



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**MICRO-ORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA VETERINÁRIA E ZONÓTICOS EM
POMBOS DOMÉSTICOS (*Columba livia domestica*) DO DISTRITO FEDERAL,
BRASIL**

CARINA DA COSTA KREWER

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

**BRASÍLIA/DF
DEZEMBRO DE 2017**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**MICRO-ORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA VETERINÁRIA E ZONÓTICOS EM
POMBOS DOMÉSTICOS (*Columba livia domestica*) DO DISTRITO FEDERAL,
BRASIL**

CARINA DA COSTA KREWER

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 192D/2017

**BRASÍLIA/DF
DEZEMBRO DE 2017**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**MICRO-ORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA VETERINÁRIA E ZONÓTICOS EM
POMBOS DOMÉSTICOS (*Columba livia domestica*) DO DISTRITO FEDERAL,
BRASIL**

CARINA DA COSTA KREWER

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA
AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS ANIMAIS.**

APROVADA POR:

**Márcio Botelho de Castro, Prof. Dr. (Universidade de Brasília – UnB)
(ORIENTADOR)**

Cristiano Barros de Melo, Prof. Dr. (Universidade de Brasília – UnB)

Andrea Queiroz Maranhão, Prof.^a Dra. (Universidade de Brasília – UnB)

**Cíntia Silva Minafra e Rezende, Prof.^a Dra. (Universidade Federal de Goiás – UFG)
(EXAMINADOR EXTERNO)**

BRASÍLIA/DF, 13 DE DEZEMBRO DE 2017.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por guiar e proteger meus caminhos todos os dias.

Aos meus pais Pedro e Eunice, pelo amor incondicional, suporte e incentivo que deles recebo a cada dia. A minha irmã Cristina e ao meu cunhado Arthur, pelo auxílio e compreensão durante a realização deste trabalho, e por serem companheiros em todas as situações.

Ao meu noivo Felipe, por todo o incentivo, amor, cuidado e companheirismo em todas as situações e também pelo auxílio nas coletas de amostras.

Ao Prof. Cristiano Barros de Melo, por me apresentar a Universidade de Brasília e o Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais.

Ao Prof. Márcio Botelho de Castro, pela oportunidade de orientação e por me permitir desenvolver um trabalho na minha área de atuação.

Ao Prof. Mateus Matiuzzi da Costa, por ter uma mente brilhante e um coração gigante, por não medir esforços e sempre me incentivar na superação de desafios. Muito obrigada por mais uma vez me receber em Petrolina.

À avó Anita e à memória dos avós Nestor, Olmiro e Olinda (*in memoriam*), pelo exemplo de vida, orações e incentivo. Aos tios, primos, demais familiares e amigos que, com muito carinho, me apoiaram e acreditaram na concretização deste trabalho.

À Tia Teresa, Tio Paulinho, Vó Luzinete, Ana, Pedro, Karla, Elô e Cia, minha família brasileira, pelo carinho e torcida em todos os momentos.

À Dona Erani e ao Gabriel, minha família petrolinense, por todo o carinho, auxílio, cuidado e momentos de alegria compartilhados.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da UNIVASF, pelo auxílio, momentos agradáveis e conhecimentos compartilhados.

À Direção do Instituto de Psicologia, aos colegas do IP e aos amigos do Laboratório de Análise Experimental do Comportamento, pela compreensão, torcida e carinho durante a realização do doutorado.

À Universidade de Brasília, em especial ao Programa de Pós-Graduação Ciências Animais e seus professores, pela oportunidade de realização deste trabalho e contribuição à minha formação.

Aos criadores de pombos que gentilmente permitiram a coleta de amostras e contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
CAPÍTULO 1	1
1 INTRODUÇÃO	2
1.1 PROBLEMÁTICA E RELEVÂNCIA	4
1.2 OBJETIVOS	5
1.2.1 Geral	5
1.2.2 Específicos	5
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO 2 - POMBOS DOMÉSTICOS (<i>Columba livia domestica</i>): RESERVATÓRIOS DE AGENTES INFECCIOSOS IMPORTANTES PARA A SAÚDE ANIMAL E HUMANA	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 DESENVOLVIMENTO	12
2.1 Domesticação e sinantropização de <i>C. livia domestica</i>	12
2.2 <i>C. livia domestica</i> e a saúde pública	13
2.3 Micro-organismos de importância veterinária e zoonóticos associados à <i>C. livia domestica</i>	14
2.4 Resistência antimicrobiana	21
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA, GENOTÍPICA E SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS DE <i>SWAB</i> CLOACAL EM POMBOS (<i>Columba livia domestica</i>) DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL	34
RESUMO	35
ABSTRACT	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1 Origem dos animais e amostragem	39
2.2 Coleta de amostras, isolamento e identificação de micro-organismos	39
2.3 Perfil de sensibilidade de <i>E. coli</i> e <i>Enterococcus</i> spp. aos antimicrobianos	40
2.4 Detecção da formação de biofilme em <i>E. coli</i> e <i>Enterococcus</i> spp.	41
2.5 Caracterização filogenética de <i>E. coli</i>	41
3 RESULTADOS	42
4 DISCUSSÃO	44
5 CONCLUSÃO	50
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
CAPÍTULO 4	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS	60

RESUMO

MICRO-ORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA VETERINÁRIA E ZONÓTICOS EM POMBOS DOMÉSTICOS (*Columba livia domestica*) DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL

Carina da Costa Krewer¹, Márcio Botelho de Castro¹
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB, Distrito Federal

Pombos domésticos estão amplamente distribuídos nos centros urbanos e podem constituir um reservatório de patógenos fúngicos e bacterianos. Este trabalho teve como objetivos caracterizar micro-organismos de importância veterinária e zoonóticos em *swab* cloacal de *Columba livia domestica* clinicamente saudáveis mantidos em criatórios e em um laboratório de experimentação animal no Distrito Federal. Das 100 amostras de *swab* cloacal analisadas, 75% foram positivas no cultivo microbiológico em ágar sangue, sendo que *Escherichia coli* (64%) e *Enterococcus* spp. (18%) caracterizaram-se como as bactérias mais frequentes. Nenhuma amostra mostrou-se positiva para *Salmonella* spp. e em apenas uma (1%) foi identificado *Cryptococcus* spp. Em relação à sensibilidade de *E. coli* aos antimicrobianos, tetraciclina, estreptomicina e sulfazotrim constituíram as drogas menos eficazes *in vitro*. Nos isolados de *Enterococcus* spp. testados, os menores percentuais de sensibilidade observados foram para oxacilina, cefalexina e ácido nalidíxico. A ciprofloxacina destacou-se como a droga mais eficaz *in vitro* para ambas as espécies. Doze (18,1%) isolados de *E. coli* e oito (80%) de *Enterococcus* spp. demonstraram resistência múltipla a três ou mais classes de drogas testadas. A formação de biofilme foi evidenciada em todos os isolados de *Enterococcus* spp. avaliados e em 61% das cepas de *E. coli*. A caracterização filogenética de *E. coli* revelou que a maior parte dos isolados pertenceram ao grupo B2 (46,9%), seguido dos grupos A (29,7%) e D (23,4%). Os pombos domésticos avaliados são portadores de micro-organismos multirresistentes e potencialmente patogênicos para humanos, incluindo *Enterococcus* spp. resistente à vancomicina.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., resistência antimicrobiana, vancomicina, biofilme

ABSTRACT

VETERINARY AND ZONOTIC MICROORGANISMS IN DOMESTIC PIGEONS (*Columba livia domestica*) FROM DISTRITO FEDERAL, BRAZIL

Carina da Costa Krewer¹, Márcio Botelho de Castro¹
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB, Distrito Federal

Domestic pigeons are widely distributed in urban centers and may constitute a reservoir of fungic and bacterial pathogens. This work aimed to characterize microorganisms of veterinary and zoonotic significance in cloacal swabs of healthy *Columba livia domestica* from pigeons breeders and from an animal experimentation laboratory located in Distrito Federal. Of the 100 samples of cloacal swabs analyzed, 75% were positive in the microbiological culture in blood agar, being *Escherichia coli* (64%) and *Enterococcus* spp. (18%) the most frequent bacteria. No samples were positive for *Salmonella* spp. and only one (1%) was positive to *Cryptococcus* spp. Regarding the sensitivity of *E. coli* to antimicrobials, tetracycline, streptomycin and sulfazotrim were the least effective drugs *in vitro*. For *Enterococcus* spp. isolates, the lowest percentages of sensitivity were observed for oxacillin, cephalexin and nalidixic acid. Ciprofloxacin was the most effective drug *in vitro* for both species. Twelve (18.1%) *E. coli* isolates and eight (80%) *Enterococcus* spp. showed multiple resistance to three or more classes of drugs tested. Biofilm formation was evidenced in all *Enterococcus* spp. evaluated and in 61% of *E. coli* strains. The phylogenetic characterization of *E. coli* revealed that most of the isolates belonged to group B2 (46.9%), followed by groups A (29.7%) and D (23.4%). The evaluated domestic pigeons are carriers of multiresistant and potentially pathogenic microorganisms, including vancomycin resistant *Enterococci*.

Keywords: *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., antimicrobial resistance, vancomycin, biofilm

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

- Tabela 1.** Combinações de micro-organismos isolados a partir de 100 amostras de *swab* cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios e em laboratório de experimentação animal no Distrito Federal, Brasil 57
- Tabela 2.** Perfil de multirresistência de *Escherichia coli* (n=12) isoladas a partir de *swab* cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios (A a C) no Distrito Federal a três ou mais classes de drogas antimicrobianas 58
- Tabela 3.** Perfil de multirresistência de *Enterococcus* spp. (n=10) isolados a partir de *swab* cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios (A) e em laboratório de experimentação animal (D) no Distrito Federal a três ou mais classes de drogas antimicrobianas 58
- Tabela 4.** Formação de biofilme e perfil de resistência de *Escherichia coli* (n=64) e *Enterococcus* spp. (n=10) isolados a partir de *swab* cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios e em laboratório de experimentação animal no Distrito Federal. 59

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Columba livia domestica, conhecido popularmente como pombo comum ou doméstico, caracteriza-se como umas das 50 espécies pertencentes ao gênero *Columba*, ordem dos Columbiformes. Esta ave, originária de regiões rochosas do leste europeu e sul asiático, foi domesticada há cerca de cinco mil anos no mediterrâneo oriental, sendo introduzida nas Américas e em toda a Europa (ROCHA-E-SILVA et al., 2014). No século XVI, os pombos foram trazidos ao Brasil como animais domésticos para fins de alimentação ou comunicação, adaptando-se rapidamente aos centros urbanos pela facilidade de locais para habitação, abundância de alimentos e ausência de predadores naturais (SCHULLER, 2005).

O compartilhamento de *habitat* entre pombos domésticos e a população humana resulta em uma ameaça potencial para a saúde pública, uma vez que estas aves podem atuar como reservatório de pelo menos 60 espécies de agentes zoonóticos. Além disso, a capacidade de voar por longas distâncias acentua seu potencial como dispersoras de micro-organismos (VÁZQUEZ et al., 2010). Entre os anos de 1941 e 2003, Haag-Wackernagel & Moch (2004) verificaram 176 relatos científicos de diferentes países documentando a ocorrência de doenças em humanos adquiridas a partir de pombos domésticos, sendo que em 99% dos casos a transmissão ocorreu por meio de aerossóis.

Dentre os patógenos que podem ser carregados por pombos, *Escherichia coli* caracteriza-se como uma bactéria Gram negativa que coloniza o trato gastrointestinal de animais e humanos, atuando de forma importante na manutenção da fisiologia intestinal (BORGES et al., 2017). Estirpes capazes de causar doença classificam-se em patogênicas intestinais e extraintestinais (ExPEC), sendo que as primeiras produzem doença entérica e são geralmente divididas em seis patotipos, de acordo com critérios clínicos e genéticos de virulência. ExPEC, por sua vez, têm sido descritas em casos de infecções do trato urinário, meningite neonatal e colibacilose aviária, ocasionando altas taxas de morbidade e mortalidade

em humanos e aves, além de resultar em perdas econômicas significativas para a indústria avícola (KAPER et al., 2004).

Espécies de *Enterococcus*, classificadas como bactérias Gram positivas, compõem a microbiota do trato intestinal de animais e humanos, sendo também reconhecidas como causas emergentes de doença sistêmica em aves e em pessoas hospitalizadas (MAKRAI et al., 2011; O'DRISCOLL & CRANK, 2015). A virulência de *Enterococcus* spp. é atribuída à combinação de fatores celulares e extracelulares, e a formação de biofilme constitui um dos principais mecanismos para a infecção bacteriana persistente, além de estar associada à redução da sensibilidade aos antimicrobianos (MOHAMED & HUANG, 2007). Infecções por *Enterococcus* resistente à vancomicina caracterizam-se por tratamento difícil e oneroso, com aumento significativo nas taxas de mortalidade (O'DRISCOLL & CRANK, 2015).

Bactérias do gênero *Salmonella* são Gram negativas e compreendem um total de 2.659 sorotipos identificados, dentre os quais 2.637 pertencem à espécie *S. enterica* e os demais estão classificados na espécie *S. bongori* (SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2011; ISSENHUTH-JEANJEAN et al., 2014). Nas aves, as salmonelas podem provocar três doenças distintas: a pulrose, por meio da infecção por *S. enterica* sorovar Pullorum; o tifo aviário, por *S. enterica* sorovar Gallinarum; e o paratifo aviário, causado por qualquer bactéria do gênero *Salmonella*, exceto os agentes da pulrose e do tifo aviário. Entre as salmonelas paratifoideas, *Salmonella* Typhimurium, *S. Agona* e *S. Enteritidis* se destacam devido ao caráter zoonótico (ROCHA-E-SILVA et al., 2014). Pombos domésticos têm sido identificados como portadores de *S. enterica*, incluindo os sorotipos que oferecem risco à saúde pública (HIDASI et al., 2015).

Cryptococcus neoformans é a forma assexuada do basidiomiceto *Filobasidiella neoformans*, levedura encapsulada oportunista que causa micose primariamente pulmonar em humanos e que apresenta tropismo pelo sistema nervoso central. Este micro-organismo é encontrado em excretas de pombos domésticos, nas quais pode permanecer viável para contágio por um período de até dois anos. A infecção por *C. neoformans* é adquirida por meio da inalação de propágulos fúngicos no ambiente e acomete principalmente indivíduos com déficit imunitário, como transplantados de órgãos, pacientes em tratamento com quimioterápicos e portadores do vírus da AIDS (AKRAM & KOIRALA, 2017). Alta prevalência de *Cryptococcus* spp. em fezes de pombos obtidas de ambiente hospitalar, escolar e de praças ao ar livre tem sido relatada no Brasil, alertando para o risco de infecção pela levedura em locais de circulação pública (REOLON et al., 2004; TAKAHARA et al., 2013).

1.1 PROBLEMÁTICA E RELEVÂNCIA

Com a expansão da população de pombos no Distrito Federal nos últimos anos, os relatos de nidificação em residências, infestação por ectoparasitas em escolas e outros locais públicos, assim como casos de enfermidades em pessoas que tiveram contato com essas aves, tem sido amplamente divulgados em diferentes meios de comunicação. Apesar disso, ainda são poucos os estudos realizados no Brasil que buscam elucidar os riscos que os pombos representam na disseminação de micro-organismos para humanos e outros animais.

