

**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE AVES
SILVESTRES
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-PIBIC/ICMBio**

**PESQUISA DE *Salmonella* spp. NAS AVES SILVESTRES DA RESERVA
BIOLÓGICA GUARIBAS, PARAÍBA E ESTAÇÃO ECOLÓGICA RASO DA
CATARINA, BAHIA.**

**Marcus Mello Rego de Amorim
Camile Lugarini**

**CABEDELO
2º SEMESTRE/2013**

RESUMO

O estudo da microbiota bacteriana de aves silvestres clinicamente saudáveis é um passo importante para a compreensão da epidemiologia das doenças bacterianas. As aves silvestres são consideradas suscetíveis à infecção por *Salmonella* spp. O objetivo deste trabalho foi pesquisar a microbiota cloacal e avaliar a ocorrência de *Salmonella* spp. em aves silvestres na Reserva Biológica Guaribas e Estação Ecológica Raso da Catarina. De agosto de 2012 a junho de 2013 foram realizadas nove expedições para a REBIO e duas expedições para a ESEC Raso da Catarina. Foram colhidas 196 amostras na REBIO Guaribas e 63 na ESEC Raso da Catarina, totalizando 259 amostras de 73 espécies, pertencentes a 27 famílias e sete ordens. *Swabs* cloacais foram colhidos e armazenados em meio Stuart refrigerados a 4°C para transporte e processados em até 48 h. Do total de amostras colhidas houve crescimento bacteriano em 42,1%. Os microorganismos isolados mais frequentemente foram: *Escherichia coli* (20,9%), *Staphylococcus* sp. (15,8%), *Enterobacter aerogenes* (15,1%), *E. agglomerans* (14,4%), *Bacillus* sp. (13,7%), *Corynebacterium* sp. (8,6%), *Streptococcus* sp. (3,6%) e *Shigella* sp. (2,2%), além de *Arizona* sp., *Edwardsiella tarda*, *E. sakazaki*, *Proteus* sp. e *Staphylococcus aureus*. 62,2% apresentaram multi-resistência (mais de três antibióticos) e 32,4% foram sensíveis a todos os antibióticos testados. Houve isolamento de *Salmonella* sp. em 0,77% das amostras. É notável a importância de estudar esses microorganismos em aves silvestres, esse entendimento permitirá melhores chances de preservação dessas aves, além do controle sobre esses patógenos que são de grande valor para a saúde pública. Por meio deste estudo, demonstrou-se a presença de bactérias Gram negativas como constituintes normais da microbiota de aves silvestres e baixa ocorrência de *Salmonella* spp., além da multi-resistência a antibióticos da microbiota da avifauna.

ABSTRACT

Birds are considered susceptible to infection by *Salmonella* spp. Bacterial population study of clinically healthy wild birds is an important step in understanding the epidemiology of bacterial diseases. The objective of this study was to investigate the cloacal microbiota and verify the occurrence of *Salmonella* spp. in wild birds in Guaribas Biological Reserve and Ecological Station Raso da Catarina. From August 2012 to June 2013 nine expeditions were conducted to REBIO and two expeditions to ESEC Raso da Catarina. A total of 196 samples were collected in REBIO Guaribas and 63 in ESEC Raso da Catarina, totaling 259 samples of 73 species belonging to 27 families and seven orders. Cloacal swabs were collected and stored in chilled Stuart medium at 4 ° C for transportation, and processed before 48 h. Bacterial growth occurred in 42,1% of samples. The most frequently isolated microorganisms in two protected areas were: *Escherichia coli* (20,9%), *Staphylococcus* sp. (15,8%), *Enterobacter aerogenes* (15,1%), *E. agglomerans* (14,4%), *Bacillus* sp. (13,7%), *Corynebacterium* sp. (8,6%), *Streptococcus* sp. (3,6%) and *Shigella* sp. (2,2%), beyond *Arizona* sp., *Edwardsiella tarda*, *E. sakazaki*, *Proteus* sp. and *Staphylococcus aureus*. There were isolation of *Salmonella* in 0,77% of the sample held. It is remarkable the importance of studying these microorganisms in wild birds, this understanding will enable better chances of preserving these birds, beyond the control of these pathogens that are of great value to public health. Through this study, it was demonstrated the presence of Gram negative bacteria such as the usual constituents of the microflora of wild birds and the low prevalence of *Salmonella* spp. besides the multi-resistance of microorganisms to antibiotics of the bird.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Mapa da Reserva Biológica Guaribas, com destaque para as áreas amostradas nas SEMAS I, II e III.

Figura 2 – Mapa da Estação Ecológica Raso da Catarina, com destaque para a área amostrada.

Figura 3 – Gráfico da frequência média de isolamento de bactérias provenientes de *swabs* cloacais de aves silvestres na Esec Raso da Catarina e Rebio Guaribas ($T=2,07$, $GL=12$, $p=0,048$).

Tabela 1 – Resultado do isolamento microbiológico por espécie na Rebio Guaribas e Esec Raso da Catarina.

Tabela 2 – Frequência relativa de resistência de bactérias Gram positivas isoladas de amostras cloacais de aves silvestres, na Rebio Guaribas e Esec Raso da Catarina.

Tabela 3 – Frequência relativa de resistência de bactérias Gram negativas isoladas de amostras cloacais de aves silvestres, na Rebio Guaribas e Esec Raso da Catarina.

Figura 3 – Testes de diferenciação de *Staphylococcus aureus*. A - ágar Manitol positivo, B – VP positivo e ágar Dnase positivo.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	05
2. MATERIAIS E METÓDOS	11
2.1. Área de Estudo	11
2.2. Captura das Aves	13
2.3. Colheita e Processamento de Material Biológico	13
2.4 Análises Não Paramétricas	15
3. RESULTADOS	16
4. DISCUSSÃO	23
5. AGRADECIMENTOS	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1. INTRODUÇÃO

Algumas das principais ameaças à manutenção da diversidade biológica são a extinção e a vulnerabilidade de espécies, fragmentação e perda de habitats, poluição ambiental, aumento da população humana e da exploração de recursos naturais, introdução de espécies invasoras e dispersão de doenças (ANDRIOLO, 2006), destacando-se as enfermidades infecciosas (HERNANDEZ-DIVERS et al., 2006; NEWMAN et al., 2007), como a salmonelose, uma zoonose de grande significância, tanto para a saúde pública, quanto para a saúde animal, geralmente associada a processos entéricos e/ou septicêmicos (CARVALHO, 2006).

O conhecimento da microbiota bacteriana e fúngica que compõe as diferentes áreas do organismo tem importância reconhecida para a compreensão de doenças infecciosas que podem acometer os animais. Contudo, a microbiota não é uniforme, podendo-se observar diferenças quantitativas e qualitativas (HIRSH e ZEE, 1999). Por sua vez, a manutenção da população microbiana normal está sujeita a mudanças físicas, químicas, imunológicas, bem como fatores microbiológicos que ainda são pouco compreendidos. O resultado de interações entre o hospedeiro e o microrganismo é um ecossistema composto por inúmeros nichos, cada qual habitado por microrganismos mais adaptados àquela região. Alterações em um desses elementos do ecossistema pode favorecer a multiplicação de um microrganismo presente na microbiota, levando ao desencadeamento de uma doença (HIRSH e ZEE, 1999; TORTORA et al., 2002).

O estudo da microbiota bacteriana de aves silvestres clinicamente saudáveis é um passo importante para a compreensão da epidemiologia das doenças bacterianas que podem afetar as suas populações (DOBBIN et al. 2005). A microbiota fecal de aves silvestres de

vida livre tem sido pouco estudada, sobretudo considerando a ocorrência de bactérias de importância em saúde pública, particularmente no Brasil (BRITTINGHAM et al., 1988; D'ALOIA et al., 1996).

Segundo Lancini (1994), a microbiota bacteriana do trato intestinal das aves tem um efeito benéfico, atuando no processo digestório, e de acordo com Ito et al. (2000), de uma forma indireta, a presença da microbiota intestinal equilibrada, particularmente no ceco, contribui com a exclusão e/ou competição com bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. e *Salmonella* spp.

Alguns autores consideram que a microbiota entérica de aves silvestres saudáveis é composta quase que exclusivamente por bactérias Gram positivas dos gêneros *Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Gaffkya* spp., *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. não hemolíticos. Desta forma, a colonização intestinal por bactérias Gram negativas seria um indicativo de doença, recomendando-se a terapia com drogas antimicrobianas (FLAMMER e DREWES, 1988; STYLES e FLAMMER, 1991; HOEFER, 1997). Já outros estudos com aves de vida livre demonstraram 60% de isolamento de enterobactérias, o qual foi atribuído ao estresse constante devido à presença de caçadores e seres humanos próximos aos ninhos e ao declínio do ambiente natural aonde estas aves viviam (HARRISON e McDONALD, 2006) e um estudo recente de psitacídeos de vida livre demonstrou 100% das aves infectadas por *E. coli* (SAINDEBERG et al., 2012).

