sulfate Assay in Three Platyrrhine Primates (*Alouatta caraya*, *Aotus azarae infulatus*, and *Sapajus apella*). **International Journal of Primatology**, [S.L], v. 42, n. 5, p. 722–736, 16 out. 2021. <https://doi.org/10.1007/s10764-021-00239-x>

DA SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5. ed ed. São Paulo: [s.n.].

DAI, L. et al. New and alternative strategies for the prevention, control, and treatment of antibiotic-resistant *Campylobacter*. **Translational Research**, [S.L], v. 223, p. 76–88, set. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.04.009>

DAS, N. et al. An overview of cephalosporin antibiotics as emerging contaminants: a serious environmental concern. **3 Biotech**, [S.L], v. 9, n. 6, p. 231, 24 jun. 2019. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1766-9>

DE WITTE, C. et al. Presence of *Helicobacter* and *Campylobacter* species in faecal samples from zoo mammals. **Veterinary Microbiology**, [S.L], v. 219, p. 49–52, jun. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.014>

DESAI, P. T. et al. Evolutionary Genomics of *Salmonella enterica* Subspecies. **mBio**, [S.L], v. 4, n. 2, maio 2013. <https://doi.org/10.1128/mBio.00198-13>

DEVI, A. et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter jejuni* from New South Wales, Australia. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [S.L], v. 16, p. 76–80, mar. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.09.011>

DRÓZDŹ, M. et al. Zoonotic potential and prevalence of *Salmonella* serovars isolated from pets. **Infection Ecology & Epidemiology**, [S.L], v. 11, n. 1, 1 jan. 2021. <https://doi.org/10.1080/20008686.2021.1975530>

DU, Y. et al. Molecular Identification of Multidrug-Resistant *Campylobacter* Species From Diarrheal Patients and Poultry Meat in Shanghai, China. **Frontiers in Microbiology**, [S.L], v. 9, 31 jul. 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01642>

EFSA. **Campylobacter**. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/campylobacter>>.

- EFSA. *Salmonella*. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella>>.
- EHUWA, O.; JAISWAL, A. K.; JAISWAL, S. *Salmonella*, Food Safety and Food Handling Practices. **Foods**, [S.L], v. 10, n. 5, p. 907, 21 abr. 2021. <https://doi.org/10.3390/foods10050907>
- EL BAABOUA, A. et al. Prevalence and antimicrobial profiling of *Campylobacter* spp. isolated from meats, animal, and human feces in Northern of Morocco. **International Journal of Food Microbiology**, [S.L], v. 349, p. 109202, jul. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109202>
- ESPUNYES, J. et al. Assessing the role of livestock and sympatric wild ruminants in spreading antimicrobial resistant *Campylobacter* and *Salmonella* in alpine ecosystems. **BMC Veterinary Research**, [S.L], v. 17, n. 1, p. 79, 15 dez. 2021. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02784-2>
- EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0. **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing**, [S.L], p. 110, 2022.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, [S.L], v. 19, n. 2, p. 286, fev. 2021. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>
- FACCIOLÀ, A. et al. *Campylobacter*: from microbiology to prevention. **J Prev Med Hyg**, [S.L], n. 58, p. 79–92, 2017.
- FALLACARA, D. M. et al. Survey of Parasites and Bacterial Pathogens from Free-Living Waterfowl in Zoological Settings. **Avian Diseases**, [S.L], v. 48, n. 4, p. 759–767, dez. 2004. <https://doi.org/10.1637/7185-032904R>
- FARIAS, L. F. P. et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Salmonella enterica* in Captive Wildlife and Exotic Animal Species in Ohio, USA. **Zoonoses and Public Health**, [S.L], v. 62, n. 6, p. 438–444, set. 2015. <https://doi.org/10.1111/zph.12170>
- FERNÁNDEZ, J.; GUERRA, B.; RODICIO, M. Resistance to Carbapenems in Non-Typhoidal *Salmonella enterica* Serovars from Humans, Animals and Food. **Veterinary Sciences**, [S.L], v. 5, n. 2, p. 40, 8 abr. 2018. <https://doi.org/10.3390/vetsci5020040>
- FERREIRA, A. C. A. DE O. et al. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* spp. in Aquacultured Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Commercialized in Federal District, Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, [S.L], v. 18, n. 11, p. 778–783, 1 nov. 2021. <https://doi.org/10.1089/fpd.2021.0010>
- FORSYTH, M. B. et al. Investigation of Zoonotic Infections Among Auckland Zoo Staff: 1991–2010. **Zoonoses and Public Health**, [S.L], v. 59, n. 8, p. 561–567, 29 dez. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01496.x>
- GARCÍA, V. et al. Molecular Characterization of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis, Genetic Basis of Antimicrobial Drug Resistance and Plasmid Diversity in Ampicillin-Resistant Isolates. **Microbial Drug Resistance**, [S.L], v. 25, n. 2, p. 219–226, mar. 2019. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0139>
- GARGANO, V. et al. Antibiotic Susceptibility Profile and Tetracycline Resistance Genes Detection in *Salmonella* spp. Strains Isolated from Animals and Food. **Antibiotics**, [S.L], v. 10, n. 7, p. 809, jul. 2021a. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070809>
- GARGANO, V. et al. Can Human Handling Increase the Presence of Multidrug Resistance

