

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

GABRIEL HENRIQUE SANTOS DE BRITTO

**Aves de cativeiro podem excretar sorotipos de *E. coli*
multirresistentes causadores de diarreia**

UBERLÂNDIA
2023

Aves de cativeiro podem excretar sorotipos de *E. coli* multirresistentes causadores de diarreia

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Belchiolina Beatriz Fonseca

UBERLÂNDIA
2023

Aves de cativeiro podem excretar sorotipos de *E. coli* multirresistentes causadores de diarreia

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Uberlândia, 28 de junho de 2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Belchiorina Beatriz Fonseca

Prof. Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi

Abel Dib Rayashi

Dedico esse trabalho, em especial a meus pais,
Luiz Henrique e Camila, que não mediram esforços
para que minha graduação fosse finalizada, com certeza
são os principais responsáveis por esse feito

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por me conceder saúde e discernimento para que eu pudesse concluir essa etapa da maneira mais valorosa possível. Agradeço a minha orientadora Prof. Dr. Belchiolina Beatriz da Fonseca, pela oportunidade de trabalhar através desse estudo com o segmento que tanto estimo. Praticidade e excelência são palavras que a definem, e que levarei como exemplo para a vida.

Agradeço a todos os integrantes do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LADOC), em especial a Lara, Simone e Maysa por todo auxílio durante minha pesquisa. Vocês foram essenciais para a conclusão desse trabalho, e com certeza, guardarei na lembrança todas as conversas e ensinamentos.

Agradeço aos meus amigos e colegas de turma durante a graduação, por todos os momentos vividos juntos. A todos meus amigos que passaram pela República onde morei durante esses 5 anos. Desde Gustavo e Hugo, até Pedro e Thiago, vocês fizeram com que esse período fosse mais alegre. E, a todos amigos da minha cidade natal, que sempre se fizeram presentes em minha trajetória.

Agradeço minha família, meus avós e meu irmão, que estiveram torcendo por mim a todo momento, o carinho e confiança que sempre me passaram fez total diferença. A minha namorada, por todo respaldo e companheirismo nesse momento tão decisivo.

Por fim, quero deixar meu eterno obrigado aos meus pais, que sem dúvidas, fazem com que esse momento seja ainda mais especial, agradeço por tudo que fizeram por mim até aqui, pela confiança e zelo que sempre tiveram.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	9
2.	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1.	Domesticação de aves silvestres e exóticas	11
2.2.	Controle e monitoramento de doenças em aves silvestres e exóticas	12
2.3.	Doenças bacterianas de aves silvestres e exóticas	14
2.3.1.	<i>Escherichia coli</i>	15
2.3.2.	<i>Salmonella</i> spp.	17
2.3.3.	<i>Campylobacter</i>	19
2.3.4.	<i>Mycoplasma</i> spp	20
2.4.	Resistência antimicrobiana	21
3.	OBJETIVO	22
4.	MATERIAS E MÉTODOS	23
4.1.	Amostras	23
4.2.	Isolamento microbiológico de <i>Campylobacter</i>	25
4.3.	Isolamento microbiológico de <i>Salmonella</i> spp.	25
4.4.	Isolamento e caracterização de <i>Escherichia coli</i>	26
4.4.1.	Bioquímica para identificação de <i>E. coli</i>	26
4.4.2.	PCR para confirmação de <i>E. coli</i>	26
4.4.3.	Identificação de genes de virulência para caracterização de APEC	27
4.4.4.	Sorologia das <i>E. coli</i> isoladas	27
4.5.	Teste de sensibilidade a antimicrobianos	28
4.6.	Identificação molecular de <i>Mycoplasma</i>	28
5.	RESULTADOS	29
6.	DISCUSSÃO	33
7.	CONCLUSÃO	37
8.	REFERÊNCIAS	39

RESUMO

As aves de vida livre são consideradas reservatórios de diversas enfermidades, entre elas as zoonóticas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi investigar e caracterizar a presença dos patógenos zoonóticos (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.) e patógenos importantes para o Programa Nacional de Sanidade avícola (*Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*) em aves silvestres e exóticas e de cativeiro e avaliar o potencial risco desses patógenos para as aves e para o ser humano. Para a execução do projeto, foram coletadas amostras *pool* de fezes de aves, em dois diferentes locais, o Laboratório de Ensino em Animais Silvestres (LAPAS), pertencente a Universidade Federal de Uberlândia – UFU (local onde acolhem aves silvestres e exóticas, vítimas de apreensões, doações e acidentes) e em um criadouro comercial de psitacídeos exóticos localizado em Santa Cruz das Palmeiras - SP, por um período de 4 semanas consecutivas. Em nenhuma das amostras foi isolada *Campylobacter* spp ou *Salmonella* spp. Também não houve identificação de *M. gallisepticum* e *M. synoviae*. Como era esperado, foram isoladas *E. coli* confirmadas pelas provas bioquímicas em 11 amostras, no entanto, apenas 9 foram confirmadas por PCR, as quais, posteriormente, foram caracterizadas em que 11,11% (1/9) era enteroinvasora e 66,66% (6/9) era enteropatogênica. No estudo, foram utilizados 8 diferentes antibióticos compreendidos em 5 classes diferentes: Ampicilina (AMP), da classe das Penicilinas, Azitromicina (AZI), um Macrolídeo, Ceftriaxona (CRO) e Ceftiofur (CTF), Cefalosporinas de 3ª geração, Ciprofloxacina (CIP), Norfloxacina (NOR) e Levofloxacina (NOR) pertencentes às Quinolonas e Polimixina B (POLI B). Um total de 66,66% (6/9) das *E. coli* isoladas foram classificadas como multirresistentes. As resistências ocorreram apenas em bactérias isoladas no LAPAS. O maior nível de resistência foi às quinolonas. Esse trabalho mostra que alguma pressão de seleção promoveu a resistência aos antimicrobianos em *E. coli* isoladas de aves silvestres e exóticas, vítimas de apreensões, doações e acidentes e que essas bactérias além de potencial zoonótico podem disseminar genes de virulência, levando a um problema de saúde pública.

Palavras-chave: EPEC, EIEC, resistência antimicrobiana, aves silvestres

ABSTRACT

Free-living birds are considered reservoirs of several diseases, including zoonotic ones. Thus, the objective of this work was to investigate and characterize the presence of zoonotic pathogens (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp.) and important pathogens for the National Poultry Health Program (*Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*) in wild and exotic birds and of captivity and evaluate the potential risk of these pathogens for birds and humans. For the execution of the project, pool samples of bird feces were collected, in two different places, the Laboratory of Teaching in Wild Animals (LAPAS), belonging to the Federal University of Uberlândia - UFU (place where wild and exotic birds, victims of apprehensions, donations and accidents) and in a commercial breeding of exotic parrots located in Santa Cruz das Palmeiras - SP, for a period of 4 consecutive weeks. In none of the samples was *Campylobacter* spp or *Salmonella* spp isolated. There was also no identification of *M. gallisepticum* and *M. synoviae*. As expected, *E. coli* confirmed by biochemical tests were isolated in 11 samples, however, only 9 were confirmed by PCR, which were later characterized in which 11.11% (1/9) was enteroinvasive and 66, 66% (6/9) was enteropathogenic. In the study, 8 different antibiotics comprising 5 different classes were used: Ampicillin (AMP), from the Penicillin class, Azithromycin (AZI), a Macrolide, Ceftriaxone (CRO) and Ceftiofur (CTF), 3rd generation Cephalosporins, Ciprofloxacin (CIP), Norfloxacin (NOR) and Levofloxacin (NOR) belonging to Quinolones and Polymyxin B (POLY B). A total of 66.66% (6/9) of the isolated *E. coli* were classified as multiresistant. Resistance occurred only in bacteria isolated in LAPAS. The highest level of resistance was to quinolones. This work shows that some selection pressure promoted resistance to antimicrobials in *E. coli* isolated from wild and exotic birds, victims of apprehensions, donations, and accidents and that these bacteria, in addition to their zoonotic potential, can disseminate virulence genes, leading to a problem of public health.

Keywords: APEC, EPEC, EIEC, antimicrobial resistance, wild birds

1. INTRODUÇÃO

Historicamente, o ser humano, é acostumado a criar aves silvestres e exóticas como *pets*, entretanto, deixam de lado muitas vezes, alguns cuidados necessários para com as espécies. Dessa forma, manejos precários debilitam esses animais, o que acarreta a baixa de imunidade e aumento da susceptibilidade às doenças infecciosas, causando enfermidades respiratórias relativamente comuns, o que reduz a longevidade e aumenta a mortalidade de indivíduos, tanto em vida livre como em cativeiro (CUBAS, 2004; KEUSH; FARTHING, 1986; SANTOS et al, 2008).

As doenças humanas compartilhadas com a vida selvagem possuem múltiplos hospedeiros. As aves por exemplo, desempenham um papel significativo na manutenção de patógenos, gerando grandes impactos na saúde humana, economia global, manejo e conservação da vida selvagem e da biodiversidade (GORTAZAR et al, 2015).

No âmbito de doenças bacterianas três espécies se destacam por estarem relacionadas a saúde humana: *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. Além desse grupo, patógenos como, *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma sinoviae*, do gênero *Mycoplasma*, são importantes causadores de doenças em aves (OAKS et al., 2004; CARVALHO et al., 2017; TEIXEIRA, 2019; CHUEIRI, 2022)

Existem vários sorogrupos de *E. coli* em animais e humanos, os quais, podem ser divididos em dois grandes grupos: as intestinais, que são *E. coli* diarreio-genicas (DEC) e as extra intestinais que causam infecção em outros locais que não o intestino (ExPEC) (KÖHLER et al., 2011). Em aves, o grupo denominado Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) é uma ExPEC, responsável por causar doenças extra intestinais graves de grande prejuízo para aves de produção (NOLAN et al., 2020). Algumas APECs podem ser zoonóticas (NOLAN et al., 2020), mas pouco se sabe sobre a relação desses patógenos com aves selvagens ou de cativeiro. Outros sorogrupos de *E. coli* podem levar a diferentes doenças em humanos, como: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) e seu subgrupo, *E.coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de adesão difusa (DAEC) e *E. coli* aderente invasora (AIEC). Há relatos de aves carreadoras de *E. coli*

causando de doença em humano (CLEMENTS et al, 2012, LOURENÇO, 2014; BORGES et al, 2017) porém, no Brasil, investigações nessa linha são incomuns.

As salmoneloses, são enfermidades que possuem grande relevância na saúde pública, por conta de sua morbidade, potencial epidêmico e dificuldade no seu controle, fatores esses, desencadeados pelas variadas fontes e vias de infecção e transmissão que seu ciclo infeccioso oferece. São bactérias que podem colonizar o trato digestório de aves, répteis e mamíferos, dentre eles o homem (LOPES et al, 2016). Nas aves, os sorogrupos encontrados são *Salmonella* Gallinarum, que causa o tifo aviário, *Salmonella* Pullorum, causadora da pulorose, e o paratifo aviário, enfermidade causada por todas *Salmonellas*, com exceção das citadas acima (CDC, 2015; FERREIRA et al., 2008). *Salmonellas* paratíficas são zoonoses importantes, mas ainda pouco estudadas em aves silvestres ou de cativeiro.

A *Campylobacter* é a primeira causa de gastroenterite humana (podendo ser também associada a infecções extraintestinais). Pouco se sabe sobre a relação dessa bactéria com aves selvagens (YOGASUNDRAM, 1989, CHUEIRI, 2022).

A micoplasmose é uma doença causada pelos *Mycoplasma* spp. Ao todo, existem mais de 120 espécies de micoplasmas descritas, sendo divididas em oito gêneros, sendo as espécies: *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *M. meleagridis* (MM), e *M. synoviae* (MS), do gênero *Mycoplasma*, as únicas que possuem importância clínica para aves selvagens, com a MG, sendo a única com reconhecida importância para psitacídeos (FRIEND E FRASON; 1999; CAVALHEIRO, 2001; DYBVIG E VOELKER, 1996; GERLACH, 1994; KLEVEN, 2008; QUINN ET AL., 2005). As três espécies de *Mycoplasma* citados são importantes para economia do Brasil já que a doença está inserida dentro do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) (BRASIL, 2018) e pássaros no geral podem servir como disseminadores desses patógenos para aves industriais.