As bactérias da família Enterobacteriaceae são compostas por aproximadamente 28 gêneros e mais de 80 bactérias. Os gêneros e espécies desta família apresentam distinções bioquímicas, o que permite a identificação dos isolados clínicos (QUINN et al., 2005), sendo que todas as enterobactérias são capazes de produzir toxinas (GERLACH, 1994). O grupo coliforme é formado pelos gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*

e *Klebsiella*. As bactérias pertencentes a este grupo são comumente encontradas no trato intestinal do homem e animais (SIQUEIRA, 1995).

Segundo Quinn et al. (2005), a família Enterobacteriaceae pode ser dividida, de acordo com sua patogenicidade para os animais, em três grupos. O primeiro grupo é classificado como de patogenicidade incerta e estão incluídas espécies de 17 gêneros, entre eles destacam-se: *Cedeia* spp., *Enterobacter agglomerans* e *Providencia* spp. Outro grupo é denominado de patógenos oportunistas, em que estão incluídas as espécies dos gêneros: *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Edwardsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella* spp. e *Shigella* spp. No grupo classificado com de grande patogenicidade para animais encontramos algumas espécies de *Yersinia*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp.

Salmonella spp. é uma bactéria anaeróbia facultativa em forma de bacilo Gram negativo com flagelos (HIRSH, 2003). Existem mais de 2.300 diferentes sorovares no gênero produzindo variadas enfermidades em um grande número de hospedeiros distribuídos pelo mundo (CARTER, 1998; LABACVET, 2007)

É um microrganismo amplamente distribuído na natureza, habita o trato intestinal de vertebrados, sendo a sua eliminação responsável pela contaminação do ambiente (GOPEE et al., 2000), e sua transmissão principal se dá por via fecal-oral. As fontes de infecção incluem solo contaminado, vegetação, água e componentes de rações animais (HIRSH, 2003). No caso das aves silvestres, elas podem ser fonte de infecção para humanos e animais domésticos, especialmente os sorotipos Gallinarum, Pullorum, Tiphymurium e Enteritidis (BUCHALA et al. 2006), sendo os dois primeiros causadores de infecções mais graves e de maiores perdas econômicas para a avicultura, e os dois últimos sorovares importantes para a saúde pública (ACHA e SZYFRES, 1986; TIZARD, 2004).

Contudo, em aves silvestres, a salmonelose (independente do sorovar do agente etiológico envolvido) pode ser uma ameaça à conservação da diversidade biológica, acarretando grande ameaça à avifauna (CARVALHO, 2006; HERNANDEZ-DIVERS et al. 2006; PENNYCOTT et al. 2006; NEWMAN et al. 2007), embora alguns autores enfatizem que na maioria dos casos as aves sejam portadoras sadias (SAVIDGE et al. 1992, SMITH et al. 2002, LEÓN-QUINTO et al. 2004).

Acredita-se que a disseminação ocorra em decorrência do controle sanitário incorreto, ressaltando que o tráfico desses animais vem crescendo, tendo como maiores vítimas as aves da ordem Passeriforme, que acabam atuando como importantes disseminadores, uma vez que se tornam portadores assintomáticos do agente (PADRONE, 2004). Todas as espécies de aves silvestres são consideradas suscetíveis à infecção a depender da idade do hospedeiro, condições de estresse, nutrição, além da virulência do agente (HALL et al., 2008).

A salmonelose também é a maior responsável por toxinfecções alimentares humana, no mundo elas representam cerca de 10-15% de casos de gastroenterite aguda (JAY, 2000). No Brasil, supõe-se que a ocorrência de salmonelose seja relevante devido às deficiências de saneamento básico e às más condições higiênico-sanitárias da maioria da população, aliadas ao precário controle de qualidade de algumas indústrias alimentícias e de pequenos abatedouros de aves (FUZIHARA et al, 2000). Os sinais clínicos em humanos dependem de diversos fatores: sorotipo da *Salmonella*, quantidade bacteriana ingerida, idade, imunidade do hospedeiro, estresse e presença ou não de infecções secundárias (HIRSH, 2003).

O gênero *Salmonella* spp. bioquimicamente se caracteriza por produzir gás sulfídrico a partir da fermentação da glicose (exceto *S. Typhi*), não são fermentadores de

lactose, gerando reações alcalinas em ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI). São capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono no meio Citrato de Simmmons. A maioria das salmonelas é móvel por flagelos, à exceção de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, que são imóveis, apresentando provas de motilidade positivas em meio SIM (sulfureto, indol e motilidade) e geralmente não são produtoras de Indol. Geralmente não produzem urease, apresentando testes em Caldo Uréia negativo, além de apresentarem testes de ágar Lisina Ferro (LIA) positivos, por descarboxilação da lisina. A temperatura ótima de crescimento é em média de 38° C, sendo destruídas a temperaturas acima dos 60° C, e não apresentando crescimento sob temperaturas abaixo de 5° C. Cresce com pH entre 4,5 e 8,0, sendo o ótimo entre 6,0 e 7,5 (BRASIL 2002; HIRSH 2003; FORTUNA e FRANCO 2005).

Escherichia coli é frequentemente envolvida em distúrbios respiratórios, digestivos e septicemia em papagaios em cativeiro (GERLACH, 1994; MARIETTO-GONÇALVES et al., 2007). É possível classificar a *E. coli* em patótipos usando genes responsáveis pela expressão de fatores de virulência. Patótipos comumente descritos incluem EPEC (*E. coli* enteropatogênica), APEC (*E. coli* patogênica aviária), e UPEC (*E. coli* uropatogênica). EPEC é um fator que causa diarreia, sendo uma das principais causas de diarreia infantil nos países em desenvolvimento, enquanto a APEC é conhecida por perdas econômicas significativas à indústria avícola, resultando em doenças respiratórias e septicêmicas (NARATO e KAPER, 1998; BARNES, 2004). Já UPEC é causa de uma série de doenças urinárias em humanos (JOHNSON, 2000).

A pressão seletiva exercida pelo uso inadequado de antimicrobianos culminou no surgimento de cepas bacterianas multirresistentes, configurando um problema de saúde pública e fazendo com que estudos de susceptibilidade sejam de grande importância. Vários estudos com cepas de bactérias isoladas de aves silvestres têm demonstrado altos índices de

resistência a antimicrobianos, mesmo em amostras de animais que provavelmente nunca foram tratados com antibióticos (LIVERMORE et al. 2001, MIDDLETON E AMBROSE 2005, DEBOER et al. 2007, DOLEJSKA et al. 2007, GIBBS et al. 2007).

No Brasil, estudo realizado em Minas Gerais, reportou elevado índice de resistência bacteriana em amostras oriundas de aves selvagens de vida livre (NASCIMENTO et al. 2003). O contato com pessoas, animais domésticos e mesmo com antibióticos naturais produzidos por microrganismos ambientais pode ter conferido resistência a antibióticos em muitas bactérias isoladas de animais silvestres que nunca receberam antimicrobianos (GIBBS et al. 2007).

O objetivo deste trabalho foi de pesquisar a microbiota cloacal e avaliar a ocorrência de *Salmonella* spp. em aves silvestres na Reserva Biológica (Rebio) Guaribas e Estação Ecológica (Esec) Raso da Catarina. Adicionalmente procurou-se estabelecer o perfil de resistência A antibióticos de algumas colônias isoladas e os fatores de virulência de *E. coli* isoladas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

O trabalho foi realizado em duas unidades de conservação federais. A Reserva Biológica Guaribas está localizada a aproximadamente 70 km ao norte da capital nos municípios de Rio Tinto e Mamanguape (MMA/IBAMA, 2003) (Figura 1). Possui uma extensão territorial de 4.321 ha, dividindo-se em três áreas descontínuas: SEMA I, II e III ilhadas em plantios de cana-de-açúcar, povoados e comunidades indígenas (MMA/IBAMA, 2003).