(MDR) in *Salmonella* spp. Isolated from Food Sources? **Microorganisms**, [S.L], v. 9, n. 10, p. 2018, 23 set. 2021b. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102018>

GIBREEL, A.; SKÖLD, O. Sulfonamide Resistance in Clinical Isolates of *Campylobacter jejuni*: Mutational Changes in the Chromosomal Dihydropteroate Synthase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S.L], v. 43, n. 9, p. 2156–2160, set. 1999. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.9.2156>

GOPEE, N. V.; ADESIYUN, A. A.; CAESAR, K. RETROSPECTIVE AND LONGITUDINAL STUDY OF SALMONELLOSIS IN CAPTIVE WILDLIFE IN TRINIDAD. **Journal of Wildlife Diseases**, [S.L], v. 36, n. 2, p. 284–293, abr. 2000. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-36.2.284>

HAGOS, Y. et al. Isolation, identification, and antimicrobial susceptibility pattern of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from cattle, goat, and chicken meats in Mekelle, Ethiopia. **PLOS ONE**, [S.L], v. 16, n. 2, p. e0246755, 10 fev. 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246755>

HANSSON, I. et al. Knowledge gaps in control of *Campylobacter* for prevention of campylobacteriosis. **Transboundary and Emerging Diseases**, [S.L], v. 65, p. 30–48, maio 2018. <https://doi.org/10.1111/tbed.12870>

HARAGA, A.; OHLSON, M. B.; MILLER, S. I. *Salmonellae* interplay with host cells. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L], v. 6, n. 1, p. 53–66, jan. 2008. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1788>

HARMON, K. M.; RANSOM, G. M.; WESLEY, I. V. Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by polymerase chain reaction. **Molecular and Cellular Probes**, [S.L], v. 11, n. 3, p. 195–200, jun. 1997. <https://doi.org/10.1006/mcpr.1997.0104>

HONG, Y.-P. et al. Integrative and Conjugative Element-Mediated Azithromycin Resistance in Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Albany. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S.L], v. 65, n. 5, 19 abr. 2021. <https://doi.org/10.1128/AAC.02634-20>

ICHIMI, R.; YOSHINO, A.; HIGASHIGAWA, M. *Salmonella* Stanley bacteremia transmitted from a pet hedgehog. **Pediatrics International**, [S.L], v. 60, n. 6, p. 606–607, jun. 2018. <https://doi.org/10.1111/ped.13580>

INMET. **Estação: UBERLANDIA (A507).** Disponível em: <<https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A507>>.

IWAMOTO, M. et al. Ceftriaxone-Resistant Nontyphoidal *Salmonella* from Humans, Retail Meats, and Food Animals in the United States, 1996–2013. **Foodborne Pathogens and Disease**, [S.L], v. 14, n. 2, p. 74–83, fev. 2017. <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2180>

JAIN, P. et al. Characterization of non-typhoidal *Salmonella* isolates from children with acute gastroenteritis, Kolkata, India, during 2000–2016. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S.L], v. 51, n. 2, p. 613–627, 2 jun. 2020. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00213-z>

JAJERE, S. M. A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. **Veterinary World**, [S.L], v. 12, n. 4, p. 504–521, 6 abr. 2019. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>

JAWAD, A. A.-K.; AL-CHARRAKH, A. H. Outer Membrane Protein C (*ompC*) Gene as the

Target for Diagnosis of *Salmonella* Species Isolated from Human and Animal Sources. **Avicenna journal of medical biotechnology**, [S.L], v. 8, n. 1, p. 42–5, 2016.