Além de serem potenciais zoonoses, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni* e *E. coli*, são listadas como preocupantes pelo CDC e a OMS, pela facilidade de adquirirem e disseminarem genes de resistência aos antimicrobianos (OMS, 2021). Um dos fatores responsáveis pela geração de bactérias multirresistentes é o uso indiscriminado de antibióticos que além de resultar em um problema de saúde pública, pode levar ao fracasso do tratamento de enfermidades de aves de cativeiro, como em centros de triagem e reabilitação, parques zoológicos, criadouros conservacionistas,

científicos ou comerciais (KAGAMBÈGA et al., 2013; CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES, 2020; CDC, 2022).

Dessa forma, entender melhor a circulação de patógenos zoonóticos ou patógenos inseridos dentro do PNSA em aves de cativeiro e de vida livre, é um dos pontos básicos para avaliar como eventuais desequilíbrios no meio ambiente pode provocar ameaças para saúde de humanos e animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Domesticação de aves silvestres e exóticas

A domesticação de animais para fins de companhia foi iniciada ainda no período pré-histórico, onde cães e gatos se popularizaram rapidamente (TATIBANA e COSTA-VAL, 2009). Atualmente, fatores como a verticalização de cidades e a população ficando cada vez menos em suas residências, fizeram com que as aves ganhassem espaço no mercado pet, as quais, comparadas a outros animais, possui manejo pouco complexo, longevidade e maior diversidade de espécies (COSTA, 2009). Atualmente, são descritas mais de 9.700 espécies de aves no mundo, com esse valor variando ao longo dos séculos (CHAPMAN, 2009).

Em 1998, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), através da Portaria Nº 93, de 7 de julho de 1998, definiu como animais silvestres, incluindo as aves, às espécies nativas, migratórias e quaisquer outras, aquáticas ou terrestres, que tenham sua vida ou parte dela ocorrendo naturalmente dentro dos limites do território brasileiro e suas águas jurisdicionais. Contraposta a essa definição, são consideradas aves exóticas, aquelas advindas de outros países, que tenham entrado espontaneamente pelas fronteiras brasileiras, ou espécies e subespécies introduzidas pelo homem, inclusive as domésticas (FRAGA, 2014).

A fauna brasileira, possui extensa variedade de animais silvestres, abrigando a terceira maior biodiversidade do mundo, com cerca de 1.826 espécies descritas, com esse número aumentando a cada ano. Esses, são encontrados na natureza ou em cativeiro, como em institutos de pesquisa, centros de triagem e reabilitação, parques zoológicos, criadouros conservacionistas, científicos ou comerciais, além de

domicílios (criados legalmente ou não, como animais de estimação). Nesse âmbito, as aves englobam um numeroso grupo, com mais de 240 espécies, com parte delas ameaçadas de extinção e algumas consideradas extintas (CUBAS, 2004; ICMBIO, 2011; MACHADO et al. 2010).

No Brasil as aves são os animais silvestres mais comercializados devido à preferência destas pelos compradores devido a extensa diversificação e diferenças entre espécies. A maior procura pelo comércio é de psitacídeos, pela inteligência, beleza e principalmente, pelo fato de imitarem a voz humana. Em contrapartida, os passeriformes são as aves mais apreendidas no comércio ilegal devido à facilidade de captura e pela tradição da criação de pássaros em gaiolas no país, que se estende ao longo de várias décadas (RENCTAS, 2011).

2.2. Controle e monitoramento de doenças em aves silvestres e exóticas

Historicamente, o ser humano, é acostumado a criar aves silvestres e exóticas como *pets*, entretanto, deixam de lado muitas vezes, alguns cuidados necessários com essas espécies. Na maioria dos casos, aves mantidas em cativeiro se encontram em condições precárias. Essa precariedade está relacionada com as instalações e o manejo alimentar, onde dietas desbalanceadas, à má qualidade do ar inalado, acúmulo de patógenos em ambientes fechados e a falta de raios solares, debilitam esses animais, aumentando a susceptibilidade às doenças infecciosas. Esses fatores podem causar enfermidades respiratórias relativamente comuns, o que reduz a longevidade e aumenta a mortalidade de indivíduos, tanto em vida livre como em cativeiro. Tão importante quanto, em outras ocasiões, a falta de manejo adequado, pode ser responsável por tornar aves, reservatórios e portadoras de zoonoses (CUBAS, 2004; KEUSH; FARTHING, 1986; SANTOS et al, 2008).

Embora os dados sobre a incidência e distribuição de patógenos causadores de doenças em aves de vida livre e cativas no Brasil sejam pouco conhecidos (FRAGA 2014), as doenças infecciosas catalogadas, em destaque aquelas relacionadas a animais de vida livre, vem crescendo muito nos últimos anos (SEHGAL, 2010). As bactérias, fungos, vírus e protozoários são exemplos de agentes infecciosos capazes de causar doença clínica e assintomática em aves silvestres e exóticas, as quais, podem desenvolver uma gama de enfermidades. As perturbações ambientais

causadas pelo homem podem favorecer a disseminação de doenças, uma vez que promove adensamentos de populações animais, principalmente pela fragmentação do habitat. A concentração populacional promove o aumento de disputas intra ou interespecíficas que antes não existiam, esses fatores acabam gerando estresse e consequentemente diminuindo a imunidade dos indivíduos (ANDRIOLO, 2006). Dessa forma, quando as aves saem em busca de novos nichos e, uma vez infectadas, estes animais acabam tornando-se potenciais carreadores de patógenos para áreas onde ainda não havia (RAPPOLE; HUBÁLEK, 2003).

O estudo dessas enfermidades em aves de cativeiro e vida livre é essencial, e representa um importante problema de saúde pública, afetando todos os continentes e milhares de pessoas, uma vez que, evitar a disseminação de doenças é fundamental, tanto para o controle de patógenos nas próprias aves, como para evitar a infecção e propagação em casos de zoonoses. Centenas de patógenos e inúmeros modos de transmissão diferentes estão envolvidas e vários fatores influenciam a epidemiologia das zoonoses. As aves podem ser consideradas reservatório dessas patogenias, porém em alguns casos pode desenvolver a enfermidade e se tornar um indivíduo sintomático (GARGIULO, 2018; KRUSE et al., 2004).

A prevenção e o controle eficaz destas zoonoses requerem abordagens interdisciplinares e holísticas, além de cooperação em âmbito internacional (KRUSE et al., 2004; GRESPAN et al. 2014). Entre os métodos mais eficazes para a defesa da avifauna destaca-se a investigação, por meio da condição sanitária e clínica de animais em criatórios e soltos na natureza para a obtenção de dados sanitários e posterior utilização dessas informações como ferramenta de subsídio na manutenção das espécies, a fim de impedir surtos de doenças, contaminação de ambientes naturais, decaimento de populações ou ainda sua extinção (DASZAK et al., 2004; DEEM; KARESH; WEISMAN, 2001, SAIDENBERG et al., 2012).

Ainda vale destacar que a capacidade de laboratórios em diagnosticar patógenos, pesquisa, treinamento e comunicação, são elementos-chave para o sucesso do diagnóstico e o combate as zoonoses, além do acompanhamento do médico veterinário especialista em animais selvagens em um plantel, conduta a qual ainda é rara no Brasil. (KRUSE et al., 2004; GRESPAN et al. 2014).

2.3. Doenças bacterianas de aves silvestres e exóticas

As doenças bacterianas de aves possuem grande relevância clínica para a saúde pública, devido à alta morbidade e muitas vezes alta mortalidade de aves silvestres e exóticas, mantidas ou não em cativeiro. As aves de vida livre são consideradas reservatórios de diversas enfermidades, entre elas as zoonóticas, portanto, são alvo de diversos estudos afim de relatar quais agentes infecciosos são capazes de se hospedar nesses animais e se disseminar de forma indireta ou direta, causando danos a outras aves e a espécie humana (GARGIULO et al, 2018).

A família *enterobacteriaceae* apresenta como característica morfológica a forma de bacilos, medindo em média entre um e cinco μm , com anaerobiose facultativa, sendo fermentadoras de glucose, oxidase negativas, e algumas espécies móveis e outras não móveis. Constituem o maior e mais heterogêneo grupo de patógenos gram negativos de importância médica, sendo responsáveis por uma grande variedade de infecções nosocomiais, desde leves infecções urinárias, pneumonia e infecções do trato respiratório, trato digestórios e em casos mais severos, septicemias (LOSCH, 2008; SILVA, 2010).

Os principais gêneros são *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* e *Yersinia*, os quais são agrupados em três grupos, segundo sua patogenicidade: patogenicidade incerta, representados pelas *Enterobacter* e *Proteus*; patógenos oportunistas, como bactérias do gênero *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella* e *Citrobacter* e patógenos de alta patogenicidade para animais, onde se encontram algumas *Salmonella*, *Yersinia* e *Escherichia coli*. Essas bactérias podem ser tanto causadoras de doenças de forma direta, quanto serem constituintes da flora comensal de seres humanos, podendo ou não, provocar infecções oportunistas. São microrganismos encontrados em ambiente naturais, seja terrestre ou aquático (ALLEGRETTI, 2009; SAIDENBERG, 2012; CANTON e MOROSINI, 2011).

Infecções bacterianas representam uma das principais causas de óbitos aves silvestres (de cativeiro ou não) e de produção. As bactérias gram negativas da família *enterobacteriaceae* são patógenos comumente isolados em aves, sendo responsáveis em muitos casos por baixas significantes em plantéis e bandos de vida livre, contrariando alguns autores, que as consideram agentes oportunistas,

menosprezando a real importância desse grupo de bactérias na saúde dos animais selvagens (PEREZ et al. 2007).

2.3.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, é um bastonete gram negativo, da família *Enterobacteriaceae*. Embora *E. coli* possa ser comensal para aves, algumas estirpes são patogênicas e levam a chamada colibacilose aviária. Em humanos, *E. coli* é responsável por cerca de 40 a 50% dos casos de septicemias por bactérias Gram-negativas. É uma bactéria não esporulada, anaeróbica facultativa, com metabolismo respiratório e fermentativo (CAMPOS et al, 1999, MORAIS et al, 2019).

A presença de *E. coli* no trato digestório de psitacídeos, assim como em outras espécies de aves, é vista como prejudicial, pois esse microrganismo patogênico, pode se recombinar e expressar cepas adaptadas ao meio, tornando-se capaz de causar diversas doenças. Dessa forma, a gravidade do quadro clínico, estará ligado a virulência do patógeno infectante (LISBOA, 2008; KNOBL et al., 2008; DHO-MOULIN, 1999).

Existem vários sorogrupos de *E. coli* que podem ser divididos em dois grandes grupos: as intestinais que são *E. coli* diarreiogênicas (DEC) e as extra intestinais que causam infecção em outros locais que não o intestino (ExPEC) (KÖHLER et al., 2011). Além da classificação nesses dois grandes grupos, a *E. coli* pode ser classificada de duas formas diferentes, por meio de sorotipos de antígenos, sendo eles: somático (O), capsular (K), flagelar (H) e *pili* (F) e em patotipos, variando esses de acordo com os aspectos clínicos e os genes responsáveis pela expressão de fatores de virulência. Nessa classificação, podemos citar: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* de meningite neonatal (NMEC), *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* enteroagregativa (EaggEC), *E. coli* produtora de shigatoxina (STEC) e *E. coli* patogênica para aves (APEC), sendo essa, a principal cepa causadora de morbidade e mortalidade em aves silvestres e exóticas (SAIF et al, 2004; SAINDENBERG et al., 2012; GYLES et al., 2010; KNOBL et al., 2004).

A maioria das manifestações de doenças causadas pela *E. coli*, são relatadas como cepas extra intestinais e secundárias a outros agentes patogênicos, porém,

existem outros dois tipos de isolados para essa bactéria, que variam de acordo com suas características genéticas e comportamento clínico, são elas, cepas comensais intestinais e cepas entéricas. Apesar de existir diferença entre cepas de *E. coli*, as quais se estratificam entre mais ou menos patogênicas, diversos fatores devem ser considerados para se qualificar a virulência da *E. coli* em contato com aves de cativeiro e seu potencial em causar enfermidades a esses animais e ao ser humano (SAINDENBERG et al., 2012; ALMEIDA et al., 2017).

Nas aves, as infecções por APEC, estão associadas a falta de manejo sanitário, nutricional e de bem-estar. Os principais sinais clínicos nestes animais são pneumonia, sinusite e doenças entéricas, podendo apresentar quadros de sepse. A transmissão da doença acontece por meio da inalação de partículas contaminadas, ingestão de água e alimentos contaminados com a cepa, e contato com fezes e secreções contaminadas, nas quais essa bactéria pode sobreviver no ambiente por longos períodos, o que permite maior disseminação do patógeno e infecção de animais saudáveis. (MATTES et al., 2005; BOWMAN e JACOBSON, 1980; LA RAGIONE e WOODWARD, 2002).