A pesquisa de micro-organismos de importância veterinária e zoonóticos em *Columba livia* ampliará o conhecimento acerca da microbiota da espécie por meio da caracterização fenotípica de *E. coli* e *Enterococcus* spp., potenciais causadores de doenças relevantes em animais e pessoas. Além disso, o estudo dos mecanismos de resistência e patogenicidade destes micro-organismos melhora a compreensão da epidemiologia das enfermidades transmitidas por pombos, bem como auxilia no desenvolvimento de medidas efetivas para sua prevenção e controle. Ainda, a presença ou ausência de *Salmonella* spp. e *Cryptococcus* spp. permitirá identificar a distribuição destes agentes nas amostras estudadas, contribuindo com informações sobre o risco potencial de transmissão destes patógenos por pombos domésticos do Distrito Federal.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Geral

- Detectar micro-organismos de importância veterinária e zoonóticos em pombos (*Columba livia domestica*) mantidos em criatórios e em laboratório de experimentação animal no Distrito Federal, Brasil.

1.2.2 Específicos

- Identificar fenotipicamente *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. em amostras de *swab* cloacal de pombos por cultivo microbiológico;
- Pesquisar a presença de *Salmonella* spp. e *Cryptococcus* spp. em amostras de *swab* cloacal de pombos por cultivo microbiológico;
- Determinar a sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos em isolados de *E. coli* e de *Enterococcus* spp. pela técnica de disco-difusão;
- Verificar a formação de biofilme em isolados de *E. coli* e de *Enterococcus* spp. pela técnica de adesão em microplacas.
- Verificar a presença de marcadores filogenéticos em isolados de *E. coli* pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR);

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKRAM, S. M; KOIROLA, J. *Cryptococcus* (Cryptococcosis), Cutaneous. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island: StatePearls Publishing, 2017. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448148/>> Acesso em: 20 ago. 2017.
- BORGES, C. A. et al. Wild birds and urban pigeons as reservoirs for diarrheagenic *Escherichia coli* with zoonotic potential. **Journal of Microbiology**, v. 10, p. 1-6, 2017.
- HAAG-WACKERNAGEL, D.; MOCH, H. Health hazards posed by feral pigeons. **Journal of Infection**, v. 48, p. 307-313, 2004.
- HIDASI, H. W. et al. Detection of *Salmonella* enterica in synanthropic birds in the metropolitan area of Goiania-Go. **Clinical Microbiology: Open Access**, v. 4, n. 3, p. 1-6, 2015.
- ISSENHUTH-JEANJEAN, S. et al. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, v. 165, n. 7, p. 526-530, 2014.
- KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews in Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004.
- MAKRAI, L. et al. Association of *Enterococcus cecorum* with vertebral osteomyelitis and spondylolisthesis in broiler parent chicks. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 59, n. 1, p. 11-21, 2011.
- MOHAMED, J. A.; HUANG, D. B. Biofilm formation by enterococci. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, n. 12, p. 1581-1588, 2007.
- O'DRISCOLL, T.; CRANK, C. W. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. **Infection and Drug Resistance**, v. 24, n. 8, p. 217-230, 2015.
- REOLON, A. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 5, p. 293-298, 2004.

ROCHA-E-SILVA, R. C. et al. O pombo (*Columba livia*) como agente carreador de *Salmonella* spp. e as implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 2, p. 189-194, 2014.

SÁNCHEZ-VARGAS, F. M.; ABU-EL-HAIJA, M. A.; GÓMEZ-DUARTE, O. G. *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention. **Travel Medicine na Infectious Diseases**, v. 9, p. 263-377, 2011.

SCHULLER, M. Pombos urbanos: um caso de saúde pública. **Revista da SBCC**, v. 29, p. 32-37, 2005.

TAKAHARA, D. T. et al. Primeiro registro de *Cryptococcus neoformans* em excretas de pombos provenientes de locais públicos e residenciais de área metropolitana de Cuiabá, Estado do Mato Grosso, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 6, p. 371-376, 2013.

VÁZQUEZ, B. et al. Screening for several potential pathogens in feral pigeons (*Columba livia*) in Madrid. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n. 1, p. 1-6, 2010.

CAPÍTULO 2

POMBOS DOMÉSTICOS (*Columba livia domestica*): RESERVATÓRIOS DE AGENTES INFECCIOSOS IMPORTANTES PARA A SAÚDE ANIMAL E HUMANA

RESUMO

Os pombos domésticos (*C. livia domestica*) são animais sinantrópicos de ampla ocorrência em grandes centros urbanos, onde se constituem em uma importante fonte de zoonoses. As fezes das aves são a principal via de eliminação de agentes infecciosos, possibilitando a contaminação de fontes de água potável, cultivos agrícolas e objetos posteriormente manipulados por pessoas. Este trabalho expõe as principais características microbiológicas associadas a *Cryptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., micro-organismos que podem ser disseminados nas excretas de pombos. Estes agentes podem ocasionar, no homem e em outras espécies animais, infecções graves e de difícil tratamento, especialmente pela ocorrência de cepas multirresistentes aos antimicrobianos. As bactérias desenvolvem mecanismos de defesa que impedem a ligação da droga sítio alvo, promovem a sua inativação ou ainda facilitam o seu efluxo da célula. Essas habilidades geralmente são codificadas por elementos genéticos que podem ser trocados entre os micro-organismos e se tornam marcadores moleculares de resistência. Nas doenças ocasionadas por cepas multirresistentes, as drogas comumente utilizadas não são capazes de combater a evolução dos sintomas, o que as torna um problema de difícil controle para as organizações de saúde humana e animal. Assim, este trabalho sugere o potencial risco que as aglomerações de pombos representam para outras espécies, principalmente pelo contato com suas excretas.

Palavras-chave: aves sinantrópicas, resistência antimicrobiana, zoonoses

ABSTRACT

The domestic pigeons (*C. livia domestica*) are synanthropic animals of wide occurrence in urban centers, where they constitute an important source of zoonoses. Bird feces are the main route of elimination of infectious agents, allowing contamination of drinking sources, agricultural crops and objects manipulated by people. This work shows the main microbiological characteristics associated with *Cryptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., microorganisms that can be disseminated in excreta of pigeons. These agents may cause serious and difficult to treat infections in man and other animal species, especially due to the occurrence of multiresistant strains of antimicrobials. As bacteria develop defense mechanisms that prevent a link from the target drug site, they promote its inactivation or further facilitate its efflux from the cell. These versatilities are encoded by genetic elements that can be exchanged between the microorganisms and become molecular markers of resistance. In diseases caused by multiresistant strains, drugs that are commonly used are not able to combat an evolution of symptoms, which makes it a problem of difficult control for human and animal health organizations. This work suggests the potential risk that agglomerations of pigeons represent for other species, mainly with contact with their excreta.

Keywords: synanthropic birds, antimicrobial resistance, zoonotic diseases

1 INTRODUÇÃO

Os pombos domésticos (*C. livia domestica*) habitam regiões urbanizadas em diversos países, sendo estimada a presença de centenas de milhões desses animais em todos os continentes, com exceção das regiões polares (HAAG-WACKERNAGEL, 2011). Essas aves, pertencentes à ordem dos Columbiformes, apresentam comprimento médio aproximado de 35 centímetros e grande variação no padrão de cores da plumagem. Caracterizam-se como granívoros, porém se adaptam facilmente ao consumo de restos alimentares e compostos orgânicos encontrados nos diversos ambientes das cidades. São animais monogâmicos e geralmente atingem a maturidade sexual aos seis meses de idade, sendo que a oferta de alimento disponível estimula a atividade reprodutiva e, por consequência, contribui para sua multiplicação desordenada nos centros urbanos (SCHULLER, 2005; VOGEL et al., 1994).

Dentre os animais sinantrópicos de interesse em saúde pública, os pombos domésticos são reconhecidos pela capacidade de albergar micro-organismos zoonóticos (VÁZQUEZ et al., 2010; DOVC et al., 2016). Aproximadamente 60 espécies de agentes patogênicos para humanos já foram identificados em *C. livia*, os quais são eliminados principalmente nas excretas das aves e podem ser transmitidos por contato direto ou indireto, provocando diferentes tipos de doença clínica (HAAG-WACKERNAGEL & MOCK, 2004; LILLEHAUG et al., 2005). Além disso, a presença de pombos em criações avícolas comerciais ou o contato com outras espécies de aves domésticas ou silvestres pode favorecer a aquisição e disseminação de patógenos no ambiente, incluindo bactérias resistentes aos antimicrobianos ou causadoras de doenças economicamente importantes em animais de produção (RADIMERSKY et al., 2010).

Este trabalho tem como objetivo descrever aspectos sobre a ocorrência de pombos domésticos nos ambientes urbanos e sua participação como reservatórios e potenciais transmissores de agentes infecciosos relevantes para a saúde animal e humana.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Domesticação e sinantropização de *C. livia domestica*

Pombos domésticos caracterizam-se como aves da ordem dos Columbiformes, família Columbidae, gênero *Columba*, espécie *livia*, as quais são subdivididas em 14 subespécies de acordo com características morfológicas e comportamentais (VOGEL et al., 1994). Estão entre os mais antigos animais domesticados no mundo, sendo que em 2600 a.C. os egípcios já utilizavam essas aves para alimentação e, posteriormente, os romanos também passaram a apreciá-las na gastronomia (SCHULLER, 2005). Além disso, os pombos foram amplamente usados para o envio de mensagens e captura de imagens estratégicas na Grécia e durante as duas guerras mundiais, bem como para realização de diferentes experimentos científicos em medicina e psicologia no século XX (HAAG-WACKERNAGEL, 2011). Ainda, a criação desses animais com finalidade esportiva tornou-se crescente na Europa a partir da década de 30 (FPC, 2017).

Relatos indicam que pombos comuns e pombos-correio (*C. livia domestica*) surgiram a partir da domesticação dos denominados pombos-das-rochas (*C. livia*), aves silvestres nativas da costa litorânea do leste europeu, norte africano e sul asiático (STOCK & HAAG-WACKERNAGEL, 2016). A introdução desses animais na América ocorreu por meio de embarcações durante o período de colonização e, simultaneamente, foram também disseminados para outras regiões do planeta, tornando-se cosmopolitas e adaptados à coabitação com humanos (MAGNINO et al., 2009). No Brasil, os pombos foram trazidos pelos portugueses ainda no século XVI como fonte de alimentação e comunicação e, devido à fuga ou soltura, passaram a se multiplicar pelo território nacional (SCHULLER, 2005). Até o início do século XX, essas aves foram consideradas boas adições às paisagens urbanas, sendo

que fotografias de pessoas alimentando pombos eram divulgadas como cartões postais em locais turísticos (SPENNEMANN, WATSON, 2017).

A proliferação desordenada de *C. livia domestica* expandiu-se consideravelmente após a Segunda Guerra Mundial, associada ao avanço no processo de urbanização. Em 1994, estimou-se a população mundial de 500 milhões de pombos convivendo com humanos nos diferentes centros urbanos (VOGEL et al., 1994). A cidade de Barcelona apresenta mais de 4.242 pombos por quilômetro quadrado, destacando-se entre as metrópoles com maior densidade dessas aves em áreas urbanizadas (SENAR et al., 2009). De acordo com Hetmański et al. (2011), o tamanho da população de pombos é diretamente influenciado pelo número de habitantes humanos, pela área da cidade e pelas suas características, como a idade dos edifícios, a distribuição espacial dos recursos e o fornecimento de alimentos.

Vários fatores contribuíram e contribuem para o processo de sinantropização de *C. livia*, sendo que a estrutura de edifícios, torres e pontes nas cidades fornece um ambiente semelhante aos penhascos rochosos encontrados no *habitat* dessas aves (SAKHAWAT et al., 2013). Além disso, o sucesso da adaptação dos pombos urbanos pode ser atribuído à disponibilidade de locais adequados para nidificação e abrigo, como beirais de prédios, fachadas e saliências arquitetônicas em residências. Ainda, a ausência de predadores e a constante oferta de alimento, deliberada ou acidental pela população, mesmo no inverno, são importantes fatores que predisõem aos altos números de *C. livia* (SPENNEMANN; WATSON, 2017). De acordo com Schuller (2005), o alimento é um fator limitante para a espécie e o bando tende a ocupar locais onde há fartura. Entretanto, se a fonte alimentar é escassa, o bando se desloca diariamente até o alimento, podendo passar 85% do seu tempo percorrendo um raio de ação de até 600 metros do seu local de moradia.

2.2 *C. livia domestica* e a saúde pública

A presença de grandes populações de pombos domésticos nas diversas cidades do mundo transformou-se em um importante problema de saúde pública (LEAL et al., 2015). Considerado pelas autoridades governamentais como uma das principais pragas urbanas existentes, *C. livia* atuam como vetores de agentes infecciosos causadores de enfermidades em humanos e em outras espécies animais (HUBÁLEK, 2008). Além disso, a aglomeração

dessas aves em parques, escolas, hospitais e outros locais gera inúmeros inconvenientes estéticos e econômicos relacionados ao acúmulo de sujidades, deterioração de veículos e edificações, além de danos ao patrimônio público (MIRANDA et al., 2014).

Segundo Haag-Wackernagel & Moch (2004), *C. livia domestica* podem ser carreadores de pelo menos 60 espécies de micro-organismos patogênicos para o homem, incluindo bactérias, vírus, fungos e protozoário. Criptococose, clamidiose, salmonelose e histoplasmose destacam-se entre as mais frequentes zoonoses transmitidas por pombos domésticos, acometendo principalmente crianças, idosos e pacientes imunossuprimidos (MAGNINO et al., 2009; MARENZONI et al., 2016). Além disso, reações alérgicas também têm sido descritas ocasionalmente em pessoas que tiveram contato com ectoparasitas oriundos dessas aves (HUBÁLEK, 2008). Interações humanas com pombos que ocorrem por meio da higienização de excrementos em residências ou criatórios, manutenção ou tentativa de eliminação de ninhos em janelas ou a aparentemente inócua alimentação dessas aves em ambientes públicos caracterizam-se como ações de risco para a aquisição e desenvolvimento de enfermidades (HAAG-WACKERNAGEL & MOCH, 2004).

As fezes das aves constituem a principal via de eliminação de agentes infecciosos, possibilitando a contaminação de fontes de água potável, cultivos agrícolas e objetos posteriormente manipulados por pessoas (LILLEHAUG et al., 2005). Ao realizar a avaliação espaço-temporal de pombos habitantes de Basileia, na Suíça, Rose et al. (2006) verificaram que as aves percorreram a distância máxima de cinco quilômetros, indicando a potencial dispersão de patógenos no ambiente durante o forrageamento. Além disso, sabe-se que a inalação de fezes ressecadas em suspensão, durante procedimentos de limpeza do ambiente ou pelo deslocamento dos pombos em correntes de ar, também representa uma rota de transmissão significativa de micro-organismos aviários para humanos (VÁZQUEZ et al., 2010; MIRANDA et al., 2014). Aguiar & Luciano (2011) destacam que condições deficientes de conservação das ruas e de locais habitados pelas aves, com acúmulo de lixo e resíduos fecais, possuem relação direta com maior exposição a agentes infecciosos e proliferação de pragas.