JIBRIL, A. H. et al. Association between antimicrobial usage and resistance in *Salmonella* from poultry farms in Nigeria. **BMC Veterinary Research**, [S.L], v. 17, n. 1, p. 234, 2 dez. 2021. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02938-2>

KADHIM, H. M. Review of pathogenicity and virulence determinants in *Salmonella*. **EurAsian Journal of BioSciences**, [S.L], v. 14, p. 377–381, 2020.

KAGAMBÈGA, A. et al. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates. **BMC Microbiology**, [S.L], v. 13, n. 1, p. 253, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-253>

KAGAMBÈGA, A. et al. Whole genome sequencing of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated from humans and poultry in Burkina Faso. **Tropical Medicine and Health**, [S.L], v. 46, n. 1, p. 4, 12 dez. 2018. <https://doi.org/10.1186/s41182-018-0086-9>

KARIKARI, A. B. et al. Antibiotic Resistance of *Campylobacter* Recovered from Faeces and Carcasses of Healthy Livestock. **BioMed Research International**, [S.L], v. 2017, p. 1–9, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/4091856>

KAYMAN, T. et al. Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* isolates recovered from humans with diarrhoea in Turkey. **Journal of Medical Microbiology**, [S.L], v. 68, n. 2, p. 136–142, 1 fev. 2019. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000890>

KEEBLE, E.; KOTERWAS, B. Salmonellosis in Hedgehogs. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, [S.L], v. 23, n. 2, p. 459–470, maio 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2020.01.011>

KIM, S.-H. et al. Review on Stress Tolerance in *Campylobacter jejuni*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S.L], v. 10, 4 fev. 2021. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.596570>

KOIKE, H.; CHIBA, A.; KATSUNO, M. Emerging Infection, Vaccination, and Guillain–Barré Syndrome: A Review. **Neurology and Therapy**, [S.L], v. 10, n. 2, p. 523–537, 12 dez. 2021. <https://doi.org/10.1007/s40120-021-00261-4>

KRELING, V. et al. *Campylobacter* sp.: Pathogenicity factors and prevention methods—new molecular targets for innovative antivirulence drugs? **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.L], v. 104, n. 24, p. 10409–10436, 13 dez. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10974-5>

KUANG, D. et al. Increase in Ceftriaxone Resistance and Widespread Extended-Spectrum β -Lactamases Genes Among *Salmonella enterica* from Human and Nonhuman Sources. **Foodborne Pathogens and Disease**, [S.L], v. 15, n. 12, p. 770–775, dez. 2018. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2468>

KURTZ, J. R.; GOGGINS, J. A.; MCLACHLAN, J. B. *Salmonella* infection: Interplay between the bacteria and host immune system. **Immunology Letters**, [S.L], v. 190, p. 42–50, out. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.07.006>

LALONDE-PAUL, D. et al. Ciprofloxacin resistance among *Campylobacter jejuni* isolates

obtained from shelter dogs in Texas. **Zoonoses and Public Health**, [S.L], v. 66, n. 3, p. 337–342, 9 maio 2019. <https://doi.org/10.1111/zph.12544>

LAMAS, A. et al. A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. **Microbiological Research**, [S.L], v. 206, p. 60–73, jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.010>

LEJEUNE, J. T.; DAVIS, M. A. Outbreaks of zoonotic enteric disease associated with animal exhibits. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 9, p. 1440–1445, 2004. <https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.1440>

LEWIS, C. E.; BEMIS, D. A.; RAMSAY, E. C. POSITIVE EFFECTS OF DIET CHANGE ON SHEDDING OF *Salmonella* SPP. IN THE FECES OF CAPTIVE FELIDS. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [S.L], p. 83–84, 2002. [https://doi.org/10.1638/1042-7260\(2002\)033\[0083:PEODCO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1638/1042-7260(2002)033[0083:PEODCO]2.0.CO;2)

LIMA, D. C. V. DE et al. Microbiologia de swabs retais e otológicos em carnívoros silvestres do zoológico do Parque Estadual de Dois Irmãos, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L], v. 32, n. 2, p. 159–164, fev. 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000200012>

LINTON, D. et al. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. **Journal of Clinical Microbiology**, [S.L], v. 35, n. 10, p. 2568–2572, out. 1997. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.10.2568-2572.1997>

LUCEY, B. et al. Integronlike structures in *Campylobacter* spp. of human and animal origin. **Emerging infectious diseases**, [S.L], v. 6, n. 1, p. 50–5, [s.d.].