Escherichia coli enteropatogênica (EPEC) é considerada uma das principais causas de diarreia infantil em países em desenvolvimento, devido à sua alta prevalência nas comunidades, ambientes hospitalares e pelo fato de ser uma das principais causas de diarreia persistente. Os primeiros casos relatados aconteceram em 1955, quando uma série de cepas de *E. coli*, associadas a surtos de diarreias nas décadas de 1940 e 1950, foram descritas. Atualmente, as diarreias são responsáveis por 1,3 milhão de mortes anuais em lactantes e crianças (NETER et al., 1955; OCHOA e CONTRERAS, 2011).

Ao comparar os aspectos clínicos de diarreia causada por EPEC a outros agentes patogênicos, crianças com infecções por EPEC são mais propensas a deixar de responder a terapia de reidratação oral (TRO), adquirem intolerância ao leite de vaca, necessitam de hospitalização e desenvolvem diarreia persistente (FAGUNDES-NETO; SCALETISKY, 2000).

O diagnóstico molecular para EPEC é o mais utilizado. A bactéria causa uma lesão histopatológica característica conhecida por “*Attaching and Effacing*” (lesão A/E) a qual destrói as microvilosidades intestinais, se aderindo intimamente ao epitélio, ocasionando acentuada reorganização das proteínas do citoesqueleto dos

enterócitos, que, por fim, culmina no aparecimento de estruturas na forma de pedestais, sobre as quais, a EPEC se encontra aderidas (NATARO; KAPER, 1998). Essas bactérias podem ser classificadas em típicas (EPEC-t) e atípicas (EPEC-a) em virtude do seu genoma e fatores de virulência (MOURA, 2009; SANTOS, 2022).

A gastroenterite grave é uma doença bacteriana que gera aproximadamente 800.000 mortes anuais. Tem como seu principal patógeno, *E. coli* diarreiogênica (DEC), grupo no qual se encontra a *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), bactéria responsável por causar disenteria bacilar semelhante à *Shigella* em crianças e adultos. Infecções por EIEC ocorrem em todo o mundo, no entanto, são particularmente comuns em países de baixa renda e com falta de higiene. Suas características bioquímicas, genéticas e patogênicas são semelhantes à *Shigella* spp, porém não possui a toxina Shiga (LAN et al., 2004; PARSOT, 2005; SAVARI et al, 2020).

A disenteria bacilar pode causar febre, cólicas abdominais, fezes com presença de sangue e pus, e diarreia associadas ou não a vômito. A EIEC pode causar invasão e penetração das células epiteliais do cólon. Após a penetração na mucosa colonizada, a bactéria prolifera intracelularmente e se espalha para as células adjacentes, destruindo a barreira epitelial intestinal. Essa capacidade de invadir e colonizar a superfície das células epiteliais é influenciada por muitos fatores de virulência. Seu diagnóstico é feito por métodos bioquímicos (SAVARI et al, 2020; FARAJZADEH-SHEIKH et al, 2020).

2.3.2. *Salmonella* spp.

As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família *Enterobacteriaceae*, morfologicamente classificadas como bastonetes gram negativos, anaeróbios facultativos, oxidase negativas. São considerados bacilos curtos, 0,7 a 1,5 x 2,5 µm, não formadores de esporos e com exceção da *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum, são móveis com flagelos (SILVA et al., 2010; CARVALHO et al., 2005).

As salmoneloses, são enfermidades que possuem grande relevância na saúde pública, por conta de sua morbidade, potencial epidêmico e dificuldade no seu controle, fatores esses, desencadeados pelas variadas fontes e vias de infecção e transmissão que seu ciclo infeccioso oferece. São bactérias que podem colonizar o

trato digestório de aves, répteis e mamíferos, dentre eles o homem (LOPES et al, 2016).

O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies de acordo com o esquema de Kauffmann-White, sendo elas: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A espécie de *Salmonella enterica* possui uma segunda divisão em seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*). Dentro da subespécie entérica estão aquelas causadoras de doença específicas a um hospedeiro e aquelas zoonóticas. *Salmonella Gallinarum*, que causa o tifo aviário, *Salmonella Pullorum*, causadora da pulorose não são zoonoses sendo específica de aves. Já o paratifo aviário, enfermidade causada por todas *Salmonellas* da subespécie enterica, com exceção das citadas acima são em sua maioria zoonoses (CDC,2015; FERREIRA et al., 2008).

Em aves silvestres, o sorotipo *Salmonella* Typhimurium é isolado com maior frequência, porém, a salmonelose nesses animais, pode ser causada por inúmeros sorotipos. Nos psitacídeos especificamente, a doença pode se manifestar de forma grave, causando sinais clínicos variados, como febre ou hipotermia, diarreia, e em episódios severos e prolongados, artrite e pan-oflalmite. A gravidade do diagnóstico, está associado a idade do animal, existência de coinfeções, manejo nutricional e sanitário, e ao nível de estresse que a ave se encontra. Algumas aves podem apresentar a doença de modo assintomático (BENSKIN et al., 2009; GRIMES et al., 1992).

O meio de transmissão ocorre de diversas formas, sendo a via oro-fecal a principal. Entretanto, o contato indireto com animais, água, alimentos, superfícies e objetos infectados, além da inalação de partículas no ar, também podem ser causadores da doença. Insetos, animais com infecções crônicas e aves de vida livre podem se tornar vetores da bactéria para aves de cativeiro e seres humanos (BROWN, 2000).

Para se obter o diagnóstico para *Salmonella*, a verificação dos sinais clínicos da doença e seu curso é de extrema importância (RUPLEY, 1999). O diagnóstico microbiológico para *Salmonella* é feito por meio de pré-enriquecimento não seletivo, seguido de enriquecimento seletivo, plaqueamento em meio seletivo e diferencial sólido, análise bioquímica e tipificação sorológica (ADAM e MOSS, 2008). PCR é o

método de diagnóstico mais rápido, sensível e específico, sendo considerado o padrão-ouro (ALLGAYER, 2008).

2.3.3. *Campylobacter*

Campylobacter spp. são bactérias pertencentes a família *Campylobacteriaceae*, microrganismos Gram negativos, não esporulado, de formato espiralado ou curvo, delgada e móvel, com flagelo em uma ou nas duas extremidades na maioria das espécies. São patógenos pequenos ($0,2$ e $0,9 \mu\text{m} \times 0,2$ e $5 \mu\text{m}$), se reproduzem em ambientes de microaerofilia, 10% CO_2 e 5% O_2 , na temperatura de 40 a 42°C e pH entre $5,5$ e 8 (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018; KRELING et al., 2020).

O gênero *Campylobacter* é composto por 39 espécies e 16 subespécies. Algumas das espécies de maior relevância por causarem doenças em humanos e animais são *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. curvus* e *C. fetus*, sendo a última considerada não termotolerante, diferentemente das demais (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2018; KRELING et al., 2020). Entre as 16 espécies causadoras de campilobacteriose em humanos e animais, estão, *C. jejuni* (mais de 80% dos casos da doença) e *C. coli*, responsável por cerca de 10% dos casos notificados a nível mundial, o que gera perdas econômicas anuais nos Estados Unidos de US\$ 1 bilhão de dólares. A espécie *C. jejuni* se divide em duas subespécies, *jejuni* e *doylei*, sendo a primeira, a de maior importância para a saúde pública, saúde animal e a indústria de alimentos (YOGASUNDRAM, 1989; AMMAR et al., 2020; BEN ROMDHANE; MERLE, 2021).

A transmissão da campilobacteriose acontece via oro-fecal, através da ingestão de alimento ou água contaminada. As infecções causadas pela *Campylobacter* spp. podem ser autolimitante ou sintomática, apresentando sinais de doença gastrointestinais, como vômito, diarreia e dor abdominal (CASEY; FITZGERALD; LUCEY, 2017). O desenvolvimento da doença autoimune é possível em alguns casos (Guillian-Barré). Dessa forma, o patógeno mimetiza em sua membrana externa, lipopolissacarídeos similares aos presentes nos axônios das fibras motoras, fazendo com que o organismo do hospedeiro produza anticorpos (IgG) contra essas estruturas, desenvolvendo assim a resposta autoimune do mesmo contra os nervos que determinam um quadro de paralisia ascendente, que pode levar o indivíduo a óbito,

pela dificuldade respiratória causada pela paralisia do diafragma (KIM et al., 2021; KOIKE; CHIBA; KATSUNO, 2021).

Vários mamíferos domésticos ou selvagens e espécies de aves servem como reservatórios de *C. jejuni*. A infecção intestinal por esse agente já foi documentada em bovinos, suínos, cães, gatos, animais de laboratório e animais exóticos, incluindo as aves. Os portadores aviários de *C. jejuni* incluem galinhas, codornas, perus, patos, aves aquáticas, pombos e papagaios. A sobrevivência de *C. jejuni* nas carcaças de aves contaminadas por até 6 meses em armazenamento refrigerado aumenta o risco de infecção humana (YOGASUNDRAM, 1989).

Para se tratar a enfermidade, na maioria dos casos, não é feita a utilização de antimicrobianos, por se tratar de infecções leves a moderadas. Em casos graves, o uso de antibióticos é necessário. Os medicamentos de escolha geralmente são fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, e macrolídeos, principalmente a eritromicina (SPROSTON; WIMALARATHNA; SHEPPARD, 2018; YANG et al., 2019).

2.3.4. *Mycoplasma* spp

A micoplasmose é uma doença causada pelos *Mycoplasma* spp, microrganismos procariontes, pleomórficos, com ausência de parede celular, com tamanho entre 200-300nm, o que impede que os micoplasmas sejam considerados bactérias, sendo classificados por muito tempo como parasitos extracelulares obrigatórios. Hoje, é admitida a existência de espécies de vida intracelular e outras que fazem por opção. São constituintes da classe Mollicutes, possuem curto genoma com DNA circular de fita dupla e se multiplicam por autorreplicação ou fissão binária (CAVALHEIRO, 2001; GERLACH, 1994; JOHANSSON E PETTERSSON, 2002; KLEVEN, 2008; NASCIMENTO, 2000; OIE, 2008).

Ao todo, existem mais de 120 espécies de micoplasmas descritas, sendo divididas em oito gêneros: *Acholeplasma*, *Anaeroplasma*, *Asteroleplasma*, *Entomoplasma*, *Mesoplasmas*, *Mycoplasma*, *Spiroplasma* e *Ureaplasma*, as quais, apenas três, *Acholeplasma*, *Mycoplasma* e *Ureaplasma*, infectam animais. Nessa classe, são encontrados microrganismos patogênicos e outros próprios da microbiota do hospedeiro, os quais podem habitar o organismo de mamíferos, aves, répteis, peixes, artrópodes e plantas. Por serem espécie-específicos, é improvável a

ocorrência de infecções simultâneas por mais de uma espécie de micoplasma em um mesmo hospedeiro (CAVALHEIRO, 2001; DYBVIG E VOELKER, 1996; GERLACH, 1994; KLEVEN, 2008; QUINN et al., 2005).

Dentre as espécies do gênero *Mycoplasma*, apenas três: *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *M. meleagridis* (MM), e *M. synoviae* (MS), possuem importância clínica para aves selvagens, com o MG, sendo a única com reconhecida importância para psitacídeos (FRIEND e FRASON; 1999) e são aqueles descritos no PNSA (BRASL, 2018).

Estudos para verificação de *Mycoplasma* spp. em psitacídeos ainda são escassos, por conta de serem infecções que acometem com mais frequência galinhas e perus, as quais, são aves de grande interesse econômico, devido a comercialização da carne e de ovos das mesmas (LOURENÇO, 2014). Em aves de cativeiro ou de vida livre, informações sobre a prevalência de infecções por *Mycoplasmas* são inexistentes, seja no Brasil, ou no mundo (GERLACH, 1994; GOMES et al., 2010).

Para ocorrer a transmissão desse patógeno, é necessária uma grande proximidade física entre indivíduos infectados e sadios, tendo como principais portas de entrada para o agente, vias respiratórias e genitais, por meio das secreções de estruturas envolvidas. Sacos aéreos de animais doentes também podem infectar gônadas por contato direto (TULLY, 1995; ABDULRAHMAN E BRADBURY, 1996; GERLACH, 1994; LUTTREL E FISCHER, 2007). Em termos de diagnóstico, o ideal é fazer o isolamento do *Mycoplasma* spp porém sendo um microrganismo fastidioso isso nem sempre é viável. Assim, o diagnóstico pode ser feito de duas maneiras: sorologia e/ou isolamento e identificação do *Mycoplasma*. Os métodos sorológicos de triagem mais empregados são a Soro Aglutinação Rápida (SAR) e ELISA. Para confirmação, a Inibição da Hemaglutinação (HI) e a PCR são recomendadas (LUTTRELL E FISCHER, 2007; NASCIMENTO, 2000; OIE, 2008).