2.3 Micro-organismos de importância veterinária e zoonóticos associados à *C. livia domestica*

2.3.1 *Cryptococcus* spp.

Em sua forma assexuada, este basidiomiceto caracteriza-se como uma levedura encapsulada, esférica ou globosa com diâmetro aproximado entre cinco e 10 micrômetros, sem hifas ou pseudo-hifas e com brotamentos simples ou, raramente, múltiplos (QUINN et al., 2011). O gênero *Cryptococcus* spp. é composto por 38 espécies de leveduras, sendo *C. neoformans* dividido em três variedades e cinco sorotipos com base em antígenos específicos da cápsula mucopolissacarídica: *C. neoformans* variedade *grubii* (sorotipo A), *C. neoformans* variedade *neoformans* (sorotipo D), *C. neoformans* variedade *gattii* (sorotipos C e D) e sorotipo AD, o qual apresenta características de ambos sorotipos e é considerado como híbrido (BOEKHOUT et al., 2001). Há alguns anos, devido à descoberta de diferenças genéticas importantes em relação à *C. neoformans*, a variedade *gattii* foi reclassificada como uma nova espécie, *C. gattii* (KWON-CHUNG et al., 2002).

C. neoformans e *C. gattii* constituem as espécies de maior importância clínica, as quais estão associadas ao desenvolvimento de micose cutânea, respiratória e neurológica potencialmente fatal em humanos, mamíferos domésticos e, menos frequentemente, em animais silvestres (MADA & ALAM, 2017). Enquanto *C. neoformans* apresenta distribuição cosmopolita e ocorre em uma variedade de nichos, como vegetais em decomposição, frutas, leite, cavidade nasal de cães e gatos e, principalmente, solos contaminados com excretas de aves (REOLON et al., 2004), *C. gattii* pode ser encontrado em folhas, sementes, flores e cascas de eucalipto, assim como em ocos de árvores coníferas de regiões tropicais e subtropicais (GRANADOS & CASTAÑEDA, 2005). Segundo Quintero et al. (2005), fatores macroclimáticos da região, incluindo temperatura, umidade e exposição à luz influenciam na ocorrência de *Cryptococcus* spp. no ambiente, da mesma forma que características específicas do substrato em questão.

Desde a década de 50, quando a presença de *Cryptococcus* spp. em excretas de columbiformes foi primeiramente documentada (EMMONS, 1955), diversos trabalhos científicos nacionais e internacionais têm demonstrado a relação entre a levedura, *C. livia* e outras aves. No México, Canónico-González et al. (2013) isolaram *C. neoformans* e *C. albidus* em 20% (10/50) das amostras fecais de pombos domésticos em ambientes na região de Monterrey, sendo que a detecção de *C. neoformans* em 34% (34/100) das amostras de fezes secas de *C. livia* também foi observada na cidade de Tripoli, Líbia (ELLABIB et al., 2016). No Brasil, índices de positividade para *Cryptococcus* spp. entre 6,6% e 100% das

excretas ambientais de pombos analisadas foram descritos no Rio Grande do Sul (REOLON et al., 2004), Goiás (KOBAYASHI et al., 2005), São Paulo (SOARES et al., 2005) Rio de Janeiro (BARONI et al., 2006) e Mato Grosso (TAKAHARA et al., 2013). Sabe-se que as fezes das aves constituem um meio favorável para o crescimento e manutenção da levedura por serem ricas em substâncias como creatinina, ácido úrico e purinas, as quais representam importantes fontes de nitrogênio para multiplicação e manutenção de *Cryptococcus* spp. (CASALI et al., 2001; FILIÚ et al., 2002).

A infecção por *Cryptococcus* spp. geralmente é adquirida a partir da inalação de basidiósporos de origem ambiental, que possuem tamanho entre um e dois micrômetros, ou de células fúngicas desidratadas suficientemente pequenas para introdução nas vias aéreas e deposição nos alvéolos pulmonares (AKRAM & KOIRALA, 2017). Além disso, a ingestão de poeira ou de alimentos contaminados também incluem vias de infecção, assim como a inoculação primária do agente na pele, a qual ocorre mais raramente (QUEIROZ et al., 2008). O desenvolvimento da criptococose e a apresentação do quadro clínico estão intimamente associados ao grau de imunidade do hospedeiro, sendo que *C. neoformans* caracteriza-se como um patógeno oportunista, acometendo especialmente pacientes imunossuprimidos transplantados, portadores do vírus da AIDS ou submetidos à corticoterapia prolongada. *C. gattii*, por sua vez, é conhecido como agente primário e frequentemente causa doença em hospedeiros imunocompetentes (AKRAM & KOIRALA, 2017).

2.3.2 *Enterococcus* spp.

Pertencentes à família *Enterococcaceae*, estas bactérias caracterizam-se morfológicamente como cocos Gram positivos, os quais apresentam formato ovoide e geralmente ocorrem aos pares ou em cadeias curtas. São anaeróbicas facultativas, catalase negativa, não formam esporos e crescem em meios com altas concentrações de sal, bem como em temperaturas variáveis entre 10 e 45°C, demonstrando temperatura ótima de crescimento a 35°C (SVEC & FRANZ, 2014). Resistentes e versáteis, as mais de 50 espécies que compõem o gênero *Enterococcus* encontram-se amplamente distribuídas na natureza e possuem capacidade para sobreviver e se desenvolver em diversos ambientes, incluindo solo, água, alimentos e espécies vegetais (BEN SAID et al., 2015).

Enterococcus spp. são habitantes normais do trato gastrointestinal de insetos, aves, répteis, mamíferos e humanos, sendo considerados bons indicadores de contaminação fecal em fontes de água e no ambiente em geral (BOEHM & SASSOUBRE, 2014). Apesar de geralmente apresentarem nível de virulência baixo, em comparação a outros gêneros bacterianos, *Enterococcus* spp. podem atuar como patógenos oportunistas provocando infecções graves associadas com morbidade e mortalidade significativas em seus hospedeiros (ELLERBROEK, 2004). Historicamente, espécies de *Enterococcus* passaram a ser relatadas entre as principais causas de infecções em ambientes hospitalares a partir da década de 70. Embora as razões para emergência deste patógeno não estejam completamente esclarecidas, sabe-se que *Enterococcus* spp. apresentam resistência intrínseca a diferentes drogas antimicrobianas comumente utilizadas e possuem capacidade para adquirir e disseminar determinantes de resistência, fatores que elevam os gastos com medicamentos e dificultam o tratamento das infecções enterocócicas (LEBRETON et al., 2014; O'DRISCOLL & CRANK, 2015).

Em medicina veterinária, casos de doenças septicêmicas por *Enterococcus* spp. são relatados tanto em espécies de companhia (SEMEDO-LEMSADDEK et al., 2016), quanto em animais de produção (HONG-ZHOU et al., 2002). *Enterococcus cecorum* tem sido apontado como um patógeno emergente em aves nos últimos dez anos, estando associados a surtos de condrite e osteomielite com alta mortalidade em frangos de corte em diferentes países europeus (MAKRAI et al., 2011; SZELESZCZUK et al., 2013). Infecções sistêmicas por *E. cecorum* também já foram relatadas em patos e pombos domésticos na Alemanha (JUNG et al., 2013; JUNG et al., 2014), indicando que o agente é capaz de induzir doença em diferentes espécies aviárias. Ainda, estudos indicam que *E. columbae* constitui a principal espécie recuperada do trato intestinal de *C. livia domestica* saudáveis, sendo que *E. faecalis* e *E. faecium* são menos frequentemente encontrados (BAELE et al., 2002; BUTAYE et al., 2002).

E. faecalis e *E. faecium* destacam-se como as espécies mais abundantes no trato gastrointestinal humano, comportando-se também como as mais relevantes clinicamente. Estudos sugerem que *E. faecalis* demonstra maior patogenicidade que *E. faecium*, no entanto, este último geralmente apresenta maiores índices de resistência antimicrobiana e compõe a maioria das infecções causadas por *Enterococcus* resistente à vancomicina (vancomycin-resistant enterococci - VRE) nos Estados Unidos (HIDRON et al., 2008; O'DRISCOLL & CRANK, 2015). *Enterococcus* spp. são considerados como a segunda maior causa de infecções nosocomiais em todo o mundo, estando associados a casos de bacteremia, endocardite, infecções do trato urinário, de feridas cirúrgicas e mais raramente do sistema

nervoso central (O'DRISCOLL & CRANK, 2015). De acordo com Salgado (2008), quadros de bacteremia por VRE apresentam aumento de 2,5 vezes na mortalidade, quando comparados a casos de bacteremia por isolados sensíveis à vancomicina.

Em trabalho realizado no Rio Grande do Sul, *E. faecalis* caracterizou-se como a espécie predominantemente isolada a partir de diversos sítios em pacientes ambulatoriais e internados em um hospital universitário, sendo que as espécies *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* e *E. hirae* contabilizaram 1% dos isolamentos (HÖRNER et al., 2005). Na China, pesquisadores investigaram um surto de septicemia por *E. faecium* em suínos e em 40 pessoas que tiveram contato com esses animais, sendo que os isolados de origem animal e humana apresentaram padrões indistinguíveis de suscetibilidade antimicrobiana e na análise filogenética (HONG-ZHOU et al., 2002). Com base nas evidências moleculares, os mesmos autores sugeriram a transmissão de *E. faecium* a partir de suínos para humanos.

2.3.3 *Escherichia coli*

Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, esta bactéria caracteriza-se morfolologicamente como cocobacilo Gram negativo, anaeróbico facultativo, que apresenta cápsula e flagelos peritríquios para motilidade (QUINN et al., 2011). É comensal do trato gastrointestinal de aves, mamíferos e humanos, no entanto, em situações que incluem baixa imunidade do hospedeiro pode causar enfermidades relevantes. Uma vez eliminada no ambiente, *E. coli* é capaz de sobreviver por até 11 semanas quando em condições ideais de temperatura e umidade (GUABIRABA & SCHOULER, 2015).

E. coli capazes de provocar doença classificam-se em patogênicas intestinais e extraintestinais (ExPEC), sendo que as primeiras são divididas em cinco principais patotipos, de acordo com a presença de fatores de virulência específicos combinados (KAPER et al., 2004). *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC) produzem quadros agudos de diarreia em suínos e bovinos neonatos, recém desmamados e humanos, ocasionando altas taxas de mortalidade infantil em países em desenvolvimento (QADRI et al., 2005; SOUZA et al., 2016). Além disso, casos de gastroenterite, que podem evoluir para o desenvolvimento da grave síndrome hemolítica urêmica, têm sido verificados em pessoas infectadas por *E. coli* Shigatoxigênica (STEC), também conhecida como *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) (PATON & PATON, 1998).

Ainda, *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) apresenta características bioquímicas e mecanismos de patogenicidade semelhantes à *Shigella* spp., causando severa reação inflamatória pela invasão do epitélio do cólon com diarreia sanguinolenta persistente (HARRINGTON et al., 2006).

Diferentemente das patogênicas intestinais, estirpes de ExPEC não produzem doença entérica e expressam poucos mecanismos de virulência em comum, sendo geralmente caracterizadas a partir do sítio de isolamento em seus hospedeiros (SMITH et al., 2007). *E. coli* uropatogênica (UPEC) e *E. coli* associada à meningite neonatal (MNEC) estão entre as principais causas de infecções adquiridas do trato urinário e nervoso em adultos e recém-nascidos, respectivamente, resultando em elevados gastos com medicamentos e mortalidade neonatal (BONACORSI & BINGEN, 2005; WILES et al., 2008). Além disso, trabalhos científicos de diversos países indicam que ExPEC também estão associadas à sepse abdominal, septicemia, pneumonia e infecções de tecidos moles humanas e animais (RILEY, 2014), tornando-se importante ressaltar que cepas UPEC e MNEC podem colonizar diferentes sítios do mesmo hospedeiro e, inclusive, hospedeiros de variadas espécies.

Dentre as ExPEC, *E. coli* patogênica aviária (APEC) tem sido responsável por elevados índices de morbidade e mortalidade em frangos de corte e poedeiras mundialmente, gerando perdas econômicas significativas para a indústria avícola, devido à diminuição na produção, condenação de carcaças e custos associados ao tratamento e profilaxia (SMITH et al., 2007). As aves infectadas pela bactéria, que pode atuar como patógeno primário ou secundário, desenvolvem colibacilose localizada ou sistêmica, manifestando quadros variáveis de onfalite, salpingite, peritonite, osteomielite, artrite, infecção do trato respiratório e colisepticemia (BARNES et al., 2008; LANDMAN et al., 2013). Pesquisadores também têm identificado a presença de APEC em amostras fecais de espécies de pássaros clinicamente saudáveis, incluindo perdizes (DÍAZ-SÁNCHEZ et al., 2012), guaruba (PRIOSTE et al., 2013) e pombos domésticos (BORGES et al., 2017). A similaridade genética encontrada entre APEC e outras ExPEC associadas a doenças em humanos sugere o potencial risco que as *E. coli* aviárias representam à saúde pública (MELLATA, 2013).

2.3.4 *Salmonella* spp.

Esta bactéria caracteriza-se como micro-organismo bacilar, Gram negativo, não formador de esporos, membro da família *Enterobacteriaceae* (QUINN et al., 2011). O gênero

Salmonella compreende as espécies *S. bongori* e *S. enterica*, sendo a segunda dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. *S. enterica* subsp. *enterica* apresenta 1.586 sorotipos identificados, que, apesar da alta similaridade genética, provocam diferentes tipos de enfermidades em variadas espécies. Outros 1.073 sorotipos existentes classificam-se em *S. bongori* e outras subespécies de *S. enterica* (SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2011; ISSENHUTH-JEANJEAN et al., 2014; WIEDEMANN et al., 2014).

S. enterica subsp. *enterica* destaca-se como um importante patógeno em medicina veterinária (ANTUNES et al., 2016). Os sorotipos imóveis Pullorum (*Salmonella* Pullorum - SP) e Gallinarum (*S. Gallinarum* - SG), causadores de pulorose e tifo aviário, são hospedeiro-específicos de aves que provocam doença sistêmica em animais de produção e pássaros. As vias oral e transovariana estão entre as principais rotas de transmissão para SG e SP, respectivamente, e, portanto, alta mortalidade em aves entre duas a três semanas de idade ou deficiente condição de saúde dos pintos e perus nascidos a partir de ovos infectados podem ser observadas (OIE, 2012; RUBIO et al., 2017). Em aves adultas, sinais clínicos de tifo septicêmico incluem diarreia severa, prostração, anemia, dificuldade respiratória e morte, enquanto que redução na produção e na taxa de eclodibilidade dos ovos podem ser as únicas manifestações demonstradas em infecções por SP, as quais são geralmente mais brandas para essa faixa etária (KABIR, 2010). Sabe-se que as aves silvestres podem atuar como portadoras e vetores de *Salmonella* spp., apresentando papel relevante na ecologia e circulação dos micro-organismos citados (OIE, 2012).