LUVSANSCHARAV, U.-O. et al. Exploration of risk factors for ceftriaxone resistance in invasive non-typhoidal *Salmonella* infections in western Kenya. **PLOS ONE**, [S.L], v. 15, n. 3, p. e0229581, 3 mar. 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229581>

LV, R. et al. Detection and Quantification of Viable but Non-culturable *Campylobacter jejuni*. **Frontiers in Microbiology**, [S.L], v. 10, 10 jan. 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02920>

MARCHANT, P. et al. Prevalence of *Salmonella enterica* and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in zoo animals from Chile. **Journal of Veterinary Science**, [S.L], v. 17, n. 4, p. 583, 2016. <https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.4.583>

MARTÍN-MALDONADO, B. et al. Wild Bonelli's eagles (*Aquila fasciata*) as carrier of antimicrobial resistant *Salmonella* and *Campylobacter* in Eastern Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, [S.L], v. 67, p. 101372, dez. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101372>

MCDERMOTT, P. F.; ZHAO, S.; TATE, H. Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*. **Microbiology Spectrum**, [S.L], v. 6, n. 4, 27 jul. 2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0014-2017>

MCWHORTER, A. et al. In vitro invasiveness and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* subspecies isolated from wild and captive reptiles. **Zoonoses and Public Health**, [S.L], v. 68, n. 5, p. 402–412, 2 ago. 2021. <https://doi.org/10.1111/zph.12820>

MILTON, A. A. P. et al. Occurrence, antimicrobial susceptibility patterns and genotypic

relatedness of *Salmonella* spp. isolates from captive wildlife, their caretakers, feed and water in India. **Epidemiology and Infection**, [s.l.], v. 146, n. 12, p. 1543–1549, 14 set. 2018. <https://doi.org/10.1017/S0950268818001553>

MIN, J. et al. Zoo animal manure as an overlooked reservoir of antibiotic resistance genes and multidrug-resistant bacteria. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.L.], 29 jul. 2022. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22279-3>

MITCHELL, M. A.; TULLY, T. N. Zoonotic Diseases. In: **Ferrets, Rabbits, and Rodents**. [s.l.] Elsevier, 2012. p. 557–565. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6621-7.00040-3>

MOTA-GUTIERREZ, J. et al. *Campylobacter* spp. prevalence and mitigation strategies in the broiler production chain. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 104, p. 103998, jun. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.103998>

MTHEMBU, T. P.; ZISHIRI, O. T.; EL ZOWALATY, M. E. Molecular Detection Of Multidrug-Resistant *Salmonella* Isolated From Livestock Production Systems In South Africa. **Infection and Drug Resistance**, [S.L.], v. Volume 12, p. 3537–3548, nov. 2019. <https://doi.org/10.2147/IDR.S211618>

MUTSCHALL, S. K. et al. *Campylobacter jejuni* Strain Dynamics in a Raccoon (*Procyon lotor*) Population in Southern Ontario, Canada: High Prevalence and Rapid Subtype Turnover. **Frontiers in Veterinary Science**, [S.L.], v. 7, 11 fev. 2020. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00027>

NAKAMURA, S. et al. Fatal Salmonellosis in Captive Maras (*Dolichotis patagonum*) Caused by *Salmonella* Enteritidis. **Journal of Comparative Pathology**, [S.L.], v. 156, n. 4, p. 440–445, maio 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2017.01.007>

NCBI. NCBI Taxonomy: *Carnivora*. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=33554>>.

NCBI. Taxonomy: *Procyonidae*. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=9647&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>>.

NGUYEN, H. M.; GRABER, C. J. A Critical Review of Cephalexin and Cefadroxil for the Treatment of Acute Uncomplicated Lower Urinary Tract Infection in the Era of “Bad Bugs, Few Drugs”. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S.L.], v. 56, n. 4, p. 106085, out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106085>

NGUYEN THI, H. et al. Characterization of *Salmonella* spp. Isolates from Swine: Virulence and Antimicrobial Resistance. **Animals**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 2418, 17 dez. 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10122418>

OCTAVIA, S. et al. Azithromycin-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhi AcrB-R717Q/L, Singapore. **Emerging Infectious Diseases**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 624–627, fev. 2021. <https://doi.org/10.3201/eid2702.203874>

OIE. **One Health**. Disponível em: <<https://www.oie.int/en/what-we-do/global-initiatives/one-health/>>.