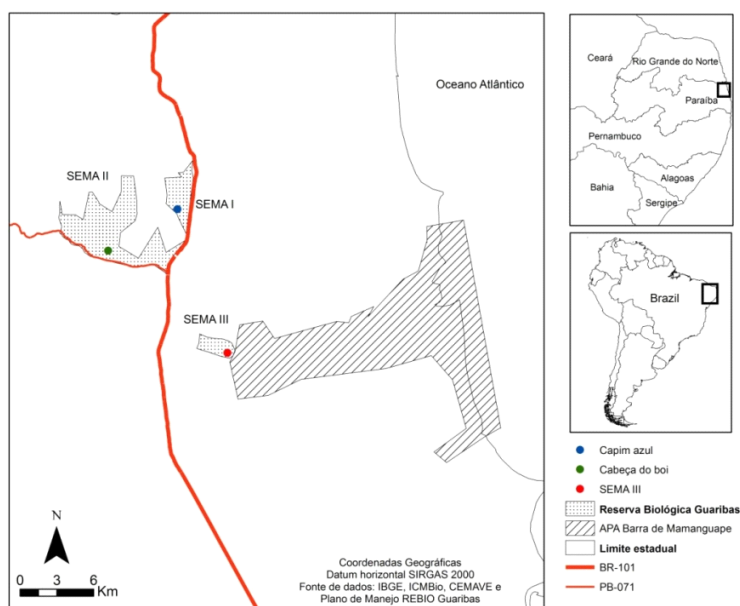


Figura 1 - Mapa da Reserva Biológica Guaribas, com destaque para as áreas amostradas nas SEMA I, II, III.

As SEMA I e II estão situadas no município de Mamanguape e são compostas de florestas alteradas e paisagens abertas, conhecidas como tabuleiros ou manchas de cerrado. Na SEMA I foi amostrado um ponto, na SEMA II foram amostrados dois pontos: Tabuleiro

e Cabeça do Boi. A SEMA III compreende uma pequena mancha de floresta semi-decídua, limítrofe à cidade de Rio Tinto, onde foi amostrado mais um ponto (MMA/IBAMA, 2003; ALMEIDA e TEIXEIRA, 2010).

A Esec Raso da Catarina está situada no nordeste do estado da Bahia, entre os paralelos 9° e 10° S e entre os meridianos 38°20' e 38°45', limitando-se ao sul pela bacia do rio Vaza-Barris, ao norte pela bacia do submédio São Francisco, a leste pela borda do “Graben” de Santa Brígida e a oeste pela Serra dos Cágados e pelo baixo planalto de Macureré (CSR/IBAMA, 2005). A área amostrada na ESEC Raso da Catarina foi o limite norte da unidade de conservação, em uma vegetação arbustiva e a Serra Branca (trilha Cedro Onça) na porção sudoeste da unidade, com uma vegetação arbustiva-arbórea (Figura 2).

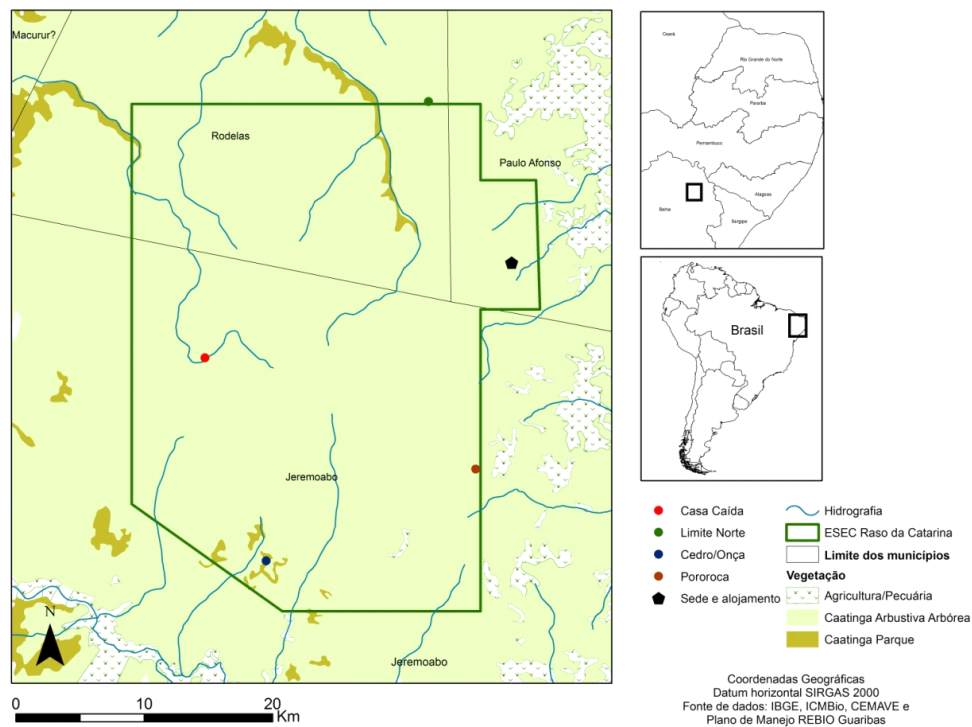


Figura 2 – Mapa da Estação Ecológica Raso da Catarina, com destaque para as áreas amostradas (Limite Norte e Cedro/Onça).

2.2. Captura das Aves

Para a captura das aves, três conjuntos de cinco redes de neblina de malha 36 mm e tamanho 12 x 2,5m foram montados a cada 200 m aproximadamente, sendo operados por dois dias no mesmo local.

Após a captura e identificação, os indivíduos foram devidamente anilhados com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE) (Projeto em vigor nº 3604) e procedeu-se a avaliação clínica levando em consideração aspecto geral, inspeção da região peitoral, olhos, ouvidos, narina, bico, cavidade oral, abdome, cloaca, asas/pernas e posterior colheita de material biológico. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de animais (CEUA-UFRPE - licença nº. 040/2013) e SISBIO (23405).

2.3. Colheita e Processamento de Material Biológico

Swabs cloacais foram colhidos e armazenados em meio Stuart refrigerados em caixas térmicas à 4° C para transporte, encaminhados em até 48 h, para o Laboratório de Doenças Infecto-contagiosas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foi realizado o processamento.

Para identificação da microbiota cloacal das aves foi realizado o cultivo nos meios Agar Sangue (5% de sangue ovino) e Agar Levine, incubados em estufa bacteriológica a 37° C por 24 e 48 h, para crescimento bacteriano. As amostras que apresentaram crescimento foram submetidas à coloração de Gram para visualização em microscópio óptico com auxílio de óleo de imersão. As amostras que apresentaram características de

cocobacilo Gram negativo foram submetidas a testes bioquímicos (TSI, citrato, lisina, SIM, VM/VP e uréia) para identificação do gênero bacteriano.

Para o isolamento de *Salmonella* spp., as amostras primeiramente foram submetidas ao pré-enriquecimento em 9 ml de água peptonada por 24 h, incubadas em estufa à 37° C e, após 24 h, 1 ml e 0,1 ml da solução foram transferidos para o enriquecimento seletivo em caldos Tetrathionato e Rappaport, respectivamente e incubadas por 24 h à 37°C em estufa bacteriológica. Posteriormente, as amostras foram semeadas em placas de petri com auxílio de uma alça de platina estéril em meios semi-sólidos (ágar XLD e Verde Brilhante), para a visualização do crescimento de colônias características sugestivas deste gênero, confirmando-se a identificação com testes bioquímicos (TSI, lisina e uréia).

Para detecção de *Staphylococcus aureus* foi utilizada a verificação microscópica da morfologia bacteriana, realizada a partir da coloração de Gram. As colônias que se apresentavam como cocos Gram positivos agrupados em forma de cacho foram submetidos às provas bioquímicas da catalase, ágar Sal Manitol, ágar Dnase (HCl a 1N) e VP (Voges-Proskauer) para contagem confirmativa de *S. aureus*.

Amostras isoladas de *E. coli* foram enviadas para a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, conservadas em caldo BHI glicerinado, sendo submetidas a testes de fatores de virulência, para avaliação dos patótipos (EPEC, APEC e UPEC). Os isolados foram submetidos à reação em cadeia pela polimerase (PCR) para a presença de genes relacionados a fatores de virulência de acordo com Saindeberg et al. (2012).

As bactérias identificadas foram submetidas ao teste de disco-difusão em ágar Muller-Hilton para avaliação da susceptibilidade as seguintes drogas antimicrobianas: penicilina G (10U), ampicilina (10µg), amoxicilina (10µg), tetraciclina (30µg), norfloxacin (10µg), gentamicina (10µg) e sulfazotrim (25µg).