Embora SG e SP tenham sido amplamente controlados em planteis avícolas da América do Norte e da Europa por meio de programas de biossegurança e vacinação a partir da metade do século XX, estes agentes permanecem um problema para a avicultura industrial de países como Argentina, Colômbia, Coréia do Sul, Índia, México e Nigéria (KWON et al., 2010; BARROW et al., 2012; PULIDO-LANDÍNEZ et al., 2014). No Brasil, casos esporádicos de tifo aviário foram reportados à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) na última década, no entanto, a ocorrência de 14 e 31 surtos da doença foi notificada em 2014 e 2016, respectivamente, acometendo tanto aves de postura, quanto frangos de corte e matrizes nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (DE CARLI et al., 2016; OIE, 2017). Além disso, a identificação de SG e SP em galinhas, perus, patos, marrecos, codornas e pombos, oriundos de diversos estados brasileiros foi descrita por Hofer et al. (1997). Ainda, Espinosa-Aguíelles et al. (2010) verificaram soroprevalência de *S. Gallinarum*-Pullorum em 26,4% das amostras de *Zenaida asiatica* no México, com destaque para animais jovens (30,8%) e fêmeas (34,6%).

Além de resultar em impactos à saúde animal e à avicultura industrial, infecções por *S. enterica* subsp. *enterica* também representam um risco significativo à saúde pública (MAJOWICZ et al., 2010). Salmonelose aviária, também conhecida como paratifo aviário, é provocada por qualquer sorotipo móvel do gênero, sendo que *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* destacam-se entre os mais prevalentes em galinhas e perus, e também são capazes de infectar diversas espécies de mamíferos, incluindo o homem (OSMAN et al., 2009). Esses sorotipos paratíficos estão associados ao desenvolvimento de doença clínica sistêmica e aumento da mortalidade em pintos imunossuprimidos ou submetidos a condições estressantes, no entanto a maioria das aves adultas infectadas permanece assintomática, podendo eliminar os agentes através do trato gastrointestinal e contaminar o ambiente ou produtos de origem animal (AKHTAR et al., 2013; LIMA et al., 2016). O consumo de carne e ovos contaminados constitui a principal fonte de infecção para humanos, sendo estimados 93.8 milhões de casos de gastroenterite por *Salmonella* spp. em pessoas mundialmente, causando 155 mil óbitos a cada ano (MAJOWICZ et al., 2010).

2.4 Resistência antimicrobiana

A dificuldade para controlar as doenças infecciosas é uma questão muito antiga no mundo todo. O advento dos antibióticos, na década de 20, se constituiu em uma ótima alternativa para conter e prevenir essas enfermidades. No entanto, ainda hoje elas permanecem como importante causa de morbidade e mortalidade, sobretudo nos países em desenvolvimento. Isso pode ser explicado por vários fatores, sendo um dos principais, o surgimento da resistência aos antimicrobianos. A ineficiência das drogas tem promovido uma importante dificuldade para controle das doenças, tanto em hospitais, como na comunidade (KAPOOR et al., 2017). Há evidências de que a utilização inadequada de antibióticos no tratamento de animais pode constituir os seus produtos e derivados em fontes para resistência de patógenos humanos (BENSKIN et al., 2009).

Pouco se sabe sobre a frequência de bactérias resistentes em pombos-domésticos e em aves silvestres (NASCIMENTO et al., 2003; SILVA et al., 2009). No entanto, sua ocorrência já foi descrita, principalmente nas espécies migratórias. Uma vez que vários animais domésticos como cães, gatos, bovinos e aves estão amplamente associados à veiculação desses agentes, a contaminação dos pombos pode ocorrer naturalmente no

ambiente. Como consequência, há um aumento nos riscos para a saúde desses animais, para a conservação de espécies silvestres e para a saúde pública de forma geral (BENSKIN et al., 2009; SILVA et al., 2009)

A resistência dos micro-organismos aos fármacos pode ser intrínseca ou adquirida. A primeira ocorre quando a membrana da bactéria é naturalmente impermeável à droga. A segunda é a mais importante e se refere à aquisição de habilidades que permitem ao micro-organismo diminuir a quantidade de antimicrobiano no seu interior, inativá-lo ou modificar seus alvos de ligação da droga (KAPOOR et al., 2017).

Algumas bactérias apresentam enzimas chamadas beta-lactamases de espectro estendido (*extended spectrum beta-lactamases* - ESBL) que hidrolisam a ligação amida do anel beta-lactâmico dos antibióticos, conferindo resistência a cefalosporinas de 1º à 4º gerações e a monobactâmicos. Estas enzimas estão presentes principalmente em micro-organismos Gram negativos, como os da família *Enterobacteriaceae*. Existem centenas de tipos de ESBLs distribuídas mundialmente, sendo que a maioria delas deriva das enzimas TEM e SHV. A TEM-1 é a beta-lactamase mais comumente encontrada em isolados Gram negativos, sendo responsável pela resistência de 90% das cepas de *E. coli* à ampicilina (PATERSON; BONOMO, 2005).

Certos micro-organismos produzem uma substância extracelular polissacarídica, chamada biofilme (*slime*), a qual permite que as células bacterianas se organizem em multicamadas, tornando-as menos acessíveis ao sistema de defesa do organismo e aos antimicrobianos. A organização do biofilme facilita também a troca de material genético e o desenvolvimento de mecanismos de patogenicidade dos micro-organismos (ARSLAN & OZKARDES, 2007). A formação do biofilme foi observada em diversos patógenos como *Staphylococcus* spp (CLUTTERBUCK et al., 2007). Um dos componentes genéticos mais estudados e utilizados para identificação de *Staphylococcus* spp. formadores de biofilme é o *locus ica*. Este *locus* é um conjunto de quatro genes organizados em um *operon* (*icaADBC*) responsável pela expressão de uma adesina intercelular polissacarídica (PIA) ou de N-acetilglicosamina polimérica (PNAG).

A crescente importância clínica e a resistência aos antimicrobianos das espécies do gênero *Enterococcus*, tem sido atribuída à plasticidade do seu genoma e sua capacidade de adquirir genes de resistência a partir de outras cepas (GUZMAN PRIETO et al., 2016). Espécies resistentes têm sido relatadas tanto em humanos como em isolados ambientais (LIU et al., 2012). Vários autores têm encontrado *Enterococcus* spp. também em

aves silvestres (MARROW et al., 2009; RADIMERSKY et al., 2010; SILVA et al., 2011; RADHOUANI et al., 2014; ORAVCOVA et al., 2015; ROBERTS et al., 2016).

O gênero *Enterococcus* tem resistência intrínseca a penicilinas, monobactamas e baixas doses de aminoglicosídeos (LOZANO et al., 2015). Algumas espécies tem ainda genes de resistência como o *vanC*, que promove resistência a baixas doses de vancomicina (ARIAS et al., 2010). No entanto, a resistência adquirida de *Enterococcus* spp. à vancomicina está associada a dois diferentes genes *vanA* e *vanB*, que são os mais importantes clinicamente e também já foram encontrados no ambiente (WERNER et al., 2008; HAMMERUM et al., 2012). A resistência a altas doses de aminoglicosídeos está relacionada com os genes *ant(6)-Ia*, *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* e *aph(3')-IIIa*, os quais estão localizados em elementos genéticos móveis facilmente transferidos (HEUER et al., 2006). Essas amostras podem ocorrer em pequenos mamíferos, coelhos e pássaros silvestres (SILVA et al., 2011).

Salmonella spp. podem apresentar vários genes de resistência aos antimicrobianos facilmente transferidos de uma cepa para outra (MØLBAK 2004, 2005). Cepas resistentes a aminoglicosídeos, beta-lactâmicos, cloranfenicol, macrolídeos e trimetropim apresentam genes, normalmente situados em integrons, que codificam enzimas que inativam ou eliminam a droga da célula bacteriana (NHUNG, 2017). Nas cepas resistentes à tetraciclina, particularmente há relatos da ocorrência de plasmídeos (LING et al., 1998). A ativação do operon *mar* (*multiple antibiotic gene*) também está descrita em isolados multirresistentes. Este operon regula a expressão de um grande número de genes que codificam uma bomba de efluxo de alta especificidade (McMAHON et al., 2007), sendo que diferentes sorovares de *Salmonella* multirresistentes foram descritos em fezes de aves silvestres (AHMED et al., 2009).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os pombos domésticos (*C. livia domestica*) estão entre os principais animais sinantrópicos da natureza, situados principalmente em grandes centros urbanos. As fezes desses animais constituem uma importante fonte de agentes zoonóticos, especialmente fúngicos e bacterianos. Neste contexto destacam-se *Cryptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., sendo que isolados multirresistentes aos antimicrobianos são relatados em várias regiões do mundo. Estas cepas são potenciais patógenos de humanos e outras espécies animais, onde podem ocasionar infecções graves e de difícil tratamento.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, M. B.; LUCIANO, L. Avaliação dos riscos de contaminação relacionados com a superpopulação de *Columba livia* (pombos) em trabalhadores portuários avulsos. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 13, n. 3, p. 43-49, 2011.
- AHMED, A. M.; ISHIDA, Y.; SHIMAMOTO, T. Molecular characterization of antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from animals in Japan. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 2, p. 402-409, 2009.
- AKHTAR, A. et al. Pathogenicity of *Salmonella* Enteritidis phage types 6A and 7 in experimentally infected chicks. **The Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 23, n. 5, p. 1290-1296, 2013.
- AKRAM, S. M; KOIROLA, J. *Cryptococcus* (Cryptococcosis), Cutaneous. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island: StatePearls Publishing, 2017. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448148/>> Acesso em: 20 ago. 2017.
- ANTUNES, P. et al. Salmonellosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 110-121, 2016.
- ARIAS, C. A.; CONTRERAS, G. A.; MURRAY, B. E. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. **Clinical Microbiology and Infections**, v. 16, n. 6, p. 555-562, 2010.
- ARSLAN, S.; OZKARDES, F. Slime production and antibiotic susceptibility in staphylococci isolated from clinical samples. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 1, p. 29-33, 2007.
- BAELE, M. et al. Composition of enterococcal and streptococcal flora from pigeons intestines. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, n. 2, p. 348-351, 2002.
- BARNES, J. H; NOLAN, L. K; VAILLANCOURT, J. P. Colibacillosis. In: SAIF, Y. M. **Diseases of Poultry**. Ames: Blackwell Publishing, 2008. p. 691-732.
- BARONI, F. A. et al. *Cryptococcus neoformans* strains isolated from church towers in Rio de Janeiro city, RJ, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 2, p. 71-75, 2006.

- BARROW, P. A. et al. The long view: Salmonella – the last forty years. **Avian Pathology**, v. 41, n. 5, p. 413-420, 2012.
- BEN SAID, L. et al. Diversity of enterococcal species and characterization of high-level aminoglycoside resistant enterococci of samples of wastewater and surface water in Tunisia. **Science of the Total Environment**, v. 15, n. 530-531, p. 11-17, 2015.
- BENSKIN, C. M. et al. Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 84, n. 3, p. 349-373, 2009.
- BOEHM, A. B.; SASSOUBRE, L. M. Enterococci as indicators of environmental fecal contamination. In: GILMORE, M. S. et al. **Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190421/>> Acesso em: 30 ago. 2017.
- BOEKHOUT, T. et al. Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. **Microbiology**, v. 147, n. 4, p. 891-907, 2001.
- BONACORSI, S.; BINGEN, E. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing neonatal meningitis. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 295, n. 6-7, p. 373-381, 2005.
- BORGES, C. A. et al. Wild birds and urban pigeons as reservoirs for diarrheagenic *Escherichia coli* with zoonotic potential. **Journal of Microbiology**, v. 10, p. 1-6, 2017.
- BUTAYE, P. et al. Comparison of susceptibility to antimicrobials of the Enterococcal species isolated from pigeons (*Columba livia*). **Microbial Drug Resistance**, v. 8, n. 3, p. 215-218, 2002.
- CANÓNICO-GONZÁLEZ, Y. et al. *Cryptococcus* spp. isolation from excreta of pigeons (*Columba livia*) in and around Monterrey, Mexico. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, 1-5, 2013.
- CASALI, A. K. et al. *Cryptococcus neoformans*: aspectos moleculares e epidemiológicos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 20, n. 1, p. 34-37, 2001.
- CLUTTERBUCK, A. L. et al. Biofilms and their relevance to veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, v. 121, n. 1-2, p. 1-17, 2007.
- COLLINGWOOD, C. et al. Is the concept of avian pathogenic *Escherichia coli* as a single pathotype fundamentally flawed? **Frontiers in Veterinary Science**, v. 1, n. 5, p. 1-4, 2014.
- DE CARLI, S. et al. Draft genome sequence of a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Gallinarum bv. Gallinarum isolate associated with Fowl Typhoid outbreaks in Brazil. **Genome Announcements**, v. 41, n. 1, p. e00019-16, 2016.

DÍAZ-SÁNCHEZ, S. et al. Occurrence of avian pathogenic *Escherichia coli* and antimicrobial-resistant *E. coli* in red-legged partridges (*Alectoris rufa*): sanitary concerns of farming. **Avian Pathology**, v. 41, n. 4, p. 337-344, 2012.

DOVC, A. et al. Occurrence of bacterial and viral pathogens in common and noninvasive diagnostic sampling from parrots and racing pigeons in Slovenia. **Avian Diseases**, v. 60, n. 2, p. 487-492, 2016.

ELLABIB, M. S. et al. Isolation, identification and molecular typing of *Cryptococcus neoformans* from pigeon droppings and other environmental sources in Tripoli, Libya. **Mycopathologia**, v. 181, n. 7-8, p. 603-608, 2016.

ELLERBROEK, L. et al. Hazard potential from antibiotic-resistant commensals like *Enterococci*. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 51, n. 8-9, p. 393-399, 2004.

EMMONS, C. W. Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). **American Journal of Hygiene**, v. 62, n. 3, p. 227-232, 1955.

ESPINOSA-AGÜELLES, A. et al. Seroprevalence of antibodies against *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum-Pullorum in wild doves (*Zenaida asiatica* and *Zenaida macroura*) from the Northeast of Mexico. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 93, n. 1, p. 77-79, 2010.

FILIÚ, W. F. O. F. et al. Cativeiro de aves como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, Mato Grosso de Sul, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 591-595, 2002.

FPC, FEDERAÇÃO PORTUGUESA DE COLUMBOFILIA. Disponível em <<http://www.fpcolumbofilia.pt/>> Acesso em: 02 fev. 2017.

GRANADOS, D. P.; CASTAÑEDA, E. Isolation and characterization of *Cryptococcus neoformans* varieties recovered from natural sources in Bogotá, Colombia, and study of ecological conditions in the area. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 2, p. 282-290, 2005.

GUABIRABA, R.; SCHOULER, C. Avian colibacillosis: still many black holes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 362, n. 15, p. 1-8, 2015.

GUZMAN PRIETO, G. A. M. et al. Global Emergence and Dissemination of Enterococci as Nosocomial Pathogens: Attack of the Clones? **Frontiers in Microbiology**, v. 26, n. 1, p. 770-778, 2016.

HAAG-WACKERNAGEL, D. Vom Lebling der Götter zur Eroberung der Städte Die Taube-Eine Erfolgsgeschichte. **Biologie in unserer Zeit**, v. 41, n. 1, p. 44-52, 2011.

HAAG-WACKERNAGEL, D.; MOCH, H. Health hazards posed by feral pigeons. **Journal of Infection**, v. 48, p. 307-313, 2004.

HAMMERUM, A. M. Enterococci of animal origin and their significance for public health. **Clinical Microbiology and Infections**, v.18, n. 7, p. 619-625, 2012.