OLKKOLA, S. et al. Antimicrobial Resistance and Multilocus Sequence Types of Finnish *Campylobacter jejuni* Isolates from Multiple Sources. **Zoonoses and Public Health**, [S.L.], v. 63, n. 1, p. 10–19, fev. 2016. <https://doi.org/10.1111/zph.12198>

- PAVELQUESI, S. L. S. et al. Presence of Tetracycline and Sulfonamide Resistance Genes in *Salmonella* spp.: Literature Review. **Antibiotics**, [S.L], v. 10, n. 11, p. 1314, 28 out. 2021. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111314>
- PEARCE, M. E. et al. A proposed core genome scheme for analyses of the *Salmonella* genus. **Genomics**, [S.L], v. 112, n. 1, p. 371–378, jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.02.016>
- PETRUCCI, E. **CARACTERÍSTICAS DO CLIMA DE UBERLÂNDIA-MG: ANÁLISE DA TEMPERATURA, PRECIPITAÇÃO E UMIDADE RELATIVA**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2018.
- PÖLZLER, T.; STÜGER, H.-P.; LASSNIG, H. Prevalence of most common human pathogenic *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Styria, Austria. **Veterinary Medicine and Science**, [S.L], v. 4, n. 2, p. 115–125, maio 2018. <https://doi.org/10.1002/vms3.93>
- PRINCE MILTON, A. A. et al. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in captive wildlife species of India. **Iranian journal of veterinary research**, [s.l], v. 18, n. 3, p. 177–182, 2017.
- RAMALHO, A. C. et al. Identificação de enterobactérias em macacos-prego-galego (*Sapajus flavius*) mantidos em cativeiro no estado da Paraíba. **Biotemas**, [S.L], v. 28, n. 3, p. 177, 15 maio 2015. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2015v28n3p177>
- RAMATLA, T. et al. Prevalence of Antibiotic Resistance in *Salmonella* Serotypes Concurrently Isolated from the Environment, Animals, and Humans in South Africa: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Antibiotics**, [S.L], v. 10, n. 12, p. 1435, 23 nov. 2021. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121435>
- RODRIGUES, J. A. et al. Epidemiologic Associations Vary Between Tetracycline and Fluoroquinolone Resistant *Campylobacter jejuni* Infections. **Frontiers in Public Health**, [S.L], v. 9, 28 jun. 2021. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.672473>
- ROGERS, S. W. et al. Antibiotic-Resistant Genes and Pathogens Shed by Wild Deer Correlate with Land Application of Residuals. **EcoHealth**, [S.L], v. 15, n. 2, p. 409–425, 9 jun. 2018. <https://doi.org/10.1007/s10393-018-1316-7>
- RUKAMBILE, E. et al. Infection, colonization and shedding of *Campylobacter* and *Salmonella* in animals and their contribution to human disease: A review. **Zoonoses and Public Health**, [S.L], v. 66, n. 6, p. 562–578, 9 set. 2019. <https://doi.org/10.1111/zph.12611>
- SAMU, R.; STACY, N. I.; PYE, G. W. A RETROSPECTIVE REVIEW OF THE CLINICAL UTILITY OF FECAL BACTERIAL ENTERIC PATHOGEN CULTURES IN MAMMALS WITHIN A ZOOLOGICAL COLLECTION AND THE USE OF FECAL CYTOLOGY FOR OPTIMIZATION OF DIAGNOSTIC TESTING. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [S.L], v. 52, n. 2, 11 jun. 2021. <https://doi.org/10.1638/2019-0194>
- SCHARLING, F. S. et al. PREVALENCE OF *Salmonella* SPECIES, *Clostridium perfringens*, AND *Clostridium difficile* IN THE FECES OF HEALTHY ELEPHANTS (*Loxodonta* SPECIES AND *Elephas maximus*) IN EUROPE. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [S.L], v. 51, n. 4, 12 jan. 2021. <https://doi.org/10.1638/2020-0020>
- SHEN, Z. et al. Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. **Microbiology Spectrum**, [S.L], v. 6, n. 2, 6 abr. 2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0013-2017>