2.4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada para a comparação da frequência relativa de isolamento (número de isolamentos/número de amostras colhidas) e frequência de isolamento de bactérias Gram negativas entre unidades de conservação utilizando-se o Teste T, com teste de Levene para atestar a homogeneidade de variâncias e teste de Shapiro-Wilk's W para verificar a normalidade dos grupos. Para comparação entre frequência de isolamento e de bactérias Gram negativas entre indivíduos agrupados por Ordens mais representativas (Columbiformes, Apodiformes e Passeriformes) foi realizado teste para variáveis não paramétricas Kruskal-Wallis. Os testes estatísticos foram conduzidos em nível de significância de 5% com, pelo programa Statistica 10.

3. RESULTADOS

De abril de 2012 a junho de 2013 foram realizadas 10 expedições para a Rebio Guaribas e três expedições para a Esec Raso da Catarina. Foram colhidas 259 amostras de 248 indivíduos, pertencentes a 70 espécies, além de dois gêneros não identificados em nível específico, 25 famílias e 7 ordens (Tabela 1), sendo 196 amostras da Rebio Guaribas e 63 da Esec Raso da Catarina. Em relação ao exame clínico todas as aves apresentaram-se sem alterações.

Tabela 1 – Resultado do isolamento microbiológico por espécie na Rebio Guaribas e Esec Raso da Catarina.

Ordem	Família	Espécie	N	Bactéria Isolada
Columbiformes	Columbidae	<i>Columbina passerina</i>	3	<i>Corynebacterium</i> sp. e <i>Enterobacter aerogenes</i>
		<i>Columbina minuta</i>	2	<i>Bacillus</i> sp., <i>E. aerogenes</i> e <i>Streptococcus</i> sp.
		<i>Columbina talpacoti</i>	2	<i>Bacillus</i> sp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Corynebacterium</i> sp.
		<i>Leptotila verreauxi</i>	1	<i>E. coli</i>
		<i>Leptotila rufaxilla</i>	1	<i>Bacillus</i> sp. e <i>E. coli</i>
		<i>Geotrygon montana</i>	1	
		<i>Hydropsalis torquata</i>	1	<i>E. coli</i>
Caprimulgiformes	Caprimulgidae			
Cuculiformes	Cuculidae	<i>Tapera naevia</i>	1	
		<i>Glaucis hirsutus</i>	2	
		<i>Anopetia gounellei</i>	3	
		<i>Phaethornis</i> sp.	1	
		<i>Eupetomena macroura</i>	5	<i>Streptococcus</i> sp.
		<i>Chlorostilbon notatus</i>	1	<i>Shiguella</i> sp.
		<i>Chlorostilbon lucidus</i>	2	
Apodiformes	Trochilidae	<i>Amazilia fimbriata</i>	4	<i>E. aerogenes</i> e <i>Staphylococcus</i> sp.
		<i>Heliomaster squamosus</i>	2	<i>Enterobacter agglomerans</i>
		<i>Trogon curucui</i>	3	<i>Staphylococcus</i> sp.
Galbuliformes	Galbulidae	<i>Galbula ruficauda</i>	2	<i>E. coli</i> , <i>Bacillus</i> sp. e

				<i>Proteus</i> sp.
	Bucconidae	<i>Nystalus maculatus</i>	2	<i>E. coli</i> , <i>Bacillus</i> sp. e <i>E. agglomerans</i>
		<i>Picumnus pygmaeus</i>	1	<i>E. aerogenes</i>
Piciformes	Picidae	<i>Veniliornis passerinus</i>	1	<i>E. coli</i>
		<i>Myrmorchilus strigilatus</i>	2	<i>E. agglomerans</i>
		<i>Formicivora grisea</i>	6	<i>Bacillus</i> sp. e <i>E. aerogenes</i>
		<i>Formicivora melanogaster</i>	2	
	Thamnophilidae	<i>Dysithamnus mentalis</i>	8	<i>E. aerogenes</i>
		<i>Herpsilochmus atricapillus</i>	1	
		<i>Thamnophilus capistratus</i>	1	<i>E. agglomerans</i>
Passeriformes		<i>Thamnophilus torquatus</i>	1	
		<i>Thamnophilus pelzeni</i>	5	<i>Staphylococcus</i> sp. e <i>E. coli</i>
		<i>Taraba major</i>	1	<i>Staphylococcus</i> sp.
				<i>E. aerogenes</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. <i>Streptococcus</i> sp.
	Conopophagidae	<i>Conopophaga melanops</i>	6	
		<i>Xiphorhynchus atlanticus</i>	3	
		<i>Campylorhamphus trochilirostris</i>	1	<i>E.coli</i> e <i>Salmonella</i> sp.
		<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	1	
	Dendrocolaptidae	<i>Xenops minutus</i>	3	
	Furnariidae	<i>Gyalophylax hellmayri</i>	2	<i>Corynebacterium</i> sp.
		<i>Synallaxis scutata</i>	1	<i>E. coli</i>
				<i>Staphylococcus</i> sp., <i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>Salmonella</i> sp. e <i>Bacillus</i> sp.
		<i>Neopelma pallescens</i>	20	
	Pipridae	<i>Manacus manacus</i>	3	<i>E.coli</i>
		<i>Chiroxiphia pareola</i>	3	<i>E. aerogenes</i>
		<i>Myiobius barbatus</i>	2	
	Tityriidae	<i>Pachyramphus polychopterus</i>	1	<i>Streptococcus</i> sp. e <i>E.coli</i>
	INSERTAE SEDIS	<i>Platyrinchus mystaceus</i>	1	

	<i>Tolmomyias flaviventris</i>	9	<i>Staphylococcus</i> sp. e <i>Corynebacterium</i> sp.
Rynchocyclidae	<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	1	
	<i>Hemitriccus griseipectus</i>	6	<i>Edwardsiella tarda</i> e <i>E. agglomerans</i>
	<i>Hemitriccus margaritaceiventer</i>	6	<i>E. agglomerans</i> e <i>Corynebacterium</i> sp.
	<i>Camptostoma obsoletum</i>	3	
			<i>Staphylococcus</i> sp., <i>Shiguella</i> sp., <i>E. aerogenes</i> e <i>Streptococcus</i> sp.
Tyrannidae	<i>Elaenia</i> sp.	12	
	<i>Myiopagis viridicata</i>	1	
	<i>Casiornis fuscus</i>	1	<i>Bacillus</i> sp.
	<i>Sublegatus modestus</i>	1	
	<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	2	<i>E. agglomerans</i>
Vireonidae	<i>Cyclarhis gujanensis</i>	1	<i>E. coli</i>
	<i>Vireo olivaceus</i>	1	<i>Bacillus</i> sp.
	<i>Troglodytes musculus</i>	1	<i>Bacillus</i> sp. e <i>E. aerogenes</i>
Troglodytidae	<i>Cantorchilus longirostris</i>	2	
			<i>Staphylococcus</i> sp., <i>E. coli</i> e <i>Corynebacterium</i> sp.
Polioptilidae	<i>Polioptila plumbea</i>	5	
Turdidae	<i>Turdus leucomelas</i>	7	<i>Staphylococcus</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp.
Coerebidae	<i>Coereba flaveola</i>	5	<i>E. aerogenes</i>
	<i>Thlypopsis sordida</i>	1	<i>Bacillus</i> sp.
			<i>Bacillus</i> sp., <i>E. agglomerans</i> , <i>E. aerogenes</i> e <i>Staphylococcus</i> sp.
	<i>Tachyphonus rufus</i>	10	<i>E. coli</i> e <i>Enterobacter sakazaki</i>
Thraupidae	<i>Lanio cristatus</i>	3	
	<i>Tangara sayaca</i>	1	<i>E. agglomerans</i>
			<i>E. agglomerans</i> , <i>Staphylococcus</i> sp. e <i>E. coli</i>
	<i>Tangara cayana</i>	8	
	<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	1	<i>E. agglomerans</i>
			<i>Staphylococcus</i> sp. e <i>E. aerogenes</i>
	<i>Dacnis cayana</i>	6	
	<i>Zonotrichia capensis</i>	2	
Emberizidae	<i>Arremon taciturnus</i>	21	<i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. agglomerans</i> ,

			<i>Staphylococcus</i> sp. e <i>Bacillus</i> sp.
			<i>E. agglomerans</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>Bacillus</i> sp. e <i>Staphylococcus</i> sp.
Cardinalidae	<i>Cyanoloxia brissonii</i>	7	<i>Arizona</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp., <i>E. aerogenes</i> e <i>Shigella</i> sp.
Parulidae	<i>Basileuterus flaveolus</i>	5	

Do total de amostras houve crescimento bacteriano em 42,1% das amostras (Tabela 1). Os microorganismos isolados foram: *Escherichia coli* (20,9%), *Staphylococcus* sp. (15,8%), *Enterobacter aerogenes* (15,1%), *E. agglomerans* (14,4%), *Bacillus* sp. (13,7%), *Corynebacterium* sp. (8,6%), *Streptococcus* sp. (3,6%) e *Shigella* sp. (2,2%), além de *Arizona* sp., *Edwardsiella tarda*, *E. sakazaki*., *Proteus* sp. e *Staphylococcus aureus*. Das bactérias isoladas, 58,8% foram Gram negativas, havendo isolamento de *Salmonella* sp. em 0,77% das amostras.