2.4. Resistência antimicrobiana

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. por exemplo, 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).

As bactérias ao longo de sua evolução, desenvolveram diversas formas de resistência natural ou adquirida a antibióticos, adquirindo uma enorme variedade de padrões de resistência natural, por meio da adesão de genes ligados a resistência de bactérias da própria espécie ou de espécies e gêneros diferentes, reduzindo ou anulando o efeito de tratamentos para infecções (LOSCH, 2008; SILVA, 2010). A elevada taxa de resistência aos antibióticos, associada a fatores de virulência, produção de toxinas, presença de cápsula, fatores de aderência, entre outros, são responsáveis por transformar as enterobacteriaceae em um relevante problema mundial de saúde pública em ambiente hospitalar (CANTON e MOROSINI, 2011).

Em 2015, Seyedmousavi e colaboradores, realizaram um estudo envolvendo animais e humanos, no qual, concluiu-se que além do papel de reservatório de patógenos que as aves desempenham, essas, desempenham um papel de grande importância dentro do contexto de zoonoses como vetores, representando perfis de resistência de diferentes antimicrobianos, sendo responsáveis por impactos diretos e indiretos na saúde pública.

Inúmeros fatores contribuem para a prevalência de resistência a antibióticos entre as aves silvestres em uma determinada localização geográfica, contudo, a especificidade de características de uma área pode se sobrepor a sua localização real no mundo (JONAS BONNEDAHN & JOSEF D. JÄRHULT, 2014).

No estudo Jonas Bonnedahl & Josef D. Järhult (2014) foi avaliada a capacidade de Aves silvestres serem postuladas como sentinelas, reservatórios e potenciais propagadores de bactérias resistentes a antibióticos, concluindo-se que os níveis de resistência bacteriana parecem correlacionar-se com o grau de interação das aves com as atividades humanas, sendo citados como exemplos, o afastamento geográfico de uma área, seu estado de preservação natural e altas densidades de gado e humanos no local.

3. OBJETIVO

O objetivo desse estudo é investigar e caracterizar a presença dos patógenos zoonóticos (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.), MG e MS em

aves silvestres exóticas e aves de cativeiro e avaliar o potencial risco desses patógenos para as aves e para o ser humano e/ou as aves. Além disso verificar o potencial de transferência de genes de resistência das estirpes isoladas.

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1. Amostras

Para a execução do projeto, foram coletadas amostras de fezes de aves, em dois diferentes locais, por um período de 4 semanas consecutivas, a fim de identificar por meio de análises laboratoriais as bactérias patogênicas: *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Mycoplasma Gallinarum* (MG), *Mycoplasma Synoviae* (MS) e *Salmonella* spp.

Para tal estudo, foi respeitado o mesmo intervalo de tempo entre as coletas, ocorrendo a cada 7 dias e pela manhã, previamente à limpeza dos recintos. Inicialmente, foram coletadas no Laboratório de Ensino em Animais Silvestres (LAPAS), pertencente a Universidade Federal de Uberlândia – UFU (local onde acolhem aves silvestres e exóticas, vítimas de apreensões, doações e acidentes). A cada semana, foram coletados um pool de aproximadamente oito (8) fezes frescas em cada recinto, retirando a parte das fezes presentes na superfície e acondicionando em tubos coletores universais, os quais, eram acompanhados de uma haste estéril de plástico para auxiliar o processo. As amostras foram coletadas de diferentes recintos, denominados: berçário (local em que ficava as aves recém eclodidas ou menor de 3 meses de idade que recebiam alimentação forçada), quarentena (local onde ficavam as aves recém-chegadas), recinto de doenças infecto gastrointestinais (DIGI) (local onde ficavam aves com sintomas gastrointestinais) e recinto de voo (local onde ficavam as aves recuperadas aguardando destinação). O processo foi realizado durante as duas primeiras semanas, ocorrendo variação no número de indivíduos e espécies nos recintos entre a primeira e segunda amostragem, já que as aves desses locais são indivíduos de vida livre ou de apreensões, assim, novas aves, chegam rotineiramente. Durante o período do estudo, as aves receberam como base de suas alimentações frutas, vegetais, sementes e rações (tabela suplementar 1), variando de acordo com a espécie e necessidades nutricionais particulares. Na tabela 1 é possível verificar a dinâmica da presença e entrada de aves em cada recinto.

Tabela 1. Espécie de aves em cada recinto nas datas de coleta de fezes no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS/UFU)

Data da coleta	Local/Recinto	Espécie presente	Número de indivíduos
11/04/2023	Berçário	<i>Primolius maracana</i>	1
		<i>Psittacara leucophthalmus</i>	5
18/04/2023	Berçário	<i>Psittacara leucophthalmus</i>	5
		<i>Cairina moschata</i>	1
11/04/2023	Doenças Infecto gastrointestinais	<i>Psittacara leucophthalmus</i>	4
18/04/2023	Doenças Infecto gastrointestinais	<i>Psittacara leucophthalmus</i>	4
11/04/2023	Quarentena	<i>Amazona aestiva</i>	1
		<i>Brotogeris chiriri</i>	2
		<i>Patagioenas picazuro</i>	1
		<i>Psittacara leucophthalmus</i>	7
18/04/2023	Quarentena	<i>Amazona Aestiva</i>	2
		<i>Brotogeris chiriri</i>	2
		<i>Columbina talpacoti</i>	1
		<i>Patagioenas picazuro</i>	1
		<i>Oryzoborus angolensis</i>	1
		<i>Psittacara leucophthalmus</i>	4
11/04/2023	Recinto de voo	<i>Psittacara leucophthalmus</i>	4
18/04/2023	Recinto de voo	<i>Psittacara leucophthalmus</i>	5

Posteriormente, foram realizadas duas coletas em sequência em um criadouro comercial de psitacídeos exóticos (tabela 2) localizado em Santa Cruz das Palmeiras - SP, em dois diferentes recintos, os quais abrigavam matrizes de três espécies. No recinto Matriz I (machos e fêmeas a partir de 2 anos de idade já em etapa de reprodução sendo a relação de 1:1 macho e fêmea por gaiola), durante o experimento, era oferecida como base nutricional para as aves ração extrusada (tabela suplementar 2), e em menores proporções, vegetais e sementes. No recinto Matriz II (fêmeas e machos (1:1) a partir de 1 ano de idade que ainda não entraram em reprodução), a alimentação das aves tinha como base sementes, e em menores proporções ração extrusada (tabela suplementar 2) e vegetais. Em ambos os recintos, não houveram

qualquer mudança em relação as aves presentes durante a primeira e segunda amostragem (Tabela 2).

Tabela 2. Dados das amostras coletadas no Criadouro comercial de psitacídeos exóticos

Espécie	Nº de indivíduos no recinto matriz I	Nº de indivíduos no recinto matriz II
<i>Psittacula krameri</i>	38	6
<i>Platycercus eximius</i>	14	3
<i>Trichoglossus moluccanus</i>	2	8

4.2. Isolamento microbiológico de *Campylobacter*

Foi adicionada 1g das fezes coletadas em 10 ml dos caldos seletivos Mueller Hinton (Biolog®) enriquecido com 5% de sangue e 1% de extrato de levedura e Bolton (Scharlau®) enriquecido com suplemento antibiótico seletivo para *Campylobacter* (Merk®) para incubação a 41°C por 24 horas em microaerofilia. Na sequência, uma alçada da solução foi semeada em placas de Ágar CCDA (Charcoal Cefoperazone Deoxycholate ágar) (Neogen®) enriquecido com 1% de extrato de levedura e suplemento antibiótico seletivo para *Campylobacter* (Merk®) sendo colocadas para incubação a 41°C por 48 horas em microaerofilia.

4.3. Isolamento microbiológico de *Salmonella* spp

Foram seguidas as normas vigentes da PORTARIA N° 126, DE 03 DE NOVEMBRO DE 1995 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Primeiramente, as amostras passaram por enriquecimento em meio não seletivo BHI (Brain Heart Infusion) (Biokar®) e em meios seletivos Tetratonato (Himedia®) e Rappaport (Biolog®), todos incubados a 37°C por 18-24 horas. Após o processo, a partir de alçadas das soluções dos caldos de enriquecimento, foram feitas estriações em placas de ágar MacConkey (Ion®) e ágar Verde Brilhante, as quais sofreram nova incubação a 37°C por 18-24 horas.

4.4. Isolamento e caracterização de *Escherichia coli*

Foi adicionada 1g das fezes coletadas a 10 ml do meio de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion) (Biokar®) e incubadas por 18-24 horas a 37°C. Posteriormente, foi realizada a semeadura em placas de ágar MacConkey (Ion®) e nova incubação por 24 horas a 37°C. Colônias rosas foram mantidas para as análises posteriores.

4.4.1. Bioquímica para identificação de *E. coli*

Previamente a realização da bioquímica para identificação da bactéria, foi realizada a prova da oxidase para direcionamento do kit a ser utilizado. Para todas as bactérias o teste da oxidase foi negativo, portanto, foram utilizados os kits de bioquímica Bactray® 1 e 2. Os isolados foram diluídos em salina estéril a 0,85% na escala de McFarland equivalente a 10^8 unidades formadoras de colônia (UFC) por mililitro. Em cada poço do kit foram dispensados 100µL da solução e adicionados os reagentes adicionados conforme indicação do produto. Em seguida, os kits foram incubados em câmara úmida em temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18-24 horas e realizada a leitura das provas.

4.4.2. PCR para confirmação de *E. coli*

Para reação de PCR de *E.coli* foi utilizado uma mistura que consistiu em 20 pmol de cada primer (5'GAACATCAAACATTAAA 3' e 3'AATCAGTCGAAGATA 5'), 12,5µL de Go Taq® Green Master Mix (Kit Go Taq® Green Master Mix, Promega, Madison, WI, EUA), 2 µL de DNA e 6,5 µL de água ultrapura. A amplificação foi realizada usando uma etapa inicial de desnaturação (3 min, 94°C), seguida por 40 ciclos incluindo três passos consecutivos de 45 segundos a 94°C, 50°C e 72°C. Uma fase de extensão final a 72°C por 10 minutos. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5 % com tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) 0,5X, corados com SYBR SAFE corante de gel 10000x e digitalizados em sistema de fotodocumentação (Alfa Innotech®).

4.4.3 Identificação de genes de virulência para caracterização de APEC

Todos os isolados foram examinados quanto à presença de 5 genes de virulência de APEC (*iutA*, *iroN*, *hlyF*, *iss* e *ompT*), conforme descrito por Johnson e colaboradores (2008). Na reação de PCR utilizou-se uma mistura 0,75 µL de cada primer (7,5 pmol), 12,5µL de Go Taq® Green Master Mix (Kit Go Taq® Green Master Mix, Promega, Madison, WI, EUA), 2 µL de DNA e 3,0 µL de água ultrapura. Os oligos correspondentes Forward e Reverse de cada gene são: *iutA* (GGCTGGACATCATGGGAAGTGG; CGTCGGGAACGGGTAGAATCG); *hlyF* (GGCCACAGTCGTTTAGGGTGCTTACC; GGCGGTTTAGGCATTCCGATACTCAG); *iroN* (AATCCGGCAAAGAGACGAACCGCCT; GTTCGGGCAACCCCTGCTTTGACTTT); *ompT* (TCATCCCGGAAGCCTCCCTCACTACTAT; TAGCGTTTGCTGCACTGGCTTCTGATAC); *iss* (CAGCAACCCGAACCACTTGATG; AGCATTGCCAGAGCGGCAGAA).

Os parâmetros de ciclagem para amplificação incluíram: 94°C por 2 min, 25 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a 60°C por 30 s, alongamento a 68°C por 3 min e extensão final a 72°C por 10 min. Os produtos amplificados foram visualizados por eletroforese em gel usando 8 µL da mistura final a 1,5% de gel de agarose em tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) 0,5X. O fotodocumentador utilizado foi (Alfa Innotech®).

Para serem classificadas como APEC a bactéria precisa ter ao menos três (3) genes de virulência e pertencerem aos grupos filogenéticos B2, G, D ou F.