HARRINGTON, S. M.; DUDLEY, E. G.; NATARO, J. P. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 254, n. 1, p. 12-18, 2006.

HETMAŃSKI, T. et al. The effect of habitat and number of inhabitants on the population sizes of feral pigeons around towns in northern Poland. **European Journal of Wildlife Research**, v. 57, n. 1, p. 421-428, 2011.

HEUER, O. E. et al. Human health hazard from antimicrobial-resistant enterococci in animals and food. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, n. 7, p. 911-916, 2006.

HIDRON, A. I. et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 29, n. 11, p. 996-1011, 2008.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S. J.; REIS, E. M. F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 55-62, 1997.

HONG-ZHOU L. et al. *Enterococcus faecium* – related outbreak with molecular evidence of transmission from pigs to humans. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 3, p. 913-917, 2002.

HÖRNER, R. et al. Suscetibilidade antimicrobiana entre amostras de *Enterococcus* isoladas no Hospital Universitário de Santa Maria. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 6, p. 391-395, 2005.

HUBÁLEK, Z. Birds. In: BONNEFOY, X.; KAMPEN, H.; SWEENEY, K. **Public Health Significance of Urban Pests**. Copenhagen:World Health Organization, 2008. p. 239-287.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S. et al. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, v. 165, n. 7, p. 526-530, 2014.

JUNG, A. et al. Experimental reproduction of an *Enterococcus cecorum* infection in Pekin ducks. **Avian Pathology**, v. 42, n. 6, p. 552-556, 2013.

JUNG, A.; TESKE, L.; RAUTENSCHLEIN, S. *Enterococcus cecorum* infection in a racing pigeon. **Avian Diseases**, v. 58, n. 4, p. 654-658, 2014.

KABIR, S. M. L. Avian colibacillosis and Salmonellosis: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, n. 1, p. 89-114, 2010.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews in Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004.

KAPOOR, G.; SAIGAL, S.; ELONGAVAN, A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. **Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology**, v. 33, n. 3, p. 300-305, 2017.

KOBAYASHI, C. C. B. A. et al. Characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated from urban environmental sources in Goiânia, Goiás state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, n. 4, p. 203-207, 2005.

KWON-CHUNG, K. J. et al. Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. hondurianus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomyces, Tremellomycetidae). **Taxon**, v. 51, n. 1, p. 804-806, 2002.

KWON, Y. K. et al. Prevalence and characterization of Salmonella Gallinarum in the chicken in Korea during 2000 to 2008. **Poultry Science**, v. 89, n. 2, p.236-242, 2010.

LANDMAN, W. J. M., HEUVELINK, A.; VAN ECK, J. H. H. Reproduction of the *Escherichia coli* peritonitis syndrome in laying hens. **Avian Pathology**, v. 42, n. 2, p. 157-162, 2013.

LEAL, D. C. et al. Ocorrência de *Chlamydophila psittaci* em pombos (*Columba livia*) na cidade de Salvador, Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 3, p. 771-776, 2015.

LEBRETON, F.; WILLEMS, R. J. L.; GILMORE, M. S. *Enterococcus* diversity, origins in nature, and gut colonization. In: GILMORE, M. S. et al. **Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190427/>> Acesso em: 29 ago. 2017.

LILLEBAUG, A. et al. Screening of feral pigeon (*Columba livia*), mallard (*Anas platyrhynchos*) graylag goose (*Anser anser*) populations for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., avian influenza virus and avian paramyxovirus. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, n. 4, p. 193-202, 2005.

LIMA, D. A. et al. Establishment of a pathogenicity index in *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium strains inoculated in one-day-old broiler chicks. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 2, p. 257-264, 2016.

LING, J. M. et al. Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of *Salmonella* enterica serotype Enteritidis strains isolated in Hong Kong from 1986 to 1996. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 1693-1699, 1998.

LIU, Y. et al. First report of the multidrug resistance gene *cfp* in *Enterococcus faecalis* of animal origin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 3, p. 1650-1654, 2012.

LOZANO, C. et al. Detection of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* ST6-vanB2 and *E. faecium* ST915-vanA in faecal samples of wild *Rattus rattus* in Spain. **Veterinary Microbiology**, v. 177, n. 1-2, p. 168-174, 2015.

MADA, P. K.; ALAM, M. U. *Cryptococcus* (Cryptococcosis). In: StatPearls [Internet]. Treasure Island: StatePearls Publishing, 2017. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431060/>> Acesso em: 20 ago. 2017.

- MAGNINO, S. et al. Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: review of data and focus on public health implications. **Veterinary Microbiology**, v. 135, n. 1, p. 54-67, 2009.
- MAJOWICZ, S. E. et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 6, p. 882-889, 2010.
- MAKRAI, L. et al. Association of *Enterococcus cecorum* with vertebral osteomyelitis and spondylolisthesis in broiler parent chicks. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 59, n. 1, p. 11-21, 2011.
- MARENZONI, M. I. et al. Microbiological and parasitological survey of zoonotic agents in apparently healthy feral pigeons. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 19, n. 2, p. 309-315, 2016.
- MARROW, J. et al. Prevalence and antibiotic-resistance characteristics of *Enterococcus* spp. isolated from free-living and captive raptors in central Illinois. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 1, p. 302-313, 2009.
- McMAHON, M. A. S. et al. Environmental stress and antibiotic resistance in food-related pathogens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, v. 1, p. 211-217, 2007.
- MELLATA, M. Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 11, p. 916-932, 2013.
- MIRANDA, C.; LADENDORFF, N.; KNÖBL, T. Percepção da população sobre a participação de pombos (*Columba livia domestica*) na transmissão de zoonoses. **Atlas de Saúde Ambiental**, v. 2, n. 1, p. 23-28, 2014.
- MØLBAK, K. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans – The public health consequences. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 51, n. 8-9, p. 364-369, 2004.
- MØLBAK, K. Human health consequence of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 11, p. 1613-1620, 2005.
- NASCIMENTO, A. M. A. et al. Antibiotic-resistant gram-negative bacteria in birds from the Brazilian Atlantic Forest. **The Condor**, v. 105, p. 358-361, 2003.
- NISHINO, K.; NIKAIDO, E.; YAMAGUCHI, A. Regulation and physiological function of multidrug efflux pumps in *Escherichia coli* and *Salmonella*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1794, n. 5, p. 834-843, 2009.
- NHUNG, N. T.; CHANSIRIPORNCHAI, N.; CARRIQUE-MAS, J. J. Antimicrobial resistance in bacterial poultry pathogens: a Review. **Frontiers of Veterinary Science**, v. 4, n. 126, p. 1-13, 2017.
- O'DRISCOLL, T.; CRANK, C. W. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. **Infection and Drug Resistance**, v. 24, n. 8, p. 217-230, 2015.

ORAVCOVA, V.; HADELOVA, D.; LITERAK, I. Vancomycin-resistant *Enterococcus aecium* with *vanA* gene isolated for the first time from wildlife in Slovakia. **Veterinary Microbiology**, v. 194, n. 1, p. 43-47, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL (OIE). Fowl Typhoid and Pullorum Disease. In: Terrestrial Animal Health Code, 2012. Disponível em <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.11_FOWL_TYPHOID.pdf> Acesso em: 01 set. 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL (OIE). World Animal Health Information Database, 2017. Disponível em <http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail> Acesso em: 01 set. 2017.

OSMAN, K. M. et al. Comparative proteomic analysis on *Salmonella Gallinarum* and *Salmonella Enteritidis* exploring proteins that may incorporate host adaptation in poultry. **Journal of Proteomics**, v. 72, n. 5, p. 815-821, 2009.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. **Clinical Microbiology Review**, v. 18, n. 4, p. 657-686, 2005.

PATON, A. W.; PATON, J. C. Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA* enterohemorrhagic *E. coli* *hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 598-602, 1998.

PRIOSTE, F. E. S. et al. Genetic similarity between APEC and *Escherichia coli* strains isolated from *Guaruba guarouba* in a survey on healthy captive psittacine birds. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 2, p. 145-151, 2013.

PULIDO-LANDÍNEZ, M. et al. Presence of *Salmonella Enteritidis* and *Salmonella Gallinarum* in commercial laying hens diagnosed with fowl typhoid disease in Colombia. **Avian Diseases**, v. 58, n. 1, p. 165-170, 2014.

QADRI, F. et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 3, p. 465-483, 2005.

QUEIROZ, J. P. A. F. et al. Criptococose: uma revisão bibliográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 2, p. 32-38, 2008.

QUINN, P. J. et al. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. 2. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011. 928 p.

QUINTERO, E.; CASTAÑEDA, E.; RUIZ, A. Distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* en el departamento de Cundinamarca – Colombia. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 22, n. 1, p. 93-98, 2005.

- RADIMERSKY, T. et al. Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp.) in feral pigeons. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, n. 5, p. 1687-1695, 2010.
- RADHOUANI, H. et al. Potential impact of antimicrobial resistance in wildlife, environment and human health. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. 23, p. 1-12, 2014.
- REOLON, A. et al. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 5, p. 293-298, 2004.
- RILEY, L. W. Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 5, p. 380-390, 2014.
- ROBERTS, M. C. et al. Vancomycin resistant *Enterococcus* spp. from crows and their environment in metropolitan Washington State, USA: is there a correlation between VRE positive crows and the environment? **Veterinary Microbiology**, v. 194, n. 1, p. 48-54, 2016.
- ROSE, E.; NAGEL, P.; HAAG-WACKERNAGEL, D. Spatio-temporal use of the urban habitat by feral pigeons (*Columba livia*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 60, n. 1, p. 242-254, 2006.
- RUBIO, M. S. et al. Development of a multiplex qPCR in real time for quantification and differential diagnosis of *Salmonella* Gallinarum and *Salmonella* Pullorum. **Avian Pathology**, v. 46, n. 6, p. 644-651, 2017.
- SAKHAWAT, A. et al. Ecology of feral pigeon (*Columba livia*) in urban areas of Islamabad, Pakistan. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 45, n. 5, p. 1229-1234, 2013.
- SÁNCHEZ-VARGAS, F. M.; ABU-EL-HAIJA, M. A.; GÓMEZ-DUARTE, O. G. *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention. **Travel Medicine and Infectious Diseases**, v. 9, p. 263-377, 2011.
- SCHULLER, M. Pombos urbanos: um caso de saúde pública. **Revista da SBCC**, v. 29, p. 32-37, 2005.
- SEMEDO-LEMSADDEK, T. et al. Enterococcal infective endocarditis following periodontal disease in dogs. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2016.
- SENAR, J. C. et al. Estima de la abundancia de palomas (*Columba livia* var.) de la ciudad de Barcelona, 2006 y valoración de la efectividad del control por eliminación de individuos. **Arxius de Miscelània Zoològica**, v. 7, n. 1, p. 62-71, 2009.
- SILVA, N. et al. Molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum β -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates in wild birds from the Azores Archipelago. **Avian Pathology**, v. 40, n. 5, p. 473-479, 2011.
- SILVA, V. L. et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains Recovered from Urban Pigeons (*Columba livia*) in Brazil and Their Antimicrobial Susceptibility Patterns. **Current Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 302-308, 2009.

- SMITH, J. L.; FRATAMICO, P. M.; GUNTHER, N. W. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 4, n. 2, p. 134-163, 2007.
- SOARES, M. C. B. et al. Environmental strains of *Cryptococcus neoformans* variety *grubii* in the city of Santos, SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, n. 1, p. 31-36, 2005.
- SOUZA, C. O. et al. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Revista Pan-Amazônica**, v. 7, n. 2, p. 79-91, 2016.
- SPENNEMANN, D. H. R.; WATSON, M. J. Dietary habits of urban pigeons (*Columba livia*) and implications of excreta pH - a review. **European Journal of Ecology**, v. 3, n. 1, p. 27-41, 2017.
- STOCK, B.; HAAG-WACKERNAGEL, D. Food shortage affects reproduction of feral pigeons *Columba livia* at rearing of nestlings. **International Journal of Avian Science**, v. 158, n. 4, p. 776-783, 2016.
- SVEC, P.; FRANZ, C. The genus *Enterococcus*. In: HOLZAPFEL, W. H.; WOOD, B. J. B. **Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy**. Chichester: John Wiley & Sons, 2014. p. 175-211.
- SZELESZCZUK, P. et al. First case of Enterococcal spondylitis in broiler chickens in Poland. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 69, n. 5, p. 298-303, 2013;
- TAKAHARA, D. T. et al. Primeiro registro de *Cryptococcus neoformans* em excretas de pombos provenientes de locais públicos e residenciais de área metropolitana de Cuiabá, Estado do Mato Grosso, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 6, p. 371-376, 2013.
- VÁZQUEZ, B. et al. Screening for several potential pathogens in feral pigeons (*Columba livia*) in Madrid. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n. 1, p. 1-6, 2010.
- VOGEL, C.; GERLACH, H; LÖFFLER, M. Columbiformes. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian Medicine: Principles and Application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. p. 1201-1217.
- WERNER, G. et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. **Euro Surveill**, v. 13, n. 47, p. 1904-1906, 2008.
- WIEDEMANN, A et al. Interactions of *Salmonella* with animals and plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 1-18, 2014.
- WILES, T. J.; KULESUS, R. R.; MULVEY, M. A. Origins and virulence mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 85, n. 1, p.11-19, 2008.

CAPÍTULO 3

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA, GENOTÍPICA E SENSIBILIDADE AOS
ANTIMICROBIANOS DE MICRO-ORGANISMOS ISOLADOS DE *SWAB*
CLOACAL EM POMBOS (*Columba livia domestica*) DO DISTRITO FEDERAL,
BRASIL**

RESUMO

Pombos domésticos estão amplamente distribuídos nos centros urbanos e podem constituir um reservatório de patógenos fúngicos e bacterianos. Este trabalho teve como objetivos caracterizar micro-organismos de importância veterinária e zoonóticos em *swab* cloacal de *Columba livia domestica* clinicamente saudáveis mantidos em criatórios e em laboratório de experimentação animal no Distrito Federal. Das 100 amostras de *swab* cloacal analisadas, 75% foram positivas no cultivo microbiológico em ágar sangue, sendo que *Escherichia coli* (64%) e *Enterococcus* spp. (18%) caracterizaram-se como as bactérias mais frequentes. Nenhuma amostra mostrou-se positiva para *Salmonella* spp. e em apenas uma (1%) foi identificado *Cryptococcus* spp. Em relação à sensibilidade de *E. coli* aos antimicrobianos, tetraciclina, estreptomicina e sulfazotrim constituíram as drogas menos eficazes *in vitro*. Nos isolados de *Enterococcus* spp. testados, os menores percentuais de sensibilidade observados foram para oxacilina, cefalexina e ácido nalidíxico. A ciprofloxacina destacou-se como a droga mais eficaz *in vitro* para ambas as espécies. Doze (18,1%) isolados de *E. coli* e oito (80%) de *Enterococcus* spp. demonstraram resistência múltipla a três ou mais classes de drogas testadas. A formação de biofilme foi evidenciada em todos os isolados de *Enterococcus* spp. avaliados e em 61% das cepas de *E. coli*. A caracterização filogenética de *E. coli* revelou que a maior parte dos isolados pertenceram ao grupo B2 (46,9%), seguido dos grupos A (29,7%) e D (23,4%). Os pombos domésticos avaliados são portadores de micro-organismos multirresistentes e potencialmente patogênicos para humanos, incluindo *Enterococcus* spp. resistente à vancomicina.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., resistência antimicrobiana, vancomicina, biofilme

ABSTRACT

Domestic pigeons are widely distributed in urban centers and may constitute a reservoir of fungic and bacterial pathogens. This work aimed to characterize microorganisms of veterinary and zoonotic significance in cloacal swabs of healthy *Columba livia domestica* from pigeons breeders and from an experimentation animal laboratory in the Federal District. Of the 100 samples of cloacal swabs analyzed, 75% were positive in the microbiological culture in blood agar, being *Escherichia coli* (64%) and *Enterococcus* spp. (18%) the most frequent bacteria. No samples were positive for *Salmonella* spp. and only one (1%) was positive to *Cryptococcus* spp. Regarding the sensitivity of *E. coli* to antimicrobials, tetracycline, streptomycin and sulfazotrim were the least effective drugs in vitro. For *Enterococcus* spp. isolates, the lowest percentages of sensitivity were observed for oxacillin, cephalixin and nalidixic acid. Ciprofloxacin was the most effective drug in vitro for both species. Twelve (18.1%) *E. coli* isolates and eight (80%) *Enterococcus* spp. showed multiple resistance to three or more classes of drugs tested. Biofilm formation was evidenced in all *Enterococcus* spp. evaluated and in 61% of *E. coli* strains. The phylogenetic characterization of *E. coli* revealed that most of the isolates belonged to group B2 (46.9%), followed by groups A (29.7%) and D (23.4%). The evaluated domestic pigeons are carriers of multiresistant and potentially pathogenic microorganisms, including vancomycin resistant *Enterococci*.