- SHI, Q. et al. Prevalence and Characteristics of Ceftriaxone-Resistant Salmonella in Children's Hospital in Hangzhou, China. **Frontiers in Microbiology**, [S.L], v. 12, 22 nov. 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.764787>
- SIDDIQEE, M. H. et al. *Salmonella* from a Microtidal Estuary Are Capable of Invading Human Intestinal Cell Lines. **Microbial Ecology**, [S.L], v. 79, n. 2, p. 259–270, 5 fev. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01419-2>
- SILVA-HIDALGO, G. et al. PREVALENCE OF *Salmonella enterica* SEROVAR ALBANY IN CAPTIVE ZOO WILD ANIMALS IN THE CULIACÁN ZOO IN MEXICO. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [S.L], v. 44, n. 1, p. 8–14, mar. 2013. <https://doi.org/10.1638/1042-7260-44.1.8>
- SILVA-HIDALGO, G. et al. *Salmonella* serovars and antimicrobial resistance in strains isolated from wild animals in captivity in Sinaloa, Mexico. **Japanese Journal of Veterinary Research**, [S.L], v. 62, n. 3, p. 129–134, 2014.
- SITHOLE, V. et al. Occurrence, Antimicrobial Resistance, and Molecular Characterization of *Campylobacter* spp. in Intensive Pig Production in South Africa. **Pathogens**, [S.L], v. 10, n. 4, p. 439, 7 abr. 2021. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040439>
- SMITH, A. M. et al. Similarities between *Salmonella* Enteritidis isolated from humans and captive wild animals in South Africa. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [S.L], v. 8, n. 12, p. 1615–1619, 15 dez. 2014. <https://doi.org/10.3855/jidc.5393>
- SODAGARI, H. R. et al. A Review of the Public Health Challenges of *Salmonella* and Turtles. **Veterinary Sciences**, [S.L], v. 7, n. 2, p. 56, 27 abr. 2020. <https://doi.org/10.3390/vetsci7020056>
- SOWERBY, N. **Identification and genotyping of *Campylobacter* spp. strains isolated from a captive wildlife population in New Zealand**. [s.l.] Auckland University of Technology, 2015.
- SPROSTON, E. L.; WIMALARATHNA, H. M. L.; SHEPPARD, S. K. Trends in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*. **Microbial Genomics**, [S.L], v. 4, n. 8, 1 ago. 2018. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000198>
- SREDNIK, M. E. et al. Antimicrobial resistance and genomic characterization of *Salmonella* Dublin isolates in cattle from the United States. **PLOS ONE**, [S.L], v. 16, n. 9, p. e0249617, 21 set. 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249617>
- STIRLING, J. et al. Prevalence of Gastrointestinal Bacterial Pathogens in a Population of Zoo Animals. **Zoonoses and Public Health**, [S.L], v. 55, n. 3, p. 166–172, abr. 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01099.x>
- SUMAN KUMAR, M. et al. Occurrence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from broiler chicken and slaughter house environment in India. **Animal Biotechnology**, [S.L], p. 1–9, 5 ago. 2021. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1953514>
- SZOTT, V. et al. A Complex Competitive Exclusion Culture Reduces *Campylobacter jejuni* Colonization in Broiler Chickens at Slaughter Age In Vivo. **Veterinary Sciences**, [S.L], v. 9, n. 4, p. 181, 11 abr. 2022. <https://doi.org/10.3390/vetsci9040181>
- TACK, D. M. et al. Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites,

2015–2018. **American Journal of Transplantation**, [s.l], v. 19, n. 6, p. 1859–1863, 2019. <https://doi.org/10.1111/ajt.15412>

TEGNER, C. et al. Detection, Identification, and Antimicrobial Susceptibility of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. from Free-Ranging Nonhuman Primates in Sri Lanka. **Journal of Wildlife Diseases**, [S.L], v. 55, n. 4, p. 879, 9 out. 2019. <https://doi.org/10.7589/2018-08-199>

THÉPAULT, A. et al. Dogs and Cats: Reservoirs for Highly Diverse *Campylobacter jejuni* and a Potential Source of Human Exposure. **Animals**, [S.L], v. 10, n. 5, p. 838, 12 maio 2020. <https://doi.org/10.3390/ani10050838>

TRAN-DIEN, A. et al. Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.L], v. 18, n. 2, p. 207–214, fev. 2018. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30705-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30705-3)

TRYJANOWSKI, P. et al. *Campylobacter* in wintering great tits *Parus major* in Poland. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.L], v. 27, n. 7, p. 7570–7577, 29 mar. 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07502-y>