4.4.4 Sorologia das *E. coli* isoladas

Em uma placa limpa e desengordurada com álcool, foram utilizadas como proporção colônia/antisoro: para 1 gota liberada pelo conta gotas de soro PROBAC, foi adicionada 1 gota da colônia (menor que a gota de soro). Após, foi feito a mistura desses componentes de forma homogênea, ocupando uma área de ± 1,5 cm de diâmetro, com posterior movimentação por 2 minutos. Por fim, foi observada a presença ou não de aglutinação. A sorologia teve como intuito, identificar os sorotipos de EPEC: Clássica Polivalente A, B ou C ou sorotipos de EIEC: Invasora Polivalente A ou B. Uma cepa controle positivo de cada exemplar foi usada em paralelo.

4.5. Teste de sensibilidade a antimicrobianos

O antibiograma foi realizado através do método de difusão em disco como descrito por Silva et al. (2013). Os isolados foram diluídos em salina estéril a 0,85% na escala de McFarland equivalente a 10^8 unidades formadoras de colônia (UFC) por mililitro. As amostras ajustadas foram espalhadas em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton (Biolog®) com o auxílio de swab estéril, cobrindo totalmente a superfície do meio. Em seguida os discos com os antimicrobianos – Ampicilina (10 µg), Azitromicina (15 µg), Ciprofloxacina (5 µg), Ceftriaxona (30 µg), Ceftiofur (30 µg), Norfloxacina (10 µg), Levofloxacina (5 µg) e Polimixina B (300 UI) (Sensifar®) – foram depositados sobre a superfície das placas e incubados durante 24 horas à 37°C. Os halos de inibição de crescimento foram medidos e os isolados foram categorizados para cada um dos antibióticos como sensíveis, intermediários ou resistentes de acordo com CLSI (2023).

4.6. Identificação molecular de *Mycoplasma*

Para isolamento de MG E MS 1g de fezes foi armazenada em ultrafreezer -80°C para posterior extração de DNA utilizando kit comercial Wizard® SV Genomic DNA Purification System adaptado. A PCR para MG (524pb) e MS (207pb) foi realizada separadamente com os seguintes iniciadores, respectivamente: 5'-GGATCCCATCTCGACCACGACAAA-3', 5'-CTTTCAATCAGTGAGTAACTGATG-3'; 5'-GAGAAGCAAAATAGTGATATCA-3', 5'-CACTCGTCTCCGAAGTTAACAA-3'. O volume final de cada mistura para reação da PCR foi de 25 µl, sendo 12,5 µl de Go Taq® Green Master Mix (Kit Go Taq® Green Master Mix, Promega, Madison, WI, EUA), 2,0 µl (20 pmol) de primers direto e reverso para MS e 2,0 µl (30 pmol) para MG e 7,5 µl de água ultrapura, além de 1 µl do DNA extraído. O programa de amplificação utilizado foi etapa inicial de desnaturação (5 min, 94°C), depois 35 ciclos incluindo três passos sucessivos de 30 segundos a 94°C, 51°C (MG) / 55 °C (MS) e 72°C. Uma fase de extensão final a 72°C por 10 minutos. Os produtos de amplificação da PCR (pb) foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5 % com tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) 0,5X, corados com SYBR SAFE 10000x e digitalizados em sistema de fotodocumentação (Alfa Innotech®).

5. RESULTADOS

Em nenhuma das amostras foi isolada *Campylobacter* spp. ou *Salmonella* spp. Também não houve identificação de MG e MS. *E. coli* foi isolada e identificada por testes bioquímicos e PCR em 58,33% (7/12) dos locais de coleta, com um total de 9 colônias diferentes (tabela 3). No criatório comercial só houve isolamento no recinto 2 na segunda coleta (tabela 3). No berçário e na quarentena houve isolamento de *E. coli* apenas na segunda coleta (tabela 3).

Tabela 3. Relação das bactérias encontradas em isolamento microbiológico confirmadas por bioquímica, PCR e a caracterização.

Data da coleta	Local/Recinto	Identificação da colônia	<i>E. coli</i> confirmada por bioquímica	<i>E. coli</i> confirmada por PCR	Caracterização sorológica
11/04/2023	Berçário	—	2	0	—
18/04/2023	Berçário	4	1	1	Invasora Polivalente B
11/04/2023	DGI	1	1	1	Clássica Polivalente B
11/04/2023	DGI	2	1	1	Clássica Polivalente B
18/04/2023	DGI	5	1	1	Clássica Polivalente A
11/04/2023	Quarentena	—	0	0	—
18/04/2023	Quarentena	6	1	1	Comensal*
11/04/2023	Recinto de voo	3	1	1	Clássica Polivalente C
18/04/2023	Recinto de voo	7	1	1	Comensal*
25/04/2023	Recinto Matriz I		0	0	—
10/05/2023	Recinto Matriz I		0	0	—
25/04/2023	Recinto Matriz II		0	0	—
10/05/2023	Recinto Matriz II	8	1	1	Clássica Polivalente B
10/05/2023	Recinto Matriz II	9	1	1	Clássica Polivalente B

Ao avaliar a sorologia, foi concluído que todas as *E. coli* eram pertencentes as classes enteroinvasivas ou enteropatogênicas, com exceção às daquelas isoladas da quarentena e no recinto de voo da segunda coleta. No total, 44,44% (4/9) das cepas de *E. coli* pertenciam ao grupo Clássica Polivalente B, isoladas tanto no LAPAS quanto

no criatório de São Paulo. As demais amostras foram identificadas no Lapas, as quais, 11,11% (1/9) pertenciam ao grupo Clássica polivalente A, 11,11% (1/9), Clássica polivalente C e 11,11% (1/9) Clássica invasora B e 22,22% (2/9) foram caracterizadas como comensais, sendo ambas isoladas do LAPAS embora a colônia 6 apresentasse 3 genes (*iroN*, *ompT* e *iss*) e a colônia 7, 4 (*iroN*, *ompT*, *hlyF* e *iss*) genes de virulência (tabela 3).

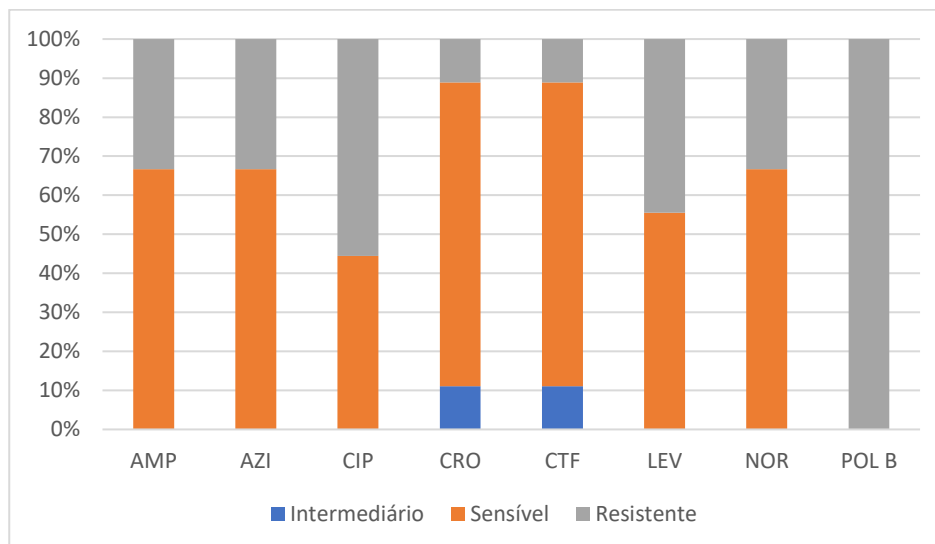
No estudo, foram utilizados 8 diferentes antibióticos compreendidos em 5 classes diferentes: Ampicilina (AMP), da classe das Penicilinas, Azitromicina (AZI), um Macrolídeo, Ceftriaxona (CRO) e Ceftiofur (CTF), Cefalosporinas de 3ª geração, Ciprofloxacina (CIP), Norfloxacina (NOR) e Levofloxacina (NOR) pertencentes às Quinolonas e Polimixina B (POLI B).

Todas as *E. coli* encontradas eram resistentes a POLI B (Figura 1). Houve uma alta percentagem de resistência as quinolonas sendo 33,33% resistentes a NOR, 44,44% resistentes a LEV e 55% resistentes a CIP. A resistência aos beta-lactâmicos foi menor quando comparada às quinolonas, mas houve 33,33% resistentes a ampicilina e 11,11% resistente ao CEF e a CRO. Um total de 33,33% das *E. coli* foram resistentes ao macrolídeo AZI (Figura 3).

Um total de 55,55% (5/9) das *E. coli* isoladas apresentavam resistência a 3 ou mais classes de antibióticos, sendo classificadas como multirresistentes (tabela 4). São os isolados 1 (clássica polivalente B isolada do DGI na primeira coleta), 2 (clássica polivalente B isolada do DGI primeira coleta), 4 (invasora polivalente B, isolada do berçário, segunda coleta), 5 (clássica polivalente A, isolada do DGI segunda coleta) e 6 (comensal, isolada da quarentena segunda coleta) (tabelas 3 e 4). *E. coli* isoladas do criatório de São Paulo (ambas clássica polivalente B) apresentaram baixa taxa de resistência (tabela 4). A comensal isolada do recinto de voo na segunda coleta também apresentou resistência apenas para polimixina B. A *E. coli* clássica polivalente C isolada do recinto de voo da primeira coleta apresentou alta sensibilidade, com resistência apenas a polimixina B.

Interessantemente os isolados 1 e 2 do berçário da primeira coleta foram isoladas do mesmo local e embora ambas sejam multirresistentes, elas apresentam perfil de resistência diferentes (tabela 4) o que sugere que não são clones. Os isolados 8 e 9 podem ser clones já que foram classificadas no mesmo filogrupo e sorotipo (tabela 3) e apresentam perfil de resistência idênticos (tabela 4).

Figura 3. Percentagem de resistência e sensibilidade de *E. coli* isoladas de aves apreendidas e aves de criatório para diferentes antimicrobianos



AMP = Ampicilina, AZI = Azitromicina, CIP = Ciprofloxacina, CRO = Ceftriaxona, CTF = Ceftiofur, LEV = Levofloxacino, POL B = polimixina B e NOR = Norfloxacino. R: Resistente, S: Sensível, I: Intermediário.

Tabela 4. Resultado dos testes de sensibilidade a antimicrobianos dos isolados

<i>E. coli</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9
AMP	S	S	S	R	R	R	S	S	S
AZI	R	S	S	S	R	R	S	S	S
CIP	R	R	S	R	R	R	S	S	S
CRO	I	S	S	R	S	S	S	S	S
CTF	I	S	S	R	S	S	S	S	S
LEV	R	R	S	S	R	R	S	S	S
NOR	R	R	S	S	R	S	S	S	S
POL B	R	R	R	R	R	R	R	R	R

DIGI = Doenças Infecto Gastrointestinais, AMP = Ampicilina, AZI = Azitromicina, CIP = Ciprofloxacina, CRO = Ceftriaxona, CTF = Ceftiofur, LEV = Levofloxacino, NOR = Norfloxacino, POL B = Polimixina B, R: Resistente, S: Sensível, I: Intermediário

6. DISCUSSÃO

O presente estudo obteve resultados negativos para todas as amostras de *Salmonella* spp. e *Campylobacter jejuni*. Tanto nos psitacídeos do criatório comercial quanto nas aves residentes no Laboratório de Ensino e Pesquisa de Animais Selvagens – LAPAS, o isolamento dos patógenos de interesse, mesmo que esperado, não ocorreu. Lopes et al. (2014), investigaram 182 psitacíformes mantidos em criatórios comerciais e conservacionistas da Região Metropolitana de Fortaleza. Esses, argumentaram que a baixa frequência de identificação de *Salmonella* em amostras fecais colhidas, pode estar relacionada a excreção intermitente desse patógeno pelas aves em condições específicas, dificultando seu isolamento em provas microbiológicas tradicionais, devido a possibilidade de a ave não eliminar a bactéria nas fezes no momento da coleta.

Bezerra et al. (2013) por sua vez, justificou a ausência de diagnósticos positivos para *Salmonella* spp. se relacionava com a possível utilização de antibióticos em aves em tratamento, porém, medidas sanitárias, tais como limpeza frequente do ambiente, bebedouro e comedouro, assim como a troca de água e ração podem favorecer esses resultados. Silveira et al. (2018), em estudo de identificação de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* e *Salmonella* spp. em animais silvestres, incluindo 34 aves em um centro de reabilitação, explanaram que seus resultados negativos, possivelmente são justificados pela ausência dessas bactérias no trato gastrointestinal dos animais amostrados ou não detecção por particularidades da técnica.