Keywords: *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., antimicrobial resistance, vancomycin, biofilm

1 INTRODUÇÃO

Columba livia domestica estão presentes nos diferentes centros urbanos do mundo, convivendo com a população humana devido à disponibilidade de abrigo, locais para nidificação e ausência de predadores naturais (MOUTINHO et al., 2015). Além disso, a criação de pombos domésticos com finalidade esportiva é frequente na Europa e também se apresenta relevante em alguns estados brasileiros e no Distrito Federal (TESKE et al., 2013; FCB, 2017; FPC, 2017). Diversos estudos demonstram que estas aves podem ser portadoras de agentes infecciosos patogênicos para o homem e para outras espécies animais, o que representa uma ameaça à saúde pública (VÁZQUEZ et al., 2010; DOVC et al., 2016).

Cryptococcus spp. e *Salmonella* spp. destacam-se entre os micro-organismos que podem ser transmitidos por *C. livia domestica* a humanos (HAAG-WACKERNAGEL, 2011). A criptococose caracteriza-se como uma infecção micótica sistêmica de caráter oportunista, a qual resulta em doença cutânea, respiratória ou neurológica potencialmente fatal, principalmente em pacientes imunossuprimidos. Estima-se a ocorrência mundial de um milhão de casos e 625 mil mortes anuais associadas a infecções do sistema nervoso central por *Cryptococcus* spp. em pessoas com AIDS (PARK et al., 2009). Além disso, a salmonelose constitui uma das principais causas de intoxicações alimentares em humanos, sendo estimados 93,8 milhões de casos e 155 mil óbitos a cada ano devido à gastroenterite pela bactéria em todo o mundo (MAJOWICZ et al., 2010). Infecções por *Salmonella* spp. provocam doença entérica aguda, septicemia e outras manifestações clínicas em diferentes espécies animais, sendo consideradas um problema tanto em países desenvolvidos, quanto em desenvolvimento (OIE, 2012).

Escherichia coli e *Enterococcus* spp. compõem a microbiota intestinal de pombos domésticos e humanos, podendo atuar como patógenos oportunistas dependendo do estado imunitário do hospedeiro (RADIMERSKY et al., 2010). As principais doenças causadas por *E. coli* intestinais e extraintestinais incluem diarreia aguda, infecções do trato

urinário, septicemia e meningite neonatal, as quais estão associadas à alta morbidade e mortalidade em crianças, animais jovens e indivíduos imunocomprometidos, especialmente nas regiões em desenvolvimento (MELLATA, 2013; GOMES et al., 2016). Além disso, *Enterococcus* spp. tem sido considerado como um importante patógeno em infecções nosocomiais humanas e constitui o gênero que apresenta a maior preocupação quanto à resistência aos antibióticos glicopeptídeos (GUZMAN PRIETO et al., 2016).

A emergência da resistência desses micro-organismos aos antimicrobianos constitui um desafio clínico e traz sérias implicações à saúde humana e animal. Os biofilmes são compostos por bactérias fortemente ligadas a uma superfície e envolvidas por uma matriz de polímeros orgânicos que contribuem para a colonização e aderência bacteriana em diferentes sítios e dificultam a ação das drogas antimicrobianas na eliminação de *E. coli* e *Enterococcus* spp. (BELOIN et al., 2008; LEE, 2017).

Considerando a potencial participação de pombos domésticos na disseminação de patógenos zoonóticos no ambiente e a ausência de pesquisas específicas sobre a condição sanitária dessas aves no Distrito Federal, este trabalho teve como objetivos caracterizar aspectos fenotípicos, genotípicos e associados à resistência em micro-organismos isolados a partir de *swab* cloacal de *C. livia domestica* mantidos em criatórios e em laboratório de experimentação animal no Distrito Federal, Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Origem dos animais e amostragem

Foram utilizados 100 *C. livia domestica* adultos e clinicamente saudáveis provenientes de três (A a C) criadores da espécie no Distrito Federal (DF) e do Laboratório de Análise Experimental do Comportamento da Universidade de Brasília, *Campus* Darcy Ribeiro (D). Os criatórios visitados estavam localizados em regiões administrativas do DF, e foram selecionados randomicamente. Na ocasião das visitas aos criatórios e ao laboratório, verificaram-se quais eram as drogas antimicrobianas utilizadas para prevenção e tratamento de enfermidades nas aves e com que frequência estas eram administradas. Além disso, os responsáveis pelos locais foram consultados sobre a existência de contato entre os pombos domésticos e outros animais presentes nos criatórios.

O presente projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília (Protocolo nº 91/2017).

2.2 Coleta de amostras, isolamento e identificação de micro-organismos

Para a coleta de *swab* cloacal, cada pombo foi capturado manualmente pelo proprietário ou técnico, sendo imobilizado com a cabeça levemente inclinada para trás e com as patas direcionadas ao experimentador. Enquanto uma das mãos envolvia as asas em proximidade ao corpo do animal, a outra mão segurava os membros posteriores. Após afastamento das penas e antisepsia da região externa com álcool 70%, um *swab* estéril para

coleta e transporte com meio *Stuart* (KASVI[®]) foi inserido na cloaca do animal, realizando-se movimento circular para coleta de material, retirada do *swab* e soltura imediata da ave. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da Universidade Federal do Vale do São Francisco para realização das análises.

As amostras de *swab* cloacal foram semeadas em placas de ágar sangue ovino a 5% e em ágar MacConkey e, em seguida, incubadas a 37 °C por 48 horas. A pesquisa de *Cryptococcus* spp. foi realizada a partir da semeadura em ágar Sabouraud-Dextrose com cloranfenicol e posterior incubação das placas a 30 °C com observação diária por sete dias (QUINN et al., 2011). Ainda, visando à identificação de *Salmonella* spp., as amostras foram inicialmente adicionadas a tubos contendo caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), os quais foram incubados a 42 °C por 24 horas. Posteriormente, 10 µL de cada tubo de RV foram transferidos para os meios seletivos Ágar Desoxicolato-Lisina-Xilose (XLD) e Ágar *Salmonella-Shigella* (SS), sendo as placas incubadas a 37 °C por 24 horas (QUINN et al., 2011; OIE, 2012).

Os micro-organismos isolados foram identificados por meio de características morfológicas (coloração, tamanho, hemólise das colônias), tintoriais (coloração de Gram, coloração com tinta nanquim) e bioquímicas (QUINN et al., 2011). Colônias sugestivas de *Salmonella* spp. e *E. coli* foram submetidas aos testes de oxidase, ágar TSI (*Triple Sugar Iron*), ágar SIM (*Sulfide-Indole-Motility*), ágar citrato de Simmons, lisina, fenilalanina e uréia. *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. foram identificados a partir dos resultados das provas de produção de catalase, urease, DNase e hidrólise da esculina. A identificação de *Cryptococcus* spp. foi realizada com base na termotolerância a 37°C com observação durante sete dias e produção de urease (HOLT et al., 1994; QUINN et al., 2011).

2.3 Perfil de sensibilidade de *E. coli* e *Enterococcus* spp. aos antimicrobianos

O perfil de sensibilidade dos micro-organismos foi determinado por método de disco difusão (CLSI, 2012). Foram utilizados discos com os seguintes antimicrobianos: ácido nalidíxico (30 µg), ampicilina (10 µg), cefalexina (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftazidima (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), estreptomicina (10 µg), gentamicina (10 µg), imipenem (10 µg), nitrofurantoína (300 µg), sulfazotrim (25 µg) e tetraciclina (30 µg). Para os isolados de *Enterococcus* spp., discos de oxacilina (1 µg) e vancomicina (30 µg) substituíram cefotaxima

(30 µg), ceftazidima (30 µg). A interpretação dos resultados foi realizada pela leitura dos halos de inibição observados (CLSI, 2012). Para controle de qualidade da técnica e dos discos empregados utilizou-se *E. coli* ATCC 25922. Isolados que demonstraram resistência a três ou mais classes de drogas testadas foram considerados multirresistentes.

2.4 Detecção da adesão bacteriana associada à biofilme em *E. coli* e *Enterococcus* spp.

A adesão bacteriana associada à biofilme foi verificada por meio do teste de aderência em microplacas de acordo com Merino et al. (2009). A densidade óptica (DO) das amostras foi determinada em leitor de microplaca e mensurada em comprimento de onda de 620 nm. Todos os isolados foram testados em triplicata, utilizando-se as cepas controle *E. coli* ATCC 35218 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. A partir da média aritmética das DO dos isolados em triplicata, obteve-se a DO produzida por cada isolado (DO_i). Baseando-se na DO média do controle negativo (DO_c), os micro-organismos foram classificados em: não formador de biofilme ($DO_i \leq DO_c$), fraco ($DO_c < DO_i \leq 2 \cdot DO_c$), moderado ($DO_c < DO_i \leq 4 \cdot DO_c$) ou forte ($DO_i > 4 \cdot DO_c$) formador de biofilme (STEPANOVIC et al., 2000).

2.5 Caracterização filogenética de *E. coli*

Após extração do DNA dos isolados conforme descrições de Ausubel et al. (2002), realizou-se a reação em cadeia da polimerase (PCR) para pesquisa dos genes *chuA*, *yjaA* e do fragmento de DNA TspE4.C2. As sequências dos iniciadores e as condições utilizadas em cada reação foram determinadas em um estudo prévio (CLERMONT et al., 2000). Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio, visualizados sob luz ultravioleta e documentados em sistema de captura de imagem. A classificação dos isolados de *E. coli* nos grupos filogenéticos foi realizada conforme Clermont et al. (2000).

3 RESULTADOS

No cultivo microbiológico em ágar sangue, 75 (75%) amostras foram positivas, e em 25 (25%) não se observou crescimento microbiano. *Escherichia coli* (64%) e *Enterococcus* spp. (18%) caracterizaram-se como as bactérias mais frequentes. Nenhuma amostra mostrou-se positiva para *Salmonella* spp. e em apenas uma (1%) foi identificado *Cryptococcus* spp. Os micro-organismos isolados a partir de *swab* cloacal de pombos domésticos encontram-se na Tabela 1.

O menor percentual de sensibilidade de *E. coli* aos antimicrobianos foi para tetraciclina (51,5%), seguida de estreptomicina (54,6%), sulfazotrim (59,3%), ácido nalidíxico (84,3%), ampicilina (93,7%), nitrofurantoína (93,7%) e gentamicina (98,4%). Todos os isolados demonstraram-se sensíveis à cefalexina, cefotaxima, ceftazidima, ciprofloxacina e imipenem. Ainda, 18 (28,1%) *E. coli* avaliadas apresentaram sensibilidade a todos os antimicrobianos testados. O perfil de multirresistência de *E. coli* a três ou mais classes de drogas antimicrobianas foi observado em 12 (18,7%) isolados e está apresentado na Tabela 2.

O perfil de sensibilidade de *Enterococcus* spp. evidenciou que oxacilina foi eficiente *in vitro* para 10% dos isolados, seguida de ácido nalidíxico e cefalexina (30%), e estreptomicina e sulfazotrim (40%). Além disso, 50% dos isolados apresentaram-se sensíveis à tetraciclina, enquanto 60% demonstraram sensibilidade para gentamicina e 80% para imipenem e nitrofurantoína. Ampicilina, ciprofloxacina e vancomicina caracterizaram-se como as drogas mais eficientes testadas (90%). O perfil de multirresistência de *Enterococcus* spp. a três ou mais classes de drogas antimicrobianas foi observado em oito (80%) dos isolados e está apresentado na Tabela 3.

A formação de biofilme foi verificada em todos os isolados de *Enterococcus* spp. avaliados, sendo que 50% deles demonstraram formação fraca e 50% moderada. Além disso, observou-se formação de biofilme fraca, moderada e ausente em 59,3%, 1,6% e 39,1% das *E. coli* testadas, respectivamente (Tabela 4).

A caracterização filogenética de *E. coli* revelou que a maior parte dos isolados pertenceram ao grupo B2 (46,9%), seguido dos grupos A (29,7%) e D (23,4%).

DISCUSSÃO

No presente trabalho, *E. coli* apresentou-se como o principal micro-organismo isolado a partir das amostras cloacais de pombos. Diferentes estudos demonstraram alta frequência desta bactéria em fezes de pássaros silvestres e pombos urbanos aparentemente saudáveis (RADIMERSKY et al., 2010), incluindo a presença de *E. coli* enterotoxigênica (STEC) e *E. coli* enteropatogênica (EPEC) entre 0 e 1,8% (KOBAYASHI et al., 2002; WANI et al., 2004; SILVA et al., 2009; CABALLERO et al., 2015; KOOCHAKZADEH et al., 2015) e 2,8 e 4,9% (HUGHES et al., 2009; SILVA et al., 2009; OH et al., 2011; SACRISTÁN et al., 2014), dos isolados analisados, respectivamente. O resultado encontrado sugere que *C. livia domestica* mantidos em criatórios no Distrito Federal podem albergar *E. coli* potencialmente patogênicas para outros animais e humanos, bem como disseminá-las no ambiente. De maneira geral, pombos domésticos em cativeiro apresentam maior interação com pessoas quando comparados às aves de vida livre, e podem ser epidemiologicamente importantes tanto na aquisição, quanto na transmissão de agentes infecciosos devido aos níveis de contaminação ambiental (HAAG-WACKERNAGEL & MOCH, 2004; TESKE et al., 2013).