Para as comparações de frequência de isolamento as amostras do mesmo indivíduo foram descartadas para garantir a independência entre as amostras, considerando-se a primeira colheita de cada indivíduo ou a amostra positiva para o crescimento bacteriano. A Esec Raso da Catarina apresentou maior frequência de isolamento de bactérias cloacais (65,15%) do que a Rebio Guaribas (38,98%) (T=2,07, GL=12, p=0,048) (Figura 3). Não houve diferença entre a frequência de isolamento de bactérias Gram negativas entre as unidades de conservação amostradas (T=1,616, GL=12, p=0,132). Não houve diferença de isolamento entre as Ordens Apodiformes, Columbiformes e Passeriformes ($H_{2,64}=2,173076$, p=0,3374), e isolamento de bactérias Gram negativas ($H_{2,64}=2,721492$ p=0,25653).

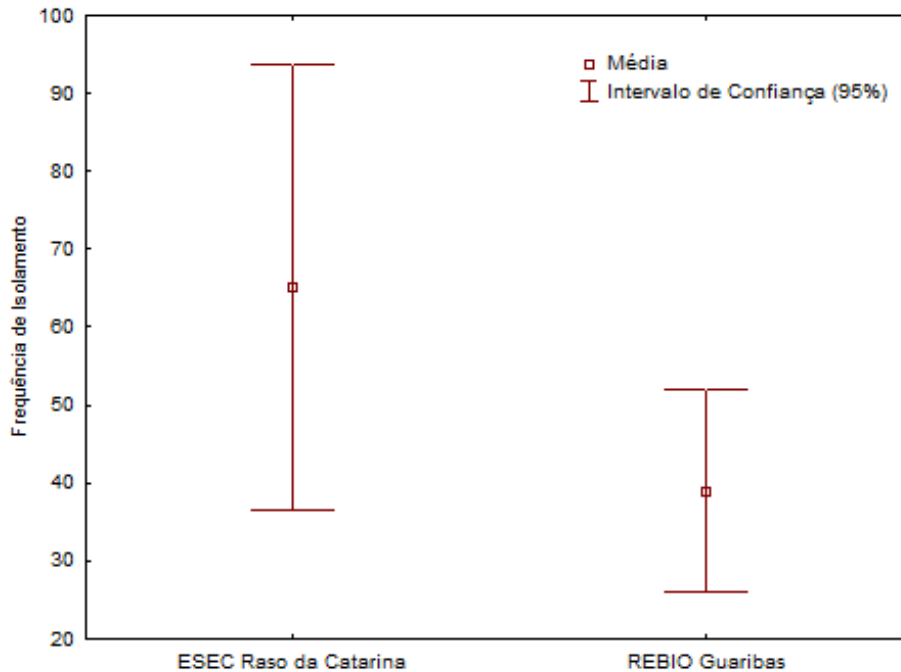


Figura 3 – Gráfico da frequência média de isolamento de bactérias provenientes de swabs cloacais de aves silvestres na Esec Raso da Catarina e Rebio Guaribas (T=2,07, GL=12, p=0,048).

Na Rebio foram isoladas com maior frequência: *E. coli* (21,9%), *E. aerogenes* (20,9%), *Staphylococcus* sp. (16,5%), *Bacillus* sp. (15,4%), *Corynebacterium* sp. (7,7%), *Streptococcus* sp. (5,5%), *E. agglomerans* (4,4%), *Shiguella* sp. (3,3%), *E. sakasaki*, *Proteus* sp., *Edwardsiella tarda* e *S. aureus* (1,1%).

Na Esec Raso da Catarina os microorganismos isolados com maior frequência foram: *E. agglomerans* (35,7%), *E. coli* (19%), *Staphylococcus* spp. (16,7%), *Corynebacterium* sp. (11,9%), *Bacillus* sp. (7,1%), *E. aerogenes* (4,8%), *Arizona* sp. e *Salmonella* sp. (2,4%).

Foi realizado antibiograma de 37 bactérias isoladas: *Bacillus* spp. (n=2), *Corynebacterium* spp. (n=7), *E. aerogenes* (n=12), *E. coli* (n=3), *Shiguella* spp. (n=3), *Staphylococcus aureus* (n=1), *Staphylococcus* spp. (n=7) e *Streptococcus* spp. (n=2).

Destas 62,2% apresentaram multi-resistência (mais de três antibióticos) e 32,4% foram sensíveis a todos os antibióticos testados. O percentual de resistência de bactérias Gram positivas e negativas por droga antimicrobiana está descrito nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 – Frequência relativa de resistência de bactérias Gram positivas isoladas de amostras cloacais de aves silvestres, na Rebio Guaribas e Esec Raso da Catarina.

	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>S. aureus</i>	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	Gram positivas
Penicilina	28,6	100	50	42,8	50	54,3
Ampicilina	14,3	100	50	42,8	50	51,4
Amoxicilina	14,3	100	50	28,6	50	48,6
Tetraciclina	28,6	100	0	28,6	50	41,4
Gentamicina	14,3	0	0	14,3	0	5,7
Norfloxacina	14,3	0	50	28,6	0	18,6
Sulfazotrim	14,3	100	50	42,8	0	41,4

Tabela 3 – Frequência relativa de resistência de bactérias Gram negativas isoladas de amostras cloacais de aves silvestres, na Rebio Guaribas e Esec Raso da Catarina.

	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>Shiguella</i> spp.	Gram negativas
Penicilina	100	83,3	100	94,4
Ampicilina	75	75	100	83,3
Amoxicilina	100	0	100	66,6
Tetraciclina	25	16,6	25	22,2
Gentamicina	0	58,3	25	27,8
Norfloxacina	25	91,6	25	47,2
Sulfazotrim	0	8,3	25	11,1

Duas amostras de *E. coli* foram verificadas quanto aos genes correspondentes aos fatores de virulência e ambas foram negativas para os genes de EPEC, APEC e UPEC.

Do total de sete amostras submetidas a teste bioquímicos para diferenciação de *Staphylococcus aureus*, apenas uma foi positiva nos testes ágar DNase, ágar sal manitol e VP (Voges-Proskauer) (Figura 3).

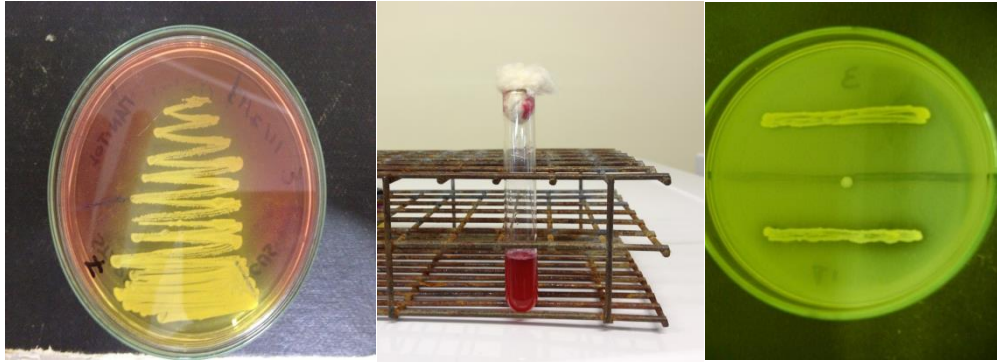


Figura 3 – Testes de diferenciação de *Staphylococcus aureus*. A - ágar Manitol positivo, com mudança da cor do meio para amarelo devido à degradação do manitol; B – Voges Proskauer (VP) positivo com coloração vermelha indicando a produção de acetilmetilcarbinol; C - ágar Dnase positivo, demonstrando claro em volta da colônia devido à hidrolisação do DNA.