A investigação de MG e MS neste atual trabalho, foi realizada por meio de testes moleculares de amostras fecais, a fim de se fazer uma avaliação ambiental nos locais de pesquisa. Entretanto, o método utilizado, por não ser a melhor escolha, pode ter sido responsável pela não identificação desses microrganismos. Carvalho (2012) por meio de sua pesquisa com psitacídeos oriundos de um CETAS (Centro de Triagem de Animais Silvestres) observou através do método da PCR de suabes cloacais, que 2,7% dos psitacídeos provenientes do CETAS e 1,9% de criadores conservacionistas foram positivos para MS. Em contrapartida, os exames para MG apresentaram 21,62% de positividade, sendo 15,70% das aves avaliadas eram provenientes de criadores comerciais e 6,66% de criadores conservacionistas. Assim, pode-se dizer

que aves mantidas em aglomerações podem ser um fator importante para a disseminação do agente (XAVIER, 2019).

Em todos os recintos do atual estudo foram isoladas cepas de *E. coli* em pelo menos uma das coletas, exceto no recinto Matriz I do criadouro comercial. Esse fato pode ser explicado pela diferença na alimentação oferecida para as aves desse local, onde a ração extrusada com probiótico é escolhida como base nutricional (tabela suplementar 2). No trabalho de Roussel e colaboradores 2018, a levedura probiótica *S. cerevisiae* mostrou-se promissora com ação antimicrobiana em cepas de *E. coli*. A ação inibidora de *Lactobacillus* spp. sobre os isolados de *E. coli* resistente a antimicrobianos também foi observada por Berbert et al (2021), indicando ser uma forma possível de controle deste patógeno. Por fim, segundo Lourenço (2013), a utilização de bactérias probióticas, como *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarium*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, na dieta de frangos de corte, reduziu o isolamento de *Salmonella* spp. no ceco das aves e aumentou a expressão de células caliciformes, CD4+ e CD8+ na mucosa intestinal das aves após desafio microbiológico.

E. coli isoladas no presente estudo, foram classificadas em patótipos, variando esses de acordo com os aspectos clínicos e os genes responsáveis pela expressão de fatores de virulência (SAINDENBERG et al., 2012; GYLES et al., 2010). Foram identificadas *E. coli* com três (3) e quatro (4) genes de virulência em 22,22% (2/9) das amostras avaliadas (tabela 3), sendo a colônia 6 (*iroN*, *ompT* e *iss*) e a colônia 7, (*iroN*, *ompT*, *hlyF* e *iss*).

Para o diagnóstico de EPEC estudos se baseiam em técnicas moleculares que investigam a presença de gene *eaeA*, as quais, são classificadas entre EPEC típica ou atípica pela presença ou não do gene *bfpA*, respectivamente (DONNENBERG et al., 2013). Cepas de *E. coli* que são *eae* + *bfp* A+ *stx* – são classificadas como EPEC típicas (tEPEC), a maioria dessas cepas pertencem aos sorotipos O:H clássicos e produzem o fenótipo de aderência localizada (LA) associado à produção de *bfp* (TRABULSI et al, 2002). Por outro lado, cepas de *E. coli* que são *eae* + *bfp* A– *stx* – são classificadas como EPEC atípicas (aEPEC) (OCHOA e CONTRERAS, 2011).

De acordo com a Organização mundial da Saúde, as EPEC compreendem 12 sorogrupos O, os quais, são considerados os principais sorogrupos de EPEC clássicas. Neles estão inclusos: O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126,

O127, O128, O142 e O158. Trabulsi et al. (2002), definiram que esses sorogrupos, alocam EPEC tanto típicas quanto atípicas, assim como outros patótipos de DEC. Segundo Moura (2010), o perfil de virulência encontrado em cepas de EPEC isoladas de animais, sejam elas típicas ou atípicas, é muito semelhante às cepas de EPEC (típicas ou atípicas) encontradas em humanos. Dessa forma, cepas encontradas em animais, são potenciais patógenos para seres humanos.

EPEC atípicas, quando apresentam fatores de virulência, tem sua capacidade de causar diarreias em crianças e adultos aumentada (MOURA, 2010). Estudos mostram, que aEPEC está entre as principais causas de diarreia no Brasil e no mundo, sendo relacionada a surtos de diarreia e casos de diarreia endêmicas e persistentes (CULLER, 2010). No atual estudo, foram isoladas através das amostras de *E. coli*, (6/9) cepas de EPEC clássicas, sendo 1 classificada como Clássica Polivalente A, 4 Clássicas Polivalentes B e 1 Clássica Polivalente C, as quais, através de novos exames, podem ser classificadas como tEPEC ou aEPEC (tabela 3).

E. coli enteroinvasiva (EIEC), é responsável por causar disenteria bacilar semelhante à *Shigella* em crianças e adultos. No presente, foi identificado uma cepa de EIEC Invasora Polivalente B.

Sobre a alta taxa de resistência antimicrobiana encontrada no presente estudo, na lista de “antimicrobianos de importância crítica para a medicina humana” da Organização Mundial da Saúde (OMS), o cloranfenicol e a tetraciclina foram declarados como “antimicrobianos de alta importância”. Eritromicina, estreptomicina, ciprofloxacina, gentamicina e ampicilina foram considerados “antimicrobianos de importância crítica” (WHO, 2017). De acordo com a “Lista de Antimicrobianos de Importância Veterinária” da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), a tetraciclina e a ampicilina foram considerados agentes “muito importantes” e a eritromicina e estreptomicina foram consideradas agentes extremamente importantes (OIE, 2015). Essas classificações traz um alerta quanto aos achados do atual estudo, no qual, elevadas taxas de resistência para quinolonas, incluindo a ciprofloxacina e para a ampicilina foram notificadas, gerando dados preocupantes, devido a importância desses fármacos para a saúde pública e animal.

No estudo de Pontes e colaboradores (2018), foram identificados 41% de resistência a quinolonas em calopsitas saudáveis em cativeiro, alto percentual de resistência, o qual, foi remetido a utilização de tratamentos empíricos sem supervisão

veterinária. Athanasakopoulou e colaboradores (2022) identificaram a presença de genes de resistência a vários antibióticos como sulfonamidas, trimetoprim, quinolonas, macrolídeos e aminoglicosídeos em *E. coli* de aves selvagens na Grécia, assim como o presente estudo, que encontrou alta prevalência de bactérias resistentes a Azitromicina que é um macrolídio importante para saúde humana. Esses resultados, foram atribuídos à ampla disseminação no ambiente pela presença e coabitação de plasmídeos transferíveis, responsáveis primordialmente pela disseminação de bactérias multirresistentes (PONTES et al, 2018).

As polimixinas foram amplamente utilizadas como promotores de crescimento no Brasil até 2016 (MAPA, 2017). O primeiro relato de resistência em *E. coli* de animais e humanos ocorreu na China (LIU et al., 2016). Por muitos anos, a resistência às polimixinas não foi considerada um problema porque o gene de resistência era cromossômico e restrito aos hospitais. Em 2015, Liu e colaboradores (LIU et al., 2016) relataram que o gene foi identificado em um plasmídeo que demonstrou alta capacidade de transmissão *in vitro* entre *E. coli* e outras *Enterobacteriaceae*. Os pesquisadores acreditam que, independentemente da pressão de seleção, o plasmídeo contendo o gene de resistência provavelmente será mantido nas populações de *Enterobacteriaceae*, facilitando a disseminação para a população humana.

Barbieri e colaboradores (2021) identificaram alta prevalência do gene de resistência às polimixinas em *Escherichia coli* de cortes de carne (14,9%) e aves (4,9% a 28%) e sugerem que o gene pode ser posteriormente transmitido ao homem, porque as polimixinas são consideradas o último recurso para tratamento de infecções causadas por bacilos Gram-negativos multirresistentes (BARBIERI et al 2021). Nesse trabalho, os resultados obtiveram 100% de cepas resistentes a polimixina B, dado alarmante, devido aos fatores acima citados.

O aumento de aves silvestres como animais de companhia tem preocupado tanto órgãos ambientais quanto setores de saúde pública. Espécies de aves silvestres e exóticas podem carrear patógenos pouco estudados, promovendo a chamada poluição patogênica, responsável por surtos de zoonoses acometendo humanos (SCHLOEGEL et al., 2005). De acordo com Corrêa e Passos (2001), além de riscos encontrados em residências, os animais silvestres quando por algum motivo são encaminhados às clínicas veterinárias, zoológicos e centros de triagem, podem expor

profissionais e colaboradores ao risco de contaminação. Esses fatores podem explicar o contágio de bactérias multirresistentes entre aves ou aves e o ser humano (PASTORE, 2014).

Outras possibilidades para a transmissão de *E. coli* multirresistentes, são devidas ao fato de aves de cativeiro estarem em contato constante com antimicrobianos por conta de tratamentos de infecções. Ademais, a presença nesses locais de animais como roedores, insetos e aves de vida livre, formam um conjunto de fatores que propiciam a disseminação da bactéria (SAIDENBERG, 2008). Em aves de vida, espécies carnívoras que se alimentam de carcaças e outros animais, podem contrair patógenos adquiridos por sua presa. Já espécies forrageiras, ao ingerir alimentos contaminados, propiciam a manutenção dessa cadeia zoonótica (BENSKIN et al., 2009).

Os resultados acima mostram alguns padrões fenotípicos importantes. Por exemplo no recinto de voo só encontramos bactérias altamente sensíveis mesmo de sorotipos diferentes (uma classificada como comensal e outra como clássica polivalente C). Também é possível ver que o criatório de SP apresenta *E. coli* com perfil de sensibilidade aos antimicrobianos superior ao LAPAS.

A íntima relação de humanos com animais é responsável por gerar problemas de saúde pública, devido a adaptação de patógenos antes não patogênicos a uma determinada espécie ou a disseminação de resistência aos antimicrobianos. Obviamente a habilidade do voo pode potencializar a adaptação de patógenos para o humano ou a disseminação de genes de resistência. E a cada vez que o homem penetra no ambiente onde espécies de aves coabitam, mas essa condição é exacerbada.

7. CONCLUSÃO

Aves silvestres e de cativeiro podem albergar EPEC e EIEC multirresistentes sendo um potencial perigo para saúde das aves e para a saúde humana.

Tabela suplementar 1. Níveis de garantia da ração extrusada fornecida às aves do LAPAS.

NÍVEIS DE GARANTIA	
Umidade (Máx.)	100 g/kg
Proteína bruta (Mín.)	160 g/kg
Extrato etéreo (Mín.)	50 g/kg
Matéria fibrosa (Máx.)	50 g/kg
Matéria mineral (Máx.)	60 g/kg
Cálcio (Máx.)	12 g/kg
Cálcio (Mín.)	8.000 mg/kg
Fósforo (Mín.)	4.000 mg/kg
Mananoligossacarídeos-MOS (Mín.)	240 mg/kg
Ferro (Mín.)	70 ppm
Ferro (Máx.)	120ppm

Tabela suplementar 2. Níveis de garantia da ração extrusada fornecida às aves do criatório.

NÍVEIS DE GARANTIA	
Umidade (Máx.)	110 g/kg
Proteína bruta (Mín.)	150 g/kg
Extrato etéreo (Mín.)	45 g/kg
Matéria fibrosa (Máx.)	35 g/kg
Matéria mineral (Máx.)	70 g/kg
Cálcio (Máx.)	11 g/kg
Cálcio (Mín.)	9.000 mg/kg
Sódio (Mín.)	2.100 mg/kg
Fósforo (Mín.)	5.500 mg/kg
Mananoligossacarídeos-MOS (Mín.)	400 mg/kg
Beta-glucanas (Mín.)	450 mg/kg
Saccharomyces cerevisiae (Mín.)	1,0 x 10 ⁵ UFC/kg
Enterococcus faecium (Mín.)	5,0 x 10 ³ UFC/kg
Lactobacillus acidophilus (Mín.)	5,0 x 10 ³ UFC/kg
Aditivos adsorventes de toxinas (Mín.)	1.000 mg/kg
Extrato de cardo-mariano (Mín.)	0,50 mg/kg
DL-metionina (Mín.)	4.500 mg/kg
Ômega 3 (Mín.)	2.600 mg/kg

8. REFERÊNCIAS

ABDUL-RAHMAN, S.A., BRADBURY, J.M. **Mycoplasma iowae: a review. Avian Pathology**, v. 25, p. 205-229, 1996.

ADAM, M.R.; MOSS, M.O. **Food Microbiology. Guildford: RSC Publishing.** p.472. 2008.