O percentual de isolamento de *Enterococcus* spp. (21,3%) nas amostras analisadas neste trabalho foi inferior aos índices encontrados em 57,8% e 80% das amostras fecais de pombos domésticos na República Tcheca (RADIMERSKY et al., 2010) e em São Paulo (SILVA et al., 2012), respectivamente. Estudos indicaram que *E. columbae* caracteriza-se como a espécie mais prevalente pertencente à microbiota intestinal de pombos (BAELE et al., 2002), enquanto que *E. faecalis* e *E. durans* são eventualmente relatados como causa de doenças localizadas e sistêmicas em canários, patos e aves de produção (BUTAYE et al., 2002). Atualmente, *Enterococcus* spp. é apontado como o principal patógeno responsável por infecções hospitalares em pacientes de risco, estando associado a casos graves de septicemia, infecções do trato urinário, meningites e endocardites que não são facilmente curáveis

(SANTOS et al., 2013; O'DRISCOLL & CRANK, 2015). Ainda, o pequeno número de *Staphylococcus* spp. (5%) isolados das amostras avaliadas foi semelhante ao verificado em 7,1% das fezes coletadas de patos nos Estados Unidos (THAPALIYA et al., 2017), sendo que este gênero bacteriano também apresenta relevância em saúde animal e humana (GOETGHEBEUR et al., 2007).

Embora aves domésticas e, principalmente, silvestres constituam reservatórios comuns de *Salmonella* spp. (ABULREESH, 2012), esta bactéria não foi detectada em nenhuma amostra cloacal analisada. A ausência de *Salmonella* spp. em pombos de vida livre também foi demonstrada na análise de 200 *swabs* cloacais e fragmentos de cólon de animais jovens e adultos na Noruega (LILLEHAUG et al., 2005). Da mesma forma, a avaliação de 187 *swabs* cloacais de *C. livia* oriundos de áreas públicas no Canadá revelou que nenhuma se apresentou positiva para essa espécie bacteriana (GABRIELE-RIVET et al., 2016). Apesar disso, índices de 2% (ABULREESH, 2011; SANTOS, 2014), 6,4% (KRAWIEC et al., 2015) e 13% (HIDASI et al., 2015) de *Salmonella* spp. a partir de amostras fecais de columbiformes e outras aves silvestres foram verificados em estudos realizados na Arábia Saudita, Distrito Federal, Polônia e Goiás, respectivamente. A baixa frequência de identificação de *Salmonella* spp. em amostras de *swab* cloacal de espécies aviárias pode estar associada à excreção intermitente e à pequena concentração de bactérias nas fezes, as quais são apontadas como características do gênero (OIE, 2012).

O isolamento de *Cryptococcus* spp. foi observado em apenas uma amostra coletada neste estudo. A levedura é frequentemente diagnosticada em excretas aviárias secas e de origem ambiental (CANÓNICO-GONZÁLEZ et al., 2013; TAKAHARA et al., 2013; NWEZE et al., 2015), no entanto este basidiomiceto tem sido pouco isolado em amostras do trato digestório das aves (ROSARIO et al., 2005; ROSARIO et al., 2008; AMIRRAJAB et al., 2016). No Paraná, foram avaliadas 172 amostras de cloaca e 77 de ingluvío oriundas de pombos domésticos, Passeriformes e Psittaciformes, sendo que todas apresentaram-se negativas para *Cryptococcus* spp. (LUGARINI et al., 2008). Na Itália, *C. neoformans* var. *grubii* foi isolado em 2,2% (4/182) e 12,5% (4/32) das amostras cloacais de aves predatórias hospitalizadas e de excretas obtidas dos viveiros nos quais elas eram mantidas, respectivamente (CAFARCHIA et al., 2006).

Evidências apontam que o ambiente constitui a principal fonte de *Cryptococcus* spp. e que a contaminação das excretas aviárias está relacionada com a grande quantidade de células fúngicas naturalmente presentes no solo ou no ar, as quais, dispersadas pelo vento, encontram nas fezes aviárias compostos ricos em nitrogênio, favorecendo sua multiplicação

(CASADEVALL; PERFECT, 1998; LUGARINI et al., 2008). Além disso, a alta temperatura corporal das aves e a concentração de amônia que alcaliniza o meio em excretas frescas não são favoráveis ao desenvolvimento de *Cryptococcus* spp. no trato digestório dos animais (SORRELL; ELLIS, 1997) e podem justificar as baixas taxas de isolamento da levedura a partir da cloaca, inclusive neste trabalho. Ainda, a possível influência de fatores climáticos do cerrado sobre a ocorrência de *Cryptococcus* spp. no ambiente e, indiretamente, nos hospedeiros, não pode ser descartada. Na Colômbia, Granados & Castañeda (2005) verificaram que o período chuvoso com menor amplitude térmica favoreceu a ocorrência e propagação de *Cryptococcus* spp. ambientais, quando comparado à época seca avaliada.

Em relação à sensibilidade de *E. coli* aos antimicrobianos, tetraciclina (51,5%), estreptomicina (54,6%) e sulfazotrim (59,3%) caracterizaram-se como os menos eficazes *in vitro*. Baixos índices de sensibilidade para tetraciclina (25%) e estreptomicina (27,3%) foram também relatados em *E. coli* oriundas de pombos em cativeiro na Bélgica (KIMPE et al., 2002) e no Paraná (BORGES et al., 2017), respectivamente. Por outro lado, o percentual de isolados sensíveis para sulfazotrim no presente trabalho foi inferior ao verificado por diferentes autores em 62% (HASAN et al., 2014), 72,7% (BORGES et al., 2017) e 96,1% (SILVA et al., 2009) das *E. coli* de pombos analisadas. A alta eficácia *in vitro* de cefalexina, ceftazidima, ciprofloxacina e imipenem também foi evidenciada por outros pesquisadores (BORGES et al., 2017; HASAN et al., 2014).

Os menores percentuais de sensibilidade dos isolados de *Enterococcus* spp. avaliados neste estudo foram para oxacilina (10%), cefalexina (30%) e ácido nalidíxico (30%). A resistência intrínseca desta espécie bacteriana à oxacilina e a cefalosporinas de primeira geração constitui um fenômeno conhecido, associado principalmente com a expressão de proteínas ligadoras de penicilina (*penicillin-binding proteins* - PBPs) enterocócicas de baixa afinidade (PBP4 e PBP5), que se ligam fracamente aos antibióticos beta-lactâmicos e impedem sua atividade (HOLLENBECK; RICE, 2012). Além disso, o percentual de resistência à tetraciclina (50%) observado nesta pesquisa foi superior aos índices verificados em 13,3% e 20% dos *Enterococcus* spp. obtidos de pombos domésticos em Minas Gerais (SILVA et al., 2012) e na República Tcheca (RADIMERSKY et al., 2010), respectivamente. Ainda, a alta sensibilidade à ampicilina (90%) aqui encontrada também foi demonstrada em 96% dos *E. faecium*, *E. faecalis* e *E. durans* oriundos de amostras de swab cloacal em Portugal (SANTOS et al., 2013).

Doze (18,7%) isolados de *E. coli* e oito (80%) *Enterococcus* spp. avaliados apresentaram-se resistentes a três ou mais classes de drogas testadas. Taxas de

multirresistência antimicrobiana em 25% e 61% das *E. coli* obtidas de pombos em cativeiro foram observadas em estudos realizados no estado do Paraná (BORGES et al., 2017) e em Bangladesh (HASAN et al., 2014), respectivamente. Em Minas Gerais, 18,3% dos *Enterococcus* spp. oriundos de amostras fecais de pombos demonstraram resistência múltipla aos antimicrobianos (SILVA et al., 2012). A presença de isolados multirresistentes nas amostras estudadas alerta para a possibilidade de disseminação destes agentes e de marcadores de resistência antimicrobiana no ambiente, bem como para a potencial transmissão a outros animais e a pessoas. Além de pombos, todos os criatórios visitados (A a C) mantinham cães ou galinhas em suas instalações e havia relato de contato esporádico entre os pombos e aves silvestres. Sabe-se que aves saudáveis podem adquirir e transmitir bactérias entéricas, incluindo cepas resistentes, por meio da rota oral-fecal a partir de espécies carreadoras – como insetos, roedores e outras aves – ou de água e alimentos contaminados (CARROLL et al., 2015).

A maior parte dos isolados de *E. coli* (41,6%) e *Enterococcus* spp. (37,5%) avaliados demonstrou resistência múltipla a quatro classes de drogas testadas (tetraciclinas, aminoglicosídeos, quinolonas e sulfonamidas). Tetraciclina, estreptomicina e sulfazotrim são comumente utilizados para tratamento de diversas infecções bacterianas em animais e pessoas, sendo que a crescente resistência a esses antimicrobianos tem sido evidenciada mundialmente (PHONGPAICHIT et al., 2008; MATIAS et al., 2016). Além disso, a maior concentração de *E. coli* multirresistentes ocorreu nos criatórios B (33,4%) e A (19%), nos quais eram mantidos pombos com característica racial pura para participação em competições de corrida nacionais e internacionais. Sugere-se que estes achados estão associados à pressão seletiva exercida pelas drogas sobre as bactérias, uma vez que, segundo os proprietários, antibióticos para prevenção ou tratamento de doenças nos animais são utilizados entre três (C) e quatro (A) vezes ao ano. Ainda, durante as competições, os pombos entram em contato com animais de diferentes origens especialmente no caminhão que os transporta até o local de soltura, fato que pode permitir a transmissão e aquisição de micro-organismos resistentes. Por fim, a presença de um isolado de *Enterococcus* spp. que demonstrou resistência múltipla a sete antimicrobianos testados, incluindo vancomicina, gera preocupações à saúde pública, já que esta droga é indicada como uma das poucas, senão a única, alternativa eficaz para o tratamento de infecções por *Enterococcus* spp. multirresistentes (SANTOS et al., 2013).

A análise filogenética demonstrou que a maior parte das *E. coli* pertenceram aos grupos B2 (46,9%), A (29,7%) e D (23,4%). Estes achados diferem dos encontrados em estudo realizado no Irã, onde 93% e 7% dos isolados STEC oriundos de amostras cloacais de

pombos foram alocados nos grupos B1 e B2, respectivamente (ASKARI BADOUEI et al., 2014). Em trabalho realizado no Paraná, *E. coli* obtidas de pombos domésticos em cativeiro classificaram-se em B1 (63,4%), B2 (23,4%) e A (9,2%), enquanto que os grupos filogenéticos observados para os isolados de pombos de vida livre foram D (58%), B2 (21%), A (21%) e, assim como nesta pesquisa, B1 não foi relatado. Além disso, 61,5% isolados pertencentes ao grupo D apresentaram apenas um gene de virulência e 46,1% não demonstraram patogenicidade para pintainhos de um dia de idade (BORGES et al., 2017).

Estudos têm demonstrado que *E. coli* extra-intestinais patogênicas de origem humana geralmente pertencem aos grupos B2 e D, sendo que as cepas alocadas nos grupos A e B1 podem atuar como comensais, pouco patogênicas ou patogênicas intestinais para animais (CLERMONT et al., 2000; SALEHI et al., 2012). Ao analisar filogeneticamente 264 isolados provenientes de infecções do trato urinário humanas e fezes de aves silvestres, Staji et al. (2017) verificaram que as primeiras classificaram-se principalmente em B2 (46,9%) e D (30%), enquanto B1 (32,5%) e A (27,5%) foram os grupos mais frequentes para os isolados de origem animal. Mais da metade (70,3%) das *E. coli* avaliadas neste trabalho pertenceram à B2 e D, indicando que pombos domésticos podem atuar como reservatório de filogrupos virulentos associados à invasão e danos importantes em órgãos extra-intestinais humanos. Além disso, evidências sugerem que a ocorrência dos grupos filogenéticos nas diversas espécies é influenciada por fatores incluindo características do hospedeiro, regime alimentar, pressão seletiva de antibióticos, condições climáticas, entre outras (ESCOBAR-PÁRAMO et al., 2006; BARZAN et al., 2017), as quais podem auxiliar na compreensão de diferenças obtidas na caracterização filogenética de *E. coli* de aves e outras espécies que são relatadas em inúmeros estudos.

A formação de biofilme foi evidenciada em todos os isolados de *Enterococcus* spp. avaliados e em 61% das *E. coli* obtidas. Os biofilmes promovem o surgimento de condições favoráveis para a permanência das bactérias no sítio da infecção, estando associados à resistência microbiana pela dificuldade de difusão dos antibióticos através da matriz polissacarídica (BELOIN et al., 2008). Em estudo realizado na Turquia, todos os isolados de *E. coli* oriundos de passeriformes formaram biofilme pelo método de adesão em microplacas, sendo que a cepa considerada como forte produtora de biofilme caracterizou-se também como a mais resistente aos antimicrobianos testados *in vitro* (YILMAZ & GÜVENSEN, 2016). Os mesmos autores verificaram que a maioria dos isolados de *E. coli* produtores de ESBL demonstraram fraca formação de biofilme e alocaram-se principalmente no grupo B1, considerado comensal. No presente trabalho, metade das *E. coli* (6/12)

classificadas como multirresistentes não foram capazes de formar biofilme e alocaram-se em A (3/6) e D (3/6). Ainda, 62,5% dos *Enterococcus* spp. multirresistentes a três ou mais classes de drogas demonstraram formação de biofilme moderada. Mais estudos são necessários para melhor compreensão da relação entre os fatores de virulência avaliados e a classificação filogenética dos micro-organismos.

5 CONCLUSÃO

Os principais micro-organismos isolados a partir de *swabs* cloacais de *C. livia domestica* são *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp., os quais demonstram maior sensibilidade *in vitro* à ciprofloxacina. Especialmente os isolados de *Enterococcus* spp. revelam multirresistência aos antimicrobianos, a qual pode estar associada ao uso dessas drogas nas criações estudadas e à formação de biofilme evidenciada. Por fim, os pombos domésticos avaliados caracterizam-se como reservatórios de micro-organismos potencialmente patogênicos para animais e humanos, incluindo *Enterococcus* spp. resistente à vancomicina.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABULREESH, H. H. Free living Rock pigeon (*Columba livia*) as na environmental reservoir of enteric bacterial pathogens resistant to antimicrobial drugs in Saudi Arabia. **Current Research in Bacteriology**, v. 4, n. 1, p. 28-33, 2011.
- ABULREESH, H. H. Salmonellae in the environment. In: BASSAM, A. A.; GURTLER, J. B. **Salmonella - Distribution, Adaptation, Control Measures and Molecular Technologies**, 2012. Disponível em <<https://www.intechopen.com/books/salmonella-distribution-adaptation-control-measures-and-molecular-technologies/salmonellae-in-the-environment>> Acesso em 2 set. 2017.
- AMIRRAJAB, N. et al. Migratory birds as a potential reservoirs of *Cryptococcus neoformans*. **International Journal of Environmental Research**, v. 10, n. 3, p. 459-464, 2016.
- ASKARI BADOUEI, M. et al. Molecular characterization, genetic diversity, and antibacterial susceptibility of *Escherichia coli* encoding Shiga toxin 2f in domestic pigeons. **Letters Applied in Microbiology**, v. 59, n. 4, p. 370-376, 2014.
- AUSUBEL, F. M. et al. Current protocols in molecular biology. New York: John Wiley & Sons, 2002. 4648 p.
- BAELE, M. et al. Composition of enterococcal and streptococcal flora from pigeons intestines. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, n. 2, p. 348-351, 2002.
- BARZAN, M. et al. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* isolates from healthy and diarrhoeic calves in Mashhad, Iran. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 20, n. 1, p. 11-18, 2017.
- BELOIN, C.; ROUX, A.; GHIGO, J.-M. *Escherichia coli* biofilms. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 322, n. 1, p. 249-289, 2008.
- BORGES, C. A. et al. Wild birds and urban pigeons as reservoirs for diarrheagenic *Escherichia coli* with zoonotic potential. **Journal of Microbiology**, v. 10, n. 5, p. 1-6, 2017.
- BUTAYE, P. et al. Comparison of susceptibility to antimicrobials of the Enterococcal species isolated from pigeons (*Columba livia*). **Microbial Drug Resistance**, v. 8, n. 3, p. 215-218, 2002.
- CABALLERO, M. et al. Isolation and molecular identification of potentially pathogenic *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni* in feral pigeons from an urban area in the city of Lima, Peru. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 5, p. 393-396, 2015.