4. DISCUSSÃO

A importância deste estudo se justifica pelo isolamento de bactérias componentes da microbiota de aves silvestres em vida em duas unidades de conservação do Nordeste brasileiro. Grande parte dos estudos envolvendo a microbiota cloacal é direcionado a algumas espécies ou famílias (ALMEIDA et al., 2005), especialmente psitacídeos (BOWMAN e JACOBSON, 1980; MATTES et al., 2005; ALLGAYER et al., 2009; SAINDEBERG et al., 2012), sendo poucos os que envolvem a comunidade de aves em vida livre (BRITTINGHAM et al., 1988). Segundo Spalding e Forrester (1993) a informações de base sobre patógenos, hospedeiros e fatores antropogênicos conseguidas por meio do monitoramento da saúde das populações, constituem um importante componente nas decisões a serem tomadas caso ocorram surtos ou declínios populacionais em determinadas populações.

Neste estudo pode-se perceber a diferença na frequência de isolamento de microrganismos nas diferentes unidades de conservação amostradas. Reconhece-se que o esforço de coleta de dados foi superior na Rebio Guaribas, devido a limitação de transporte e encaminhamento das amostras da Esec Raso da Catarina. Entretanto, essa diferença de isolamento pode esta relacionada ao tipo de vegetação e clima, sendo a Esec Raso da Catarina uma região de vegetação quase que exclusivamente de caatinga arbustiva e poucas manchas de caatinga arbustiva-arbórea; e a Rebio Guaribas composta por grande variedade de habitats com características de Floresta Semi-decídua (SEMA III e Cabeça do Boi), áreas de tabuleiro. A vegetação pode influenciar a riqueza, composição e abundância das aves (OLMOS et al., 2005; BLAKE, 2007). Diferenças entre espécies na resposta a determinadas doenças ou patógenos são conhecidas e bem documentadas (SPALDING e

FORRESTER, 1993), o que pode ter influenciado a disparidade de isolamento entre unidades de conservação. Contudo, não foram encontradas diferenças na quantidade de isolamentos entre as Ordens Passeriformes, Columbiformes e Apodiformes. Esta diferença, no entanto, pode ocorrer nas bactérias da microbiota de diferentes espécies, como observado por Brittingham et al. (1988), que demonstraram diferença de isolamento de *Streptococcus* spp. em diferentes espécies, além de diferença de isolados entre aves granívoras e onívoras.

Neste estudo foi observada presença intensa de bactérias Gram negativas no sistema entérico dos indivíduos amostrados, maior que a frequência de Gram positivas. Estudos pioneiros demonstraram que a microbiota cloacal das aves era composta especialmente por microorganismos Gram positivos (BOWMAN e JACOBSON, 1980; BRITTINGHAM et al., 1988). Entretanto, estudos atuais demonstram isolamento frequente de bactérias Gram negativas em populações silvestres saudáveis (ALLGAYER et al., 2009; SAINDEBERG et al., 2012). Portanto, sugere-se que a presença de bactérias Gram negativas na microbiota entérica de aves silvestres de vida livre não é um achado incomum, sendo necessária a avaliação do grau de patogenicidade, devido ao risco de disseminação de possíveis patógenos no meio ambiente, contribuindo assim na cadeia epidemiológica de várias doenças entéricas (SAINDEBERG et al., 2012).

Neste estudo a bactéria *Salmonella* spp. foi isolada em apenas duas amostras submetidas ao enriquecimento seletivo, concordando com os estudos de Gopee et al. (2000) que relataram a baixa frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em aves silvestres de cativeiro quando comparada a mamíferos e répteis. A prevalência de salmonelas em aves silvestres sadias é normalmente baixa (KAPPERUD e ROSEF 1983; BRITTINGHAM et al. 1988; GANAPATHY et al. 2007). Gaukler et al. (2009) analisaram 434 amostras de

fezes de *Sturnus vulgaris* e encontrou *Salmonella* spp. em apenas três (0,69%) amostras. Marietto-Gonçalves (2010) isolou apenas uma amostra de *Salmonella* spp. em papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), representando 1,12% do material analisado, resultados muito semelhantes ao encontrado neste estudo. Marietto-Gonçalves et al. (2010) avaliaram 103 aves, em sua maioria psitacídeos, e detectaram a presença de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* sorotipo *Enteritidis* em três (2,9%) psitacídeos. O método de colheita pode interferir nos resultados, uma vez que *swabs* cloacais de aves podem não ser efetivos para detectar as bactérias quando estas estão em número reduzido (BICHLER et al.1996), o que pode explicar os resultados negativos obtidos tanto neste estudo quanto no estudo prévio realizado na Rebio Guaribas (CARDOSO, 2011). Devemos considerar também, que no presente estudo foram amostrados apenas animais sadios e a prevalência de *Salmonella* sp. é bem menor em indivíduos sadios comparada a animais enfermos (TIZARD, 2004). Apesar disso, não se deve menosprezar este patógenos, pois uma vez presente poderá determinar sinais clínicos severos e mortalidade elevada. Segundo Allgayer et al. (2009) informações sobre a concorrência e distribuição de *Salmonella* spp. e animais selvagens e domésticos são fundamentais para detectar os possíveis reservatórios que possam ser responsáveis pela manutenção e disseminação deste agente.

Não houve crescimento bacteriano em 59,4% das amostras do presente trabalho. A ausência de crescimento bacteriano em boa parte das amostras realizadas também foi reportada por Brittingham et al. (1988) e Nascimento et al. (2003), que relatam que resultados negativos podem ocorrer devido à redução da população bacteriana durante o transporte/estocagem das amostras, mesmo em meios e em temperatura adequadas. Nestes casos bactérias fastidiosas podem não crescer, sendo esse um possível fator para os

resultados negativos de *Salmonella* spp., enquanto coliformes podem proliferar (BRITTINGHAM et al., 1988).

O fato é que mesmo com uma grande quantidade de resultados negativos; o potencial disseminador das aves, relatados em estudos, como em Hubalék (2004), que aborda a disseminação de patógenos por aves migratórias, não deve ser menosprezado, sendo necessário o constante monitoramento dessas aves.

Escherichia coli foi isolada em 17,8% ou 20,9% das amostras. Estudos realizados na década de 80 demonstravam baixa prevalência desta bactéria em passeriformes de vida livre (GLUNDER, 1981; BRITTINGHAM et al., 1988). Posteriormente, a bactéria foi demonstrada frequentemente na microbiota do trato digestório de aves domésticas e silvestres saudáveis (BARNES e VALLIANCOURT 2003; ALMEIDA et al. 2005; SAINDEBERG et al., 2012). Marietto-Gonçalves et al. (2010) analisando da presença de *E. coli* em fezes dos Psittaciformes em fase de reabilitação em Botucatu-SP, oriundos de apreensão, encontraram 19% das amostras positivas para *E. coli*. Saindeberg et al. (2012) isolaram *E. coli* de todas as 44 amostras colhidas de araras de vida livre. Estudos realizados por D'Aloia et al. (1996) e Steele et al. (2005) demonstraram frequências elevadas de *E. coli*, respectivamente, 71% e 90%, em amostras fecais de gaivotas e de espécies de aves marinhas. Entretanto, em amostras cloacais obtidas de Passeriformes, foram observados índices baixos de isolamento de *E. coli* de 1,0 a 9,5% (BRITTINGHAM et al. 1988; GIBBS et al. 2007), resultados similares ao deste estudo em que *E. coli* foi isolada em 8,78% dos Passeriformes amostrados. Sugere-se, portanto, que *E. coli* em aves silvestres é relativamente comum, contudo é imperativa a verificação da patogenicidade a qual é dependente da presença de fatores de virulência, como fímbria, cápsula, endotoxina e hemolisinas. Neste estudo duas amostras foram submetidas à PCR para identificação de

fatores de virulência e ambas foram negativas. SAINDEBERG et al. (2012) encontraram isolados atípicos de *E. coli* em aves assintomáticas, sugerindo que mesmo patótipos patogênicos podem ser encontrados em aves de vida livre sem causar doença. Diferentes patótipos foram encontrados em diferentes espécies de psitacídeos, sendo relacionado por estes autores aos hábitos destes animais e interferências antropogênicas. MATTES et al. (2005) isolaram *E. coli* em 20% das aves de um criadouro conservacionista e 80% de um criadouro recreacionista e atribuíram esta diferença ao protocolo de biossegurança e contato das aves com humanos. Na Esec Raso da Catarina observou-se frequência de isolamento de *E. coli* de 12,9% e na Rebio Guaribas de 10,8%. Possivelmente as frequências de *E. coli* encontradas neste estudo demonstrem baixo contato das aves amostradas com humanos e baixa contaminação ambiental das áreas com coliformes fecais.

No presente estudo os dois isolados de *E. coli* se demonstraram sensíveis somente à sulfa+trimetoprim e gentamicina. Marietto-Gonçalves et al. (2010) observou alta resistência de *E. coli* a sulfonamida (83%) e a cefaclor (71%) e alto índice de sensibilidade para estreptomicina, tetraciclina e trimetropima (94% de inibição), gentamicina e ciprofloxacina.