Ahmad Farajzadeh-Sheikh, Mohammad Savari, Khadijeh Ahmadi, Hossein Hosseini Nave, Mojtaba Shahin & Maryam Afzali (2020) **Distribution of Genes Encoding Virulence Factors and the Genetic Diversity of Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) Isolates from Patients with Diarrhea in Ahvaz, Iran, Infection and Drug Resistance**, , 119-127, DOI: 10.2147/IDR.S235009

ALLGAYER MC. **Molecular diagnosis of Salmonella species in captive psittacine birds.** Vet Rec. 2008;162(25):816-819.

ALMEIDA AMS, LEONÍDIO ARA, ANDRADE MA. **Associação dos quadros anatomopatológicos de colibacilose aviária com genes de virulência de *Escherichia coli*.** Vet em Foc. 2017; 13(2): 113-131.

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>

ANDRÉ, Marcos Rogério et al. **Hemoplasmas in wild canids and felids in Brazil. Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 42, n. 2, p. 342-347, 2011.

ANDRIOLO, A. **Desafios para a Conservação da Fauna.** In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R; CATÃO-DIAS, J.L. Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária. São Paulo: Roca, 1a Edição, p. 951, 2006.

ATHANASAKOPOULOU, Zoi et al. **Occurrence and characteristics of ESBL-and carbapenemase-producing *Escherichia coli* from wild and feral birds in Greece.** Microorganisms, v. 10, n. 6, p. 1217, 2022.

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

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

BENCKE, Glayson A. et al. Revisão e atualização da lista das aves do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 100, p. 519-556, 2010.

BENSKIN CMH; WILSON K; JONES K; HARTLEY IR. **Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection**. Biol Rev. 2009; 84:349-373.

BERBERT¹, J. V. M. et al. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA DE CEPAS DE PROBIÓTICO FRENTE A ISOLADOS DE *Escherichia coli* RESISTENTE A ANTIMICROBIANOS. In: **CONFERÊNCIA FACTA 2021**. p. 260.

BEZERRA, W.G.A.; CARDOSO, W.; TEIXEIRA, R.S.C.; HORN, R.V.; MACHADO, D.N.; LOPES, E.S.; ALBUQUERQUE, A.H.; ROCHA-ESILVA, R.C. **Survey of Salmonella spp. in Budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) in Fortaleza, Brazil**. Acta Scientiae Veterinariae, v.41, p.1-7, 2013.

Borges, C. A., Beraldo, L. G., Maluta, R. P., Cardozo, M. V., Barboza, K. B., Guastalli, E. A. L. & Ávila, F. A. 2017. **Multidrug-resistant pathogenic *Escherichia coli* isolated from wild birds in a veterinary hospital**. Avian Pathology, 46(1), 76-83.

BORGES, Clarissa Araújo. Detecção e caracterização de *Escherichia coli* potencialmente patogênicas em aves selvagens e pombos-domésticos na cidade de Jaboticabal-SP. 2015.

BOWMAN TA, JACOBSON ER. **Cloacal flora of clinically normal captive psittacine birds**. The Jour of Zoo Ani Med. 1980; 11(3): 81-85.

BROWN NHH. **Psittacine Birds**. In: Tully TN, Lawton MPC, Dorrestein GM. Avian Medicine. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltda, 2000.

CALAÇA, Karine Louise et al. **Pesquisa de Salmonella sp. e *Escherichia coli* com determinação do perfil de resistência em psitacídeos de revendas na região metropolitana de Goiânia-Goiás**. 2018.

Campos LC, Trabulsi LR. **Escherichia**. In: Trabulsi LR, Alterthum F, Gompertz OF, Candeias JAN. Microbiologia. São Paulo: Atheneu; 1999.

CANTÓN, Rafael; MOROSINI, María-Isabel. Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. **FEMS microbiology reviews**, v. 35, n.

CARVALHO ACFB; CORTEZ ALL. **Salmonella sp. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango**. Ciênc Ru. 2005; 35(6):122-130.

CARVALHO, A. M. Chlamydophila spp., **Mycoplasma gallisepticum e Mycoplasma synoviae em psitacídeos (Filo: Cordata, Ordem: Psittaciformes) de diferentes**

cativeiros no Estado de Goiás. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. 69f. 2012.

CARVALHO, Andréa M. et al. Pesquisa de Mycoplasma em aves da família Psittacidae mantidas em diferentes cativeiros no Brasil Central. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1159-1164, 2017.

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>

CAVALHEIRO, M.L. Miscellaneous diseases - **Order Psittaciformes (Parrots, Macaws, Conures)**. In: FOWLER, M.E., CUBAS, Z.S. Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals. Ames: Iowa State University Press, 1a Edição, 2001. 536p.

CDC, 2015. [acesso 12 mar 2017]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html>.

CHAPMAN, Arthur D. et al. **Numbers of living species in Australia and the world. 2009.**

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, Eirini; MARCOU, Markella; TOFARIDES, Andreas. **Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence.** Journal of molecular evolution, v. 88, p. 26-40, 2020.

CHUEIRI, Mariana Comassio et al. **Identificação de salmonella spp. e campylobacter spp. em mamíferos e tratadores do zoológico municipal de Uberlândia.** 2022.

CICCOZZI, Massimo et al. Phylogenetic analysis of multidrug-resistant *Escherichia coli* clones isolated from humans and poultry. **New Microbiol**, v. 36, n. 4, p. 385-94, 2013.

Clements A, Young JC, Constantinou N, Frankel G. **Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*.** Gut Microbes. 2012;3(2):71-87.

CLERMONT, Olivier et al. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. **Environmental microbiology reports**, v. 5, n. 1, p. 58-65, 2013.

CLSI – Clinical Laboratory Standards Institute. Documento: M100 ED33:2023, Disk Difusion – Supplemental Tables. 2023.

CLSI – Clinical Laboratory Standards Institute. Documento: CLSI VET 01SED6:2023, Disk Difusion – Supplemental Tables. 2023.

CORRÊA, Sandra Helena Ramiro; PASSOS, Estevão de Camargo. **Wild animals and public health. Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**, p. 493-499, 2001.

COSTA, E. C.; JORGE, M; S. B.; SARAIVA, E. R. A.; COUTINHO, M. P. L. **Aspectos psicossociais da convivência de idosos com animais de estimação: uma interação social alternativa**. Psicologia: Teoria e Prática, v. 11, n. 3, p. 2 – 15, 2009. ISSN 1516-3687

CUBAS, Z. S., GODOY, S. N. **Algumas doenças de aves ornamentais. Departamento de Meio Ambiente**. Foz do Iguaçu, Paraná. 2004.

CULLER, Hebert Fabricio. **Formação de biofilme por *Escherichia coli* enteropatogênica atípica**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DASZAK, P., TABOR, G.M., KILPATRICK, A.M., EPSTEIN, J. & PLOWRIGHT, R. **Conservation Medicine and a new agenda for emerging disease**. Ann. N.Y. Acad. Sci

DE MORAIS, Amanda Bonalume Cordeiro; RIBEIRO, Márcio Garcia; LISTONI, Fernando Paganini. **Enteropatógenos de potencial zoonótico identificados em aves silvestres. Veterinária e Zootecnia**, v. 26, p. 1-16, 2019.

DEEM, Sharon L.; KARESH, William B.; WEISMAN, Wendy. Putting theory into practice: wildlife health in conservation. **Conservation biology**, v. 15, n. 5, p. 1224-1233, 2001.

DHO-MOULIN M, FAIRBROTHER JM. **Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC)**. Vet Res. 1999;30: 299-316. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.08.046>. Acesso em: 16 nov. 2020.

DYBVIG, K., VOELKER, L.L. **Molecular biology of Mycoplasmas. Annual Review of Microbiology**, v. 50, p. 25-57, 1996.

***Escherichia coli* in asymptomatic captive psittacines**. Pesq Vet Bras 2012; 32(9):922-926.

FAGUNDES-NETO, Ulysses; SCALETISKY, Isabel Cristina Affonso. **The gut at war: the consequences of enteropathogenic *Escherichia coli* infection as a factor of diarrhea and malnutrition.** *Sao Paulo Medical Journal*, v. 118, p. 21-29, 2000.

Farajzadeh-Sheikh A, Savari M, Hosseini Nave H, Ahmadi Ahmadi K, Afzali M. **Frequency and molecular epidemiology of class A ESBLs producing Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) isolates among patients with diarrhea.** *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2020 Winter;13(1):77-85. PMID: 32190228; PMCID: PMC7069536.

FERREIRA EO, CAMPOS LC. **Salmonella.** In: Trabulsi LR, Alterthum F. *Microbiologia*. 5.ed. São Paulo: Atheneu. 2008; 43:329-338.

FRAGA, Cibele Floriano. **Ocorrência de doenças micóticas em aves silvestres no Brasil: revisão bibliográfica.** 2014.

FRIEND, M.; FRASON, J. C. Field manual of wildlife diseases, general field procedures and diseases of birds US Geological Society. **Madison, WI**, 1999.

FRIEND, M.; FRASON, J.C. **Field Manual of Wildlife Diseases, General Field Procedures and Diseases of Birds U.S. Geological Society**, Madison, WI. 427p. 1999.

GARGIULO, A., Fioretti, A., Russo, T. P., Varriale, L., Rampa, L., Paone, S. & Dipineto, L. Occurrence of enteropathogenic bacteria in birds of prey in Italy. *Letters in applied microbiology*. 66(3), 202-206, 2018.

GERLACH, H. RITCHIE, B. HARRISON G. J.. HARRISON L. R , **Viruses. Avian Medicine: Principles and Application**, p. 862-948. 1994.

GOMES, A.M., COSTA, L.L., VILELA, D.A.R., MARQUES, M.V.R., CARVALHAES, A.G., MARIN, S.Y., COSTA, M.P., HORTA, R.S., RESENDE, J.S., MARTINS, N.R.S. **Detection of *Mycoplasma gallisepticum* in dead captive psittacines in Belo Horizonte, Brazil.** *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 12, n. 2, p. 75-78, 2010.

GOMES, A.M., COSTA, L.L., VILELA, D.A.R., MARQUES, M.V.R., CARVALHAES, A.G., MARIN, S.Y., COSTA, M.P., HORTA, R.S., RESENDE, J.S., MARTINS, N.R.S. **Detection of *Mycoplasma gallisepticum* in dead captive psittacines in Belo Horizonte, Brazil.** *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 12, n. 2, p. 75-78, 2010.

GORTAZAR, C., DIEZ-DELGADO I., BARASONA J A, VICENTE J, DE LA FUENTE J, BOADELLA M. **The wild side of disease control at the wildlife-livestock-human interface: a review.** *Frontiers in veterinary science* 1: 27. 2015

GORTAZAR, Christian et al. The wild side of disease control at the wildlife-livestock-human interface: a review. **Frontiers in veterinary science**, v. 1, p. 27, 2015.

GRESPLAN, A.; RASO, T. F. Psitaciformes – (Araras, papagaios, periquitos, calopsitas e cacatuas). In _____. CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. C. Tratado de Animais Selvagens, Medicina Veterinária, 2 a ed. ROCA, 2014. p. 550-589. ISBN: 978-8527726184

GRIMES JE, ARIZMENDI F. **Survey of clinical psittacine bird sera for Salmonella typhimurium agglutinis**. Avian Dis. 1992; 36: 813-815.

GYLES CL, PRESCOTT JF, SONGER JG, THOEN CO. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. Ames: Blackwell Publishing. 2010; 267-308.

JOHANSSON, K.E., PETTERSSON, B. **Taxonomy of Mollicutes**. In: RAZIN, S., HERRMANN, R. **Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002. 572p

JONAS BONNEDAHN & JOSEF D. JÄRHULT, **Resistência a antibióticos em aves selvagens**, **Upsala Journal of Medical Sciences**, 119:2, 113-116, 2014 DOI:10.3109/03009734.2014.905663

K. Yogasundram, S. M. Shane and K. S. Harrington Source: Avian Diseases , Oct. - Dec., 1989, Vol. 33, No. 4 (Oct. - Dec., 1989), **Prevalence of Campylobacter jejuni in Selected Domestic and Wild Birds in Louisiana** pp. 664-667 Published by: American Association of Avian Pathologists

KAGAMBÈGA, Assèta 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**, v. 13, p. 1-9, 2013.

KEUSH, G. T.; FARTHING, M. J. C. Nutrition and Injection. In: OLSON, R. BEWITHER, E.; BIOQUIST, H.P. **Annual Review of Nutrition**. Poço Alto, Califórnia: Annual Review, v.6, p.131-154, 1986.