- CAFARCHIA, C. Role of birds of prey as carriers and spreaders of *Cryptococcus neoformans* and other zoonotic yeasts. **Medical Micology**, v. 44, n. 6, p. 485-492, 2006.
- CANÓNICO-GONZÁLEZ, Y. et al. *Cryptococcus* spp. isolation from excreta of pigeons (*Columba livia*) in and around Monterrey, Mexico. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, 1-5, 2013.
- CARROLL, D. et al. Antimicrobial resistance in wildlife: implications for public health. **Zoonoses and Public Health**, v. 62, n. 7, p. 534-542, 2015.
- CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R. *Cryptococcus neoformans*. Washington: American Society for Microbiology Press, 1998. 541 p.
- CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and simple determination of *Escherichia coli* phylogenetic group. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4555-4558, 2000.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Second Informational Supplement, CLSI document M100-S22, 2012. Wayne: CLSI. 188 p.
- DOVC, A. et al. Occurrence of bacterial and viral pathogens in common and noninvasive diagnostic sampling from parrots and racing pigeons in Slovenia. **Avian Diseases**, v. 60, n. 2, p. 487-492, 2016.
- ESCOBAR-PÁRAMO, P. et al. Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* genetic structure by comparing animal and human isolates. **Environmental Microbiology**, v. 8, n. 11, p. 1975-1984, 2006.
- FCB, FEDERAÇÃO COLUMBÓFILA BRASILEIRA. Disponível em <<http://www.fcb.org.br/>> Acesso em: 02 fev. 2017.
- FPC, FEDERAÇÃO PORTUGUESA DE COLUMBOFILIA. Disponível em <<http://www.fpcumbofilis.pt/>> Acesso em: 02 fev. 2017.
- GABRIELE-RIVET, V. et al. Prevalence and risk factors for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Coxiella burnetii*, and Newcastle disease virus in feral pigeons (*Columba livia*) in public areas of Montreal, Canada. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 80, n. 1, p. 81-85, 2016.
- GOMES, T. A. T. et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 3-30, 2016.
- GRANADOS, D. P.; CASTAÑEDA, E. Isolation and characterization of *Cryptococcus neoformans* varieties recovered from natural sources in Bogotá, Colombia, and study of ecological conditions in the area. **Microbial Ecology**, v. 49, n. 2, p. 282-290, 2005.
- GOETGHEBEUR, M. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a public health issue with economic consequences. **The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, v. 18, n. 1, p. 27-34, 2007.

GUZMAN PRIETO, G. A. M. et al. Global Emergence and Dissemination of Enterococci as Nosocomial Pathogens: Attack of the Clones? **Frontiers in Microbiology**, v. 26, n. 1, p. 770-778, 2016.

HAAG-WACKERNAGEL, D. Vom Lebling der Götter zur Eroberung der Städte Die Taube-Eine Erfolgsgeschichte. **Biologie in unserer Zeit**, v. 41, n. 1, p. 44-52, 2011.

HAAG-WACKERNAGEL, D.; MOCH, H. Health hazards posed by feral pigeons. **Journal of Infection**, v. 48, n. 4, p. 307-313, 2004.

HASAN, B. et al. Fecal carriage of multi-drug resistant and extended spectrum beta-lactamases producing *Escherichia coli* in household pigeons, Bangladesh. **Veterinary Microbiology**, v. 168, n. 1, p. 221-224, 2014.

HIDASI, H. W. et al. Detection of *Salmonella enterica* in synanthropic birds in the metropolitan area of Goiania-Go. **Clinical Microbiology: Open Access**, v. 4, n. 3, p. 1-6, 2015.

HOLLENBECK, B. L.; RICE, L. B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. **Virulence**, v. 3, n. 5, p. 421-433, 2012.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Williams and Williams, 1994. 787 p.

HUGHES, L. A. et al. Risk factors for the occurrence of *Escherichia coli* virulence genes *eae*, *stx1* and *stx2* in wild Bird populations. **Epidemiology and Infection**, v. 137, n. 11, p. 1574-1582, 2009.

KIMPE, A. et al. Prevalence of antimicrobial resistance among pigeon isolates of *Streptococcus gallolyticus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. **Avian Pathology**, v. 31, n. 4, p. 393-397, 2002.

KOBAYASHI, H. et al. Prevalence and characteristics of intimin- and shiga toxin-producing *Escherichia coli* from gulls, pigeons and broilers in Finland. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, n. 11, p. 1071-1073, 2002.

KOOCHAKZADEH, A. et al. Prevalence of shiga toxin-producing and enteropathogenic *Escherichia coli* in wild pet birds in Iran. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 17, n. 4, p. 445-450, 2015.

KRAWIEC, M. et al. Prevalence and genetic characteristics of *Salmonella* in free-living birds in Poland. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 15, p. 1-10, 2015.

LEE, Y. Biofilm formation and antimicrobial resistance in *Enterococcus*. **Infection & Chemotherapy**, v. 49, n. 3, p. 236-237, 2017.

LILLEHAUG, A. et al. Screening of feral pigeon (*Colomba livia*), mallard (*Anas platyrhynchos*) and graylag goose (*Anser anser*) populations for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., Avian Influenza Virus and Avian Paramyxovirus. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, n. 4, p. 193-202, 2005.

- LUGARINI, C. Screening of antigenemia and isolation of *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* from cloaca and crop of birds in the state of Paraná, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 7, p. 341-344, 2008.
- MAJOWICZ, S. E. et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 6, p. 882-889, 2010.
- MATIAS, C. A. R. et al. Frequency of zoonotic bacteria among illegally traded wild birds in Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 882-888, 2016.
- MELLATA, M. Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 11, p. 916-932, 2013.
- MERINO, N. et al. Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, v. 191, n. 3, p. 832-843, 2009.
- MOUTINHO, F. F. B. et al. Distribuição espaço-temporal das reclamações sobre pombos (*Columba livia domestica*) efetuadas ao centro de controle de zoonoses de Niterói, RJ (2009-2013). **Hygeia**, v. 11, n. 21, p. 49-61, 2015.
- NWEZE, E. et al. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from environmental samples collected in Southeastern Nigeria. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 4, p. 295-298, 2015.
- O'DRISCOLL, T.; CRANK, C. W. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. **Infection and Drug Resistance**, v. 24, n. 8, p. 217-230, 2015.
- OH, J. Y. et al. Epidemiological investigation of *eaeA*-Positive *Escherichia coli* and *Escherichia albertii* strains isolated from healthy wild birds. **The Journal of Microbiology**, v. 49, n. 5, p. 747-752, 2011.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL (OIE). Salmonellosis. In: Terrestrial Animal Health Code, 2012. Disponível em <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2008/pdf/2.09.09_SALMONELLOSIS.pdf> Acesso em: 02 set. 2017.
- PARK, B. J. et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **AIDS**, v. 23, n. 4, p. 525-530, 2009.
- PHONGPAICHIT, S.; WUTTANANUPAN, K.; SAMASANTI, W. Class 1 integrons and multidrug resistance among *Escherichia coli* isolates from human stools. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 39, n. 1, p. 279-289, 2008.
- QUINN, P. J. et al. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. 2. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011. 928 p.

- RADIMERSKY, T. et al. Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp.) in feral pigeons. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, n. 5, p. 1687-1695, 2010.
- ROSARIO, I. et al. Isolation of *Cryptococcus* specie including *C. neoformans* from cloaca of pigeons. *Mycoses*, v. 48, n. 6, p. 421-424, 2005.
- ROSARIO, I.; ACOSTA, B.; COLOM, M. F. Pigeons and other birds as a reservoir for *Cryptococcus* spp. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 25, n. 1, p. S13-8, 2008.
- SACRISTÁN, C. et al. Virulence genes, antibiotic resistance and integrons in *Escherichia coli* strains isolated from synantropic birds from Spain. **Avian Pathology**, v. 43, n. 2, p. 172-175, 2014.
- SALEHI, T. Z. et al. Genetic characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated from the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) by using microarray DNA technology. *Molecular Biotechnology*, v. 51, n. 3, p. 283-288, 2012.
- SANTOS, T. et al. Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. **Anaerobe**, v. 24, p. 25-31, 2013.
- SILVA, N. et al. Commensal gut bacteria: distribution of *Enterococcus* species and prevalence of *Escherichia coli* phylogenetic groups in animals and humans in Portugal. **Annals of Microbiology**, v. 62, p. 449-459, 2012.
- SILVA, V. et al. Diarrheagenic *Escherichia coli* strains recovered from urban pigeons (*Columba livia*) in Brazil and their antimicrobial susceptibility patterns. **Current Microbiology**, v. 59, p. 302-308, 2009.
- SORRELL, T. C.; ELLIS, D. H. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 14, n. 2, p. 42-43, 1997.
- STAJI, H. et al. Correlation of *Escherichia coli* strains isolated from wild bird feces and human urinary tract infections from phylogenetic point of view. **Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection**, v. 4, n. 3, p. 1-4, 2017.
- STEPANOVIC, S. et al. A modified microtiter-plate test for quantification of *Staphylococcus* biofilm formation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 40, n. 2, p. 175-179, 2000.
- TAKAHARA, D. T. et al. Primeiro registro de *Cryptococcus neoformans* em excretas de pombos provenientes de locais públicos e residenciais de área metropolitana de Cuiabá, Estado do Mato Grosso, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 6, p. 371-376, 2013.
- TESKE, L. Epidemiological investigations on the possible risk of distribution of zoonotic bacteria through apparently healthy homing pigeons. **Avian Pathology**, v. 42, n. 5, p. 397-407, 2013.
- THAPALIYA, D. et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* in goose feces from state parks in Northeast Ohio. **Ecohealth**, v. 14, n. 2, p. 303-309, 2017.

VÁZQUEZ, B. et al. Screening for several potential pathogens in feral pigeons (*Columba livia*). **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, n. 1, p. 2-6, 2010.

WANI, S. A. et al. Investigation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in avian species in India. **Letters in Applied Microbiology**, v. 39, n. 5, p. 389-394, 2004.

YILMAZ, E. S; GÜVENSEN, N. C. *In vitro* biofilm formation in ESBL producing *Escherichia coli* isolates from cage birds. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 11, p. 1069-1074, 2016.

Tabela 1. Combinações de micro-organismos isolados a partir de 100 amostras de *swab* cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios e em laboratório de experimentação animal no Distrito Federal, Brasil

Micro-organismos	Total	%
<i>Escherichia coli</i>	46	60,5
<i>E. coli</i> + <i>Enterococcus</i> spp.	16	21,1
BGN ^a	6	7,9
<i>Staphylococcus</i> spp.	3	4
<i>E. coli</i> + <i>Staphylococcus</i> spp.	2	2,6
<i>Enterococcus</i> spp. + BGN	2	2,6
<i>Cryptococcus</i> spp.	1	1,3
Total	76	100

^a bacilos Gram negativos

Tabela 2. Perfil de multirresistência de *Escherichia coli* (n=12) isoladas a partir de *swab* cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios (A a C) no Distrito Federal a três ou mais classes de drogas antimicrobianas

Local	Perfil de multirresistência			Total MR^a
	3 classes	4 classes	5 classes	
A (n=21)	1	1	2	4 (19,0%)
B (n=21)	2	4	1	7 (33,4%)
C (n=15)	1	0	0	1 (8,34%)
Total (n=12)	4 (33,4%)	5 (41,6%)	3 (25,0%)	

^a isolados multirresistentes

Tabela 3. Perfil de multirresistência de *Enterococcus* spp. (n=10) isolados a partir de *swab* cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios (A) e em laboratório de experimentação animal (D) no Distrito Federal a três ou mais classes de drogas antimicrobianas

Local	Perfil de multirresistência				Total MR^a
	3 classes	4 classes	5 classes	7 classes	
A (n=2)	0	0	0	1	1 (12,5%)
D (n=8)	2	3	2	0	7 (87,5%)
Total (n=10)	2 (25%)	3 (37,5%)	2 (25%)	1 (12,5%)	

^a isolados multirresistentes

Tabela 4. Formação de biofilme e perfil de resistência de *Escherichia coli* (n=64) e *Enterococcus* spp. (n=10) isolados a partir de swab cloacal de *Columba livia domestica* mantidos em criatórios e em laboratório de experimentação animal no Distrito Federal.

Perfis de Resistência ^a	<i>Enterococcus</i> spp.		<i>Escherichia coli</i>					
	Biofilme		Biofilme			Filogrupos ^e		
	Fr ^b	M ^c	Au ^d	Fr	M	A	B2	D
0 classes	1	0	5	13	0	3	11	5
1 classe	0	0	5	7	0	5	3	4
2 classes	1	0	9	13	0	8	13	1
3 classes	2	0	1	2	1	0	3	1
4 classes	0	3	2	3	0	3	0	2
5 classes	0	2	3	0	0	1	0	2
7 classes	1	0	0	0	0	0	0	0
Total n	5	5	25	38	1	19	30	15
Total %	50	50	39,1	59,3	1,6	29,7	46,9	23,4

^a perfis de resistência a nenhuma, uma, duas, três, quatro, cinco e sete classes de drogas antimicrobianas testadas

^b fraca formação de biofilme

^c moderada formação de biofilme

^d formação de biofilme ausente

^e grupos filogenéticos de *E. coli*

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da caracterização de micro-organismos isolados a partir de *swab* cloacal em pombos domésticos do Distrito Federal, conclui-se que:

- Destaca-se a presença de *E. coli* e *Enterococcus* spp. na microbiota cloacal de pombos domésticos, as quais apresentam potencial zoonótico;

- *Salmonella* spp. e *Cryptococcus* spp. não constituem patógenos frequentemente isolados na microbiota cloacal dos pombos avaliados nesta pesquisa;

- *E. coli* e *Enterococcus* spp. apresentam variações nos índices de sensibilidade aos antimicrobianos, sendo a ciprofloxacina a droga mais eficaz para ambos os micro-organismos;

- A presença de isolados multirresistentes na microbiota cloacal está associada ao uso de antimicrobianos nas aves dos criatórios estudados e à formação de biofilme. Ressalta-se a importância da escolha e da utilização adequada destas drogas, a fim de alcançar o sucesso terapêutico e minimizar o risco à saúde pública;

- A identificação de um isolado de *Enterococcus* resistente à vancomicina gera preocupações do ponto de vista de saúde pública, uma vez que esta droga muitas vezes constitui a única opção terapêutica em infecções enterocócicas;

- A caracterização filogenética demonstra que os isolados de *E. coli* classificam-se principalmente nos grupos B2 e A.