Staphylococcus spp. foi isolado em 11,1% das amostras positivas, sendo este gênero comumente isolado da microbiota fecal de aves segundo Andreasen (2003), com diferentes percentuais de isolamento (BRITTINGHAM et al. 1988; AARESTRUP et al. 2000).

A identificação de *S. aureus* é importante, visto que este é o agente etiológico de infecções articulares em aves (KONEMAN, 2001), e é causa de grande variedade de infecções clínicas, resultando na invasão direta de bactérias em diferentes órgãos e na subsequente lesão aos tecidos. As manifestações clínicas da infecção são decorrentes da liberação de diversas toxinas, em nível local ou sistêmico, envolvendo várias doenças, dependendo da localização da infecção. Tipicamente, consegue-se uma rápida avaliação

inicial de amostras clínicas com o uso da microscopia convencional, entretanto é importante distinguir isolados de *S. aureus* de outras espécies estafilocócicas, como estafilococos coagulase-negativos (CoNS) (BROWN, 2005). Das amostras de *Staphylococcus* spp., 14,3% corresponderam à *S. aureus*. Curiosamente o isolado de *Staphylococcus aureus* se mostrou resistente aos antibióticos utilizados normalmente para infecções causadas por bactérias Gram positivas, como penicilina, amoxicilina e ampicilina, já o isolado de *Staphylococcus* sp. testado para os mesmos antibióticos mostrou-se sensível.

O gênero *Streptococcus*, apresentou o pequeno percentual de isolamento bacteriano (4,4%), sendo esse valor considerado baixo se comparado com outros trabalhos como o de Brittingham et al. (1988), que identificaram *Streptococcus* spp. em 18% das amostras fecais de aves silvestres. Estes mesmos autores citaram diferenças significativas entre espécies de passeriformes, inclusive em relação ao tipo de alimentação, com maior porcentagem de isolamento nas aves onívoras quando comparadas a aves que ingerem restos de carcaças. Apesar de a importância dos estreptococos já estar bem estabelecida em diversas espécies de animais domésticos, poucos são os dados na literatura que descrevem e apontam a importância desse gênero em espécies de aves silvestres (SANTOS et al., 2010).

O presente estudo apresentou grande frequência de duas bactérias do gênero *Enterobacter*: representado por *E. aerogenes* (15,6%), *E. agglomerans* (22,2%), além de *E. sakazaki* (0,75%). *Enterobacter* spp. é usualmente isolada do trato digestivo de aves consideradas saudáveis. Bactérias deste gênero são frequentemente encontradas no ambiente e em alimentos frescos. É considerada incomum a manifestação de doença relacionada a este microrganismo em aves, mas este pode representar um patógeno oportunista em pacientes imunossuprimidos (FUDGE, 2001). As aves deste estudo parecem

ser, na sua maioria, imunologicamente competentes, visto não apresentarem sinais clínicos, entretanto, por esta bactéria se alojar na superfície cloacal das aves, pode infectar ovos e aves jovens, provocando morte embrionária e onfalite (BARNES, 2003).

Além dos já citados, outros gêneros de bactérias foram isoladas como *Bacillus* spp., *Proteus* spp. e *Corynebacterium* spp. As bactérias do gênero *Bacillus* e *Corynebacterium* são agentes que apresentam naturalmente comportamento saprofítico no ambiente, sendo normal incidência desses microorganismos (LIMA et al. 2012). O isolamento de *Proteus* sp. foi relativamente baixo, tendo em vista que essa espécie tem sido identificada em outros estudos como integrante comum da microbiota do intestino grosso e pode se constituir como agente oportunista de infecções (D'ALOIA et al. 1996; GIBBS et al. 2007), podendo infectar os ovos, através da penetração do microrganismo pela casca e a penetração é facilitada pela contaminação fecal. Inoculações experimentais demonstraram perdas de até 100% dos embriões de ovos contaminados por *Proteus* spp. Também pode causar infecções do saco vitelino contaminação de sêmen e mortalidade em frangos, patos e perus jovens.

O contato com pessoas, animais domésticos e mesmo com antibióticos naturais produzidos por microrganismos ambientais pode ter conferido resistência a antibióticos em muitas bactérias isoladas de animais silvestres que nunca receberam antimicrobianos (GIBBS et al. 2007). Marietto-Gonçalves et al. (2010) constaram somente 5,9% das amostras isoladas sensíveis a todos os antibióticos testes e 41,2% com multirresistência (mais de três antibióticos). Não foi realizado antibiograma para nenhuma amostra de *Salmonella* spp. isolada, entretanto, Duarte et al. (2009) destaca a resistência ao menos a um antibiótico em 94,7% dos isolados de *Salmonella* em carcaças de frango de corte no Nordeste do Brasil.

Por meio do presente trabalho, demonstrou-se grande variedade de microrganismos isolados na cloaca de aves silvestres, muitos desses microrganismos são encontrados naturalmente no sistema gastrintestinal de indivíduos sadios. Contudo diversos fatores podem ocasionar um aumento na virulência desses agentes, podendo causar danos severos a sanidade das aves (SPANDING e FORRESTER, 1993). Apesar da baixa frequência de salmonela neste estudo, a salmonelose é uma enfermidade com grande risco de transmissão entre as aves silvestres, outros animais e os seres humanos, sendo necessário o monitoramento desse patógeno de alto potencial zoonótico e com grande patogenicidade em aves, para reconhecimento dos seus reservatórios, pois aves clinicamente sadias e sobreviventes de surtos podem se tornar portadoras assintomáticas.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e ao ICMBio pela oportunidade de execução do projeto e contribuição financeira através da bolsa de PIBIC. À minha orientadora Camile Lugarini, Prof. Jean Carlos Ramos da Silva, Prof. Rinaldo Aparecido Mota e Prof. Leonildo Bento Galiza da Silva pela orientação. A Thayz Rodrigues Enedino, Leontina Hellen Macedo de Andrade, Nathalia Costa Teixeira de Vasconcelos, Cristine Prates, Débora Costa de Souza Viegas, Luana Thamires Rapôso da Silva, André de Souza Santos, André da Rocha Mota, Renata Pimentel Bandeira de Melo e André Saindeberg pelo auxílio na colheita dos materiais, processamento e identificação dos microorganismos, tornando essa pesquisa possível de ser realizada.

6. REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F.M., AGERSL Y., AHRENS P., JÜRGENSEN J.C., MADSEN M. & JENSEN L.B. Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in *Staphylococcus* from poultry. *Veterinary Microbiology*, v.74, p. 353-364, 2000.

ALMEIDA R.M.A., BIANCHI M.D., GONÇALVES NETO M.C., SOUZA R.R. & CAMPOS W.R. Microbiota da orofaringe e fezes de avestruzes (*Struthio camellus*) clinicamente sadios: estudos preliminares. *Boim Medicina Veterinaria*, v. 1, p. 49-56, 2005.

ANDREASEN C.B. Staphylococcosis. In: Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougald L.R. & Saif Y.M. (Eds), *Diseases of Poultry*. Blackwell Publishing Company, Iowa State Press, Ames, p.798-804, 2003.

ANDRIOLO, A. Desafios para a conservação da fauna, In: CUBAS, Z.S., SILVA, J.C.R.;CATÃO-DIAS, J.L. (Eds). *Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária*. Roca:, São Paulo, p. 19-25, 2006.

BARNES H.J. & VALLIANCOURT J.P. *Colibacillosis*. In: Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougald L.R. & Saif Y.M. (Eds), *Diseases of Poultry*. Blackwell Publishing Company, Iowa State Press, Ames, p.775-791, 2003.

BICHLER L.A., NAGARAJA K.V. & HALYORSON D.A. Salmonella enteritidis in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentallyinfected White Leghorn chickens. *American Journal of Veterinary Research*, v. 4, p. 489-495, 1996.

BRASIL. Programa nacional de sanidade avícola. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, p. 312, 2002.

BRITTINGHAM, M.C., TEMPLE S.A. & DUNCAN R.M. A survey of the prevalence of selected bacteria in wild birds. *Journal of Wildlife Diseases*. Dis, v. 24, p. 299-307, 1988.

BROWN D.F, EDWARDS D.I, HAWKEY P.M et al. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 56, n. 6, p. 1000-18, 2005.

BUCHALA F.G., ISHIZUKA M.M., MATHIAS L.A., BERCHIERI JR A., CASTRO A.G.M., CARDOSO A.L.S.P., TESSARI E.N.C. & KANASHIRO A.M.I. Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella Pullorum* em aves de “fundo de quintal” no estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos Instituto Biológico*, São Paulo, v. 73, p. 1-5, 2006.

CARDOSO, R. P. Ocorrência de enterobactérias e *Salmonella* spp. em aves endêmicas e ameaçadas de extinção na Reserva Biológica Guaribas, Estado da Paraíba. *Relatório final PIBIC/ICMBio/CNPq*. ICMBio: Cabedelo, 2011.

CARVALHO, V.M. Colibacilose e salmonelose. In: Cubas Z.S., Silva J.C.R. & Catão-Dias J.L. (Eds), *Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária*. Roca, São Paulo, p.742-750, 2006.

CARTER, G. R. *Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária*. 3 Ed. Roca: São Paulo, p. 144, 2005.

D'ALOIA, M.A., BAILEY, T.A., SAMOUR, J.H., NALDO, J. & HOWLETT, C. Bacterial flora of captive houbara (*Chlamydotis undulata*), kori (*Ardeotis kori*) and rufous-crested (*Eupodotis ruficrista*) bustards. *Avian Pathology*, v. 25, p. 459-468, 1996.

DEBOER L.R., SLAUGHTER D.M., APPLGATE R.D., SOBIESKI R.J. & CRUPPER S.S. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the faeces of wild turkey (*Meleagris gallopavo*). *Jornal Applied Microbiology*, v. 33, p. 382-386, 2005.

DOBBIN, G., Haribaron, H., DAOUST, P., HARIBARON, S., HEANEY, S., COLES, M., PRICE, L. & MUCKLE, C.A. Bacterial flora of free-living Double-crested cormorant (*Phalacrocorax auritus*) chicks on Prince Edward Island, Canada, with reference to enteric bacteria and antibiotic resistance. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, v. 28, p. 71- 82, 2005.

DOLEJSKA M., CIZEK A. & LITERAK I. High prevalence of antimicrobial resistant genes and integrons in *Escherichia coli* isolates from black headed gulls in the Czech Republic. *Jornal Applied Microbiology*, v. 103, p. 11-19, 2007.

DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SANTOS, S. B.; SILVA, J. V. D.; ANDRADE, P. L. A. A.; FALCÃO, L. S. P. C. A. Ocurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcass and their susceptibility to antimicrobial agents. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 40, p. 569-573, 2009.

FLAMMER, K. & DREWES, L.A. Species-related differences in the incidence of Gram-negative bacteria isolated from the cloaca of clinically normal psittacine birds. *Avian Diseases*, v.32, p.79-83, 1988.

FORTUNA J.L. & FRANCO R.B. Pequeno dossiê epidemiológico da *Salmonella*, como causadora de infecções alimentares. *Higiene Alimentar*, v. 128, p. 33-43, 2005.

FUZHARA, T. O.; FERNANDES, S. A.; FRANCO, B. D. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, 2000.

GANAPATHY K., SALEHA A.A., JAGANATHAN M., TAN C.G., CHONG C.T., TANG S.C., Ideris A., Dare C.M. & Bradbury J.M. Survey of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Mycoplasmas* in house crows (*Corvus splendens*) in Malaysia. *Veterinary Rehabilitation and Exercise Clinic*, v. 160, p. 622-624, 2007.

GIBBS P.S., KASA R., NEWBREY J.L., PETERMANN S.R., WOOLEY R.E., VINSON H.M. & REED W. Identification, antimicrobial resistance profiles, and virulence of members from the family Enterobacteriaceae from the feces of Yellow-Headed Blackbirds (*Xanthocephalus xanthocephalus*) in North Dakota. *Avian Diseases*, v. 51, p. 649-655, 2007.

GLUNDER, G. Occurrence of Enterobacteriaceae in feces of granivorous passeriform birds. *Avian Diseases*, v. 25, p. 195-198, 1981.

GODOY-VITORINO F., LEY R.E., GAO Z., PEI Z., ORTIZ-ZUAZAGA H., PERICHI L.R., GARCIA-AMADO M.A., MICHELANGELI F., BLASER M.J., GORDON J.F. & DOMÍNGUEZ-BELLO M.G. Bacterial community in the crop of the hoatzin, a Neotropical folivorous flying bird. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 74, p. 5905-5912, 2008.

GOPEE, N. V.; ADESIYUN, A. A.; CAESAR, K. Retrospective and longitudinal study of salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 36, n. 2, p. 284-293, 2000.

HALL, A. J.; SAITO, E. K. Avian Mortality Events due to Salmonellosis In The United States. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 44, n. 3 p. 585-593, 2008, 1985-2004.

HERNANDEZ-DIVERS S.M., VILLEGAS P., PRIETO F., UNDA J.C., STEDMAN N., RITCHIE B., CARROLL R. & HERNANDEZ-DIVERS S.J. A survey of selected avian pathogens of backyard poultry in Northwestern Ecuador. *Journal of Avian Medical Surgery*, v. 20, p. 147-158, 2006.

HIRSH, D.C. In: HIRSH, D.C. & Zee Y.C. (Eds), *Salmonella, Microbiologia Veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 69-73, 2003.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. Oxford : Blackwell Science, *Veterinary microbiology*, 479p. 1999.

ACHA P.N. & SZYFRES B. Salmonellosis. In: Ibid. (Eds), *Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. Organización Panamericana de La Salud, Washington*, p. 158-167, 1986.

HOEFER, H.L. Diseases of the gastrointestinal tract. In: ALTMAN, R.B.; CLUBB, S.L.; DORESTEIN, G.M.; QUESENBERRY, K. (Eds.). *Avian medicine and surgery*. Philadelphia: Saunders. p. 419-453, 1997

HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.

ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; LIMA, E.A.; OKABAYASHI. Enfermidades do Sistema Digestório e Anexos. In: BERCHIERI JÚNIOR, A; MACARI, M. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, p. 47-60, 2000.

JAY, J. M. Modern Food Microbiology. *Aspen Publishers Inc. Maryland*. 6. Ed: Maryland, p. 511-525, 2000.

KAPPERUD G. & ROSEF O. Avian wildlife reservoir of *Campylobacter fetus* subsp *jejuni*, *Yersinia* spp and *Salmonella* spp in Norway. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 45, p. 75-380, 1983.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M. et al. *Diagnóstico Microbiológico – Texto y Atlas Color*. 5.ed. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana, 1999.

KONEMAN E.W. *Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido*. 5ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 1465, 2001.

LABACVET. Enterobacteriáceas (*Salmonella* spp.). *Microbiologia Clínica*. 2007.

LANCINI, J.B. Fatores exógenos na função gastrointestinal. In: *Fisiologia da Digestão e Absorção das Aves*. Fundação Apinco, p. 99-126, 1994.

LEÓN-QUINTO T., De La Vega A., Lozano A. & Pastor S. Summer mortality of waterbirds in a Mediterranean wetland. *Waterbirds*, v. 27, p. 4653, 2004.

LIMA, D.C.V.; SIQUEIRA, D.B.; MOTA, R.A.; RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L.C.; SOUZA, D.S.; SANTOS, A.S.; SILVA, L.B.G. Microbiologia de swabs retais e otológicos em carnívoros silvestres do zoológico do Parque Estadual de Dois Irmãos, Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n. 2, p. 159-164, 2012.

LIVERMORE D.M., WARNER M., HALL L.M., ENNE V.I., PROJAN S.J., DUNMAN P.M., WOOSTER S.L. & HARRISON G. Antibiotic resistance in bacteria from magpies (*Pica pica*) and rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from West Wales. *Environmental Microbiology*, v. 3, p. 658-661, 2001.

LUGARINI, C.L; LIMA, D. C. V; OLIVEIRA, R.A.S; CHAVES, R.H.A; MARVULO, M.F.V; MOTA, R.A; SILVA, J. C. R. Microbiota cloacal das aves silvestres da Reserva Biológica Guaribas, Estado da Paraíba. *XIX Congresso Brasileiro de Ornitologia*, p. 353, 2012.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; ALMEIDA, S. M.; LIMA, E. T.; ANDREATTI FILHO, R. L. Detecção de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em microbiota intestinal de Psittaciformes em fase de reabilitação para soltura. *Braz. Journal of Veterinary. Research. Animal. Science.*, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 185-189, 2010.

MATTES, B. R.; CONSIGLIO, S. A. S.; ALMEIDA, B. Z.; GUIDO, M. C.; ORSI, R. B.; SILVA, R. M.; COSTA, A.; FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Influência da biossegurança na colonização intestinal por *Escherichia coli* em psitacídeos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 72, n. 2, p. 13-16, 2005