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>

KLEVEN, S.H. **Mycoplasmosis**. In: SAIF, Y.M., FADLY, A.M., GLISSON, J.R.,

KNÖBL T, GODOY SN, MATUSHIMA ER, GUIMARÃES MB, FERREIRA AJP. **Caracterização molecular dos fatores de virulência de estirpes de Escherichia coli isoladas de papagaios com colibacilose aviária**. Braz. J. vet. Res. anim. Sci. 2008; 45: 54-60.

Knöbl T, Godoy SN, Matushima ER, Guimarães MB, Ferreira AJP. **Caracterização molecular dos fatores de virulência de estirpes de Escherichia coli isoladas de papagaios com colibacilose aviária**. Braz. J. vet. Res. anim. Sci. 2008; 45: 54-60.

KNÖBL T, GOMES TAT, VIEIRA MAM, BOTTINOJA JÁ, FERREIRA AJPF. **Detection of pap, sfa, afa and fim adhesin-encoding operons in avian pathogenic *Escherichia coli***. Int Jour of App Res in Vet Med, Washington. 2004; 2(2): 135-141.

Knöbl T, Gomes TAT, Vieira MAM, Bottinoja JÁ, Ferreira AJPF. **Detection of pap, sfa, afa and fim adhesin-encoding operons in avian pathogenic *Escherichia coli***. Int Jour of App Res in Vet Med, Washington. 2004; 2(2): 135-141.

Köhler, C.-D.; Dobrindt, U. **What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? Int. J. Med. Microbiol.** 2011, 301, 642–647. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

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>

KRUSE, H.; KIRKEMO, A. M.; HANDELAND, K. **Wildlife as source of zoonotic infections. Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 12, p. 2067-2072, 2004. DOI:10.3201/eid1012.040707

LA RAGIONE RM, WOODWARD MJ. **Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia**. Res in Vet Sci. 2002; 73: 27-35.

LAN, Ruiting et al. Molecular evolutionary relationships of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* spp. Infection and Immunity, [s. l.], v. 72, n. 9, p. 5080–5088, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/IAI.72.9.5080-5088.2004>. Acesso em: 16 nov. 2020

LEY, D. H. **Mycoplasma gallisepticum infection. Diseases of Poultry, Ames**, n. 11, p. 122–144, 2003.

LISBOA F. **Psitacídeos. Mundo dos animais, fevereiro 2008**; E-zine nº 5. [acesso 24 mar 2017]. Disponível em: <https://www.mundodosanimais.com>.

Lopes E de S, Maciel WC, Teixeira RS de C, Albuquerque ÁH de, Vasconcelos RH, Machado DN, et al.. **Isolamento de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* de psittacídeos: relevância em saúde pública. Arq Inst Biol [Internet]. 2016;83:e0602014**. Available from: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000602014>

LOPES, E.S.; CARDOSO, W.M.; ALBUQUERQUE, A.H.; TEIXEIRA, R.S.C.; SALLES, R.P.R.; BEZERRA, W.G.A.; ROCHA E SILVA, R.C.; LIMA, S.V.G.; SALES, R.J.P.F.;

VASCONCELOS, R.H. **Isolation of Salmonella spp. in captive psittaciformes from zoos and a commercial establishment of Fortaleza, Brazil.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.66, n.3, p.965-968, 2014. DOI: 10.1590/1678-41626643

LOSCH, L. S.; ALONSO, J. M.; MERINO, L. A. **Occurrence of antimicrobial resistant Enterobacteriaceae in water from different sources in a subtropical regions of Argentina.** Revista Ambiente & Água, v. 3, n. 2, p. 29-39, 2008. DOI: 10.4136/ambi-agua.50

LOURENÇO, Karine Lima. **Doenças microbianas em aves da ordem Psittaciformes.** 2014.

LOURENÇO, Mariana C. et al. **Uso de probiótico sobre a ativação de células T e controle de Salmonella Minnesota em frangos de corte.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, p. 11-14, 2013.

LUTTRELL, P., FISCHER, J.R. Mycoplasmosis. In: THOMAS, N.J., HUNTER, D.B., ATKINSON, C.T. **Infectious Diseases of Wild Birds.** Ames: Blackwell Publishing, 1ª Edição, 2007. 484p.

MATTES BR, CONSIGLIO SAS, ALMEIDA BZ, GUIDO MC, ORSI RB, SILVA RM, COSTAA, FERREIRA AJP, KNÖBL T. **Influência da biossegurança na colonização intestinal por Escherichia coli em psittacideos.** Arq do Inst Bio. 2005; 72: 13-16.

McDermott PF, Zhao S, Tate H (2018) Resistência antimicrobiana em Salmonella não tifóide. In: Schwarz S, Cavaco LM, Shen J (eds) Resistência antimicrobiana em bactérias de gado e animais de companhia. ASM Press, Washington DC, p 400
MCDUGALD, L.R., NOLAN, L.K., SWAYNE, D.E. **Diseases of Poultry.** Ames: Blackwell Publishing, 12ª Edição, 2008. 1260p.

MOURA, Rodrigo Assunção. **Estudo das relações clonais entre amostras de Escherichia coli enteropatogênica atípica de origem animal e humana.** 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

NASCIMENTO, E.R. **Micoplasmoses.** In: BERCHIERI JUNIOR, .A., MACARI, M. Doenças das Aves. Campinas: FACTA, 2000. 800p.

NETER, Erwin et al. **Demonstration of Antibodies against Enteropathogenic Escherichia coli in Sera of Children of Various Ages.** Pediatrics, v. 16, n. 6, p. 801-8, 1955.

NEWMAN, Scott H.; EPSTEIN, Jonathan H.; SCHLOEGEL, Lisa M. **The nature of emerging zoonotic diseases: ecology, prediction, and prevention.** Medical Laboratory Observer, v. 37, n. 7, p. 10, 2005.

Nolan, L.K.; Vaillancourt, J.P.; Barbieri, N.L.; Logue, C.M. **Colibacillosis. Dis. Poult.** **2020**, 770–830.

OAKS, J. Lindsay et al. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. **Nature**, v. 427, n. 6975, p. 630-633, 2004.

Ochoa TJ, Contreras CA. **Enteropathogenic *Escherichia coli* infection in children.** Curr Opin Infect Dis. 2011 Oct;24(5):478-83. doi: 10.1097/QCO.0b013e32834a8b8b. PMID: 21857511; PMCID: PMC3277943.

OIE – **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2008 – Avian Chlamydiosis.** Disponível em: http://web.oie.int/eng/normes/MANUAL/2008/pdf/2.03.05_%20AVIAN_MYCO.pdf, acesso em: 24 de Setembro 2014.

OIE. list of antimicrobial agents of veterinary importance. Paris. World Organisation for Animal Health. 2015.
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pOMS_2021_https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html

PARSOT, Claude. **Shigella spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* pathogenicity factors.** [S. l.]: FEMS Microbiol Lett, 2005.

PASTORE, Ana Paula Winter. **Análise da resistência a antimicrobianos e determinação dos grupos filogenéticos em isolados de *Escherichia coli* de origem ambiental, humana e animal.** 2015.

PEREZ, P.; HUJER, A. M.; HUJER, K. M.; DECKER, B. K.; RATHER, P. N.;

BONOMO, R. A. **Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 51, n. 10, p. 3471– 3484. 2007. DOI: 10.1128/aac.01464-06

PICCIRILLO, A.; MAZZARIOL, S.; CALIARI, D. et al. **Salmonella typhimurium Phage Type DT160 Infection in Two Moluccan Cockatoos (*Cacatua moluccensis*): Clinical Presentation and Pathology.** Avian Diseases, v.54, n.1, p.131-135, 2010.

PONTES, Patricia Silveira de et al. Survey on pathogenic *Escherichia coli* and Salmonella spp. in captive cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). brazilian journal of microbiology, v. 49, p. 76-82, 2018.

QUINN, P J; MARKEY, M E; DONNELLY, W J; LEONARD, F C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** Porto Alegre: Artmed, 2007.

RAPPOLE, John H.; HUBÁLEK, Zdeněk. Migratory birds and West Nile virus. **Journal of applied microbiology**, v. 94, n. s1, p. 47-58, 2003.

Rencas 2001. 1º Relatório Nacional sobre o Tráfico de Fauna Silvestre. Vol.1. Rencas, Brasília.

REPLE, Jessica Nacarato et al. Análise filogenética de *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) e produtoras de toxina shiga (STEC) isoladas de fezes de psitacídeos: avaliação do potencial zoonótico. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 13, n. 1, p. 81-83, 2015.

Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Fakhr MK, Nolan LK. **Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis.** Microbiology (Reading). 2005 Jun;151(Pt 6):2097-2110. doi: 10.1099/mic.0.27499-0. PMID: 15942016.

Roussel, C., Sivignon, A., de Vallée, A. et al. **Propriedades anti-infecciosas do probiótico *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 sobre enterotoxigênico *E. coli* (ETEC) estirpe H10407.** Appl Microbiol Biotechnol 102 , 6175–6189 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9053-y>

RUPLEY, A.E. **Manual of avian practice.** Philadelphia: Saunders Company, p. 267268, 1999.

SAIDENBERG AB, TEIXEIRA RHF, GUEDES NMR, ALLGAYER MC, MELVILLE PA, BENITES NR. **Molecular detection of enteropathogenic**

Saidenberg AB, Teixeira RHF, Guedes NMR, Allgayer MC, Melville PA, Benites NR. **Molecular detection of enteropathogenic *Escherichia coli* in asymptomatic captive psittacines.** Pesq Vet Bras 2012; 32(9):922-926.

SAIF YM, BERNES HJ, GLISSON JR, FATLY AM, MACDOUGALD, SWAYNE LRDE. **Diseases of Poultry.** Ames, EUA. JWA State University. 2004: 631-656.

SANTOS, Ana Karolina Silva dos. **Associação entre cepas de *Escherichia coli* Enteropatogênica (EPEC) e crianças desnutridas residentes em Fortaleza-Ceará, Brasil: um estudo caso-controle.** 2022.

SANTOS, G. C. G.; MATUELLA, G. A.; CORAIOLA, A. M.; SILVA, L. C. S.; LANGE, R. R.; SANTIN E. **Doenças de aves selvagens diagnosticadas na Universidade Federal do Paraná (2003-2007).** Revista Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 28, n. 11, p. 565-570, 2008. DOI: 10.1590/S0100- 736X2008001100005

SEHGAL, R. N. M. **Deforestation and avian infectious diseases.** The Journal of Experimental Biology, v. 213, p. 955-960, 2010.

Seyedmousavi, S., Guillot, J., Arné, P., De Hoog, G. S., Mouton, J. W., Melchers, W. J. & Verweij, P. E. 2015. **Aspergillus and aspergilloses in wild and domestic animals: a 27 global health concern with parallels to human disease.** Medical Mycology, 53(8): 765- 797.

SIGIRCI, Belgi Diren et al. **Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* isolated from companion birds**. Journal of King Saud University-Science, v. 32, n. 1, p. 1069-1073, 2020.

SILVA, N.; IGREJAS, G. FIGUEREDO, N.; GONÇALVES, A.; RADHOUANI, H.; RODRIGUES, J.; POETA, P. **Molecular characterization of antimicrobial resistance in enterococci and *Escherichia coli* isolates from European wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)**. Science of the Total Environment, v. 408, n. 20, p. 4871–4876, 2010. DOI:10.1016/j.scitotenv.2010.06.046.

SILVEIRA, Débora R. et al. **Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, Salmonella spp. e Yersinia enterocolitica isoladas de animais silvestres em um centro de reabilitação**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 38, p. 1838-1843, 2018.

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>

TATIBANA, Lilian Sayuri; DA COSTA-VAL, Adriane Pimenta. Relação homem-animal de companhia e o papel do médico veterinário. **Projeto De Educação Continuada. É o CRMV-MG investindo no seu potencial**, v. 11, 2009.

TEIXEIRA, Rodrigo Hidalgo Friciello. **Ocorrência de circovírus, enterobactérias e endoparasitos em psitacídeos exóticos**. 2019.

Trabulsi LR, Keller R, Tardelli Gomes TA. ***Escherichia coli* enteropatogênica típica e atípica**. Emerg Infect Dis. 2002; 8 :508–13. [[Artigo gratuito do PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

TULLY, T.N.Jr. **Avian Respiratory Diseases: Clinical Overview**. Journal of Avian Medicine and Surgery, v. 9, n. 3, p. 162-174, 1995.

WHO. **Critically important antimicrobials for human medicine: ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to nonhuman use. 2017**. <https://apps.who.int/iris/bitstream/hand>

XAVIER, Ronnierik dos Santos. Sorologia para salmonella pullorum, mycoplasma gallisepticum e mycoplasma synoviae em aves silvestre e exóticas atendidas no hospital veterinário-UFPB. 2019.

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>