WALLACE, R. L. et al. Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* spp. Causing Human Infection in Australia: An International Comparison. **Microbial Drug Resistance**, [S.L], v. 27, n. 4, p. 518–528, 1 abr. 2021. <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0082>

WATTS, D. P. Meat eating by nonhuman primates: A review and synthesis. **Journal of Human Evolution**, [S.L], v. 149, p. 102882, dez. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2020.102882>

WEN, S. C.; BEST, E.; NOURSE, C. Non-typhoidal *Salmonella* infections in children: Review of literature and recommendations for management. **Journal of Paediatrics and Child Health**, [S.L], v. 53, n. 10, p. 936–941, out. 2017. <https://doi.org/10.1111/jpc.13585>

WHO. **Critically important antimicrobials for human medicine**. 6th revisi ed. Geneva: WHO, 2018.

WHO. **One Health**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/one-health>>.

WHO. **Zoonoses**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>>.

WHO. **Salmonella (non-typhoidal)**. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>.

WHO. **Campylobacter**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>>.

WITTWER, M. et al. Genetic Diversity and Antibiotic Resistance Patterns in a *Campylobacter* Population Isolated from Poultry Farms in Switzerland. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.L], v. 71, n. 6, p. 2840–2847, jun. 2005. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.2840-2847.2005>

WONG, M. H. Y. et al. Emergence of Clinical *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Isolates with Concurrent Resistance to Ciprofloxacin, Ceftriaxone, and Azithromycin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S.L], v. 58, n. 7, p. 3752–3756, jul. 2014. <https://doi.org/10.1128/AAC.02770-13>

- WOŹNIAK-BIEL, A. et al. High Prevalence of Resistance to Fluoroquinolones and Tetracycline *Campylobacter* Spp. Isolated from Poultry in Poland. **Microbial Drug Resistance**, [S.L], v. 24, n. 3, p. 314–322, abr. 2018. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0249>
- WÜRFEL, S. DE F. R. et al. Comprehensive characterization reveals antimicrobial-resistant and potentially virulent *Campylobacter* isolates from poultry meat products in Southern Brazil. **LWT**, [S.L], v. 149, p. 111831, set. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111831>
- XIONG, Z. et al. Ciprofloxacin-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Kentucky ST198 in Broiler Chicken Supply Chain and Patients, China, 2010–2016. **Microorganisms**, [S.L], v. 8, n. 1, p. 140, 19 jan. 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010140>
- YAGI, S.; OKADA, A.; INOSHIMA, Y. Role of temperature, nutrition, oxygen, osmolality, and bacterial strain in inducing a viable but non-culturable state in *Campylobacter jejuni*. **Journal of Microbiological Methods**, [S.L], v. 195, p. 106456, abr. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106456>
- YANG, Y. et al. A Historical Review on Antibiotic Resistance of Foodborne *Campylobacter*. **Frontiers in Microbiology**, [S.L], v. 10, 26 jul. 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01509>
- YIN, Y.; ZHOU, D. Organoid and Enteroid Modeling of Salmonella Infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S.L], v. 8, 4 abr. 2018. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00102>
- YON, L. et al. RECENT CHANGES IN INFECTIOUS DISEASES IN EUROPEAN WILDLIFE. **Journal of Wildlife Diseases**, [S.L], v. 55, n. 1, p. 3, 1 jan. 2019. <https://doi.org/10.7589/2017-07-172>
- ZARKANI, A. A.; SCHIKORA, A. Mechanisms adopted by *Salmonella* to colonize plant hosts. **Food Microbiology**, [S.L], v. 99, p. 103833, out. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103833>
- ZENEBE, T.; ZEGEYE, N.; EGUALE, T. Prevalence of *Campylobacter* species in human, animal and food of animal origin and their antimicrobial susceptibility in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, [S.L], v. 19, n. 1, p. 61, 10 dez. 2020. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00405-8>
- ZENG, X. et al. Serotypes, antibiotic resistance, and molecular characterization of non-typhoidal *Salmonella* isolated from diarrheic patients in Guangxi Zhuang Autonomous Region, China, 2014–2017. **Food Control**, [S.L], v. 120, p. 107478, fev. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107478>
- ZLAMAL, J. E. et al. Shared and Unique Evolutionary Trajectories to Ciprofloxacin Resistance in Gram-Negative Bacterial Pathogens. **mBio**, [S.L], v. 12, n. 3, 29 jun. 2021. <https://doi.org/10.1128/mBio.00987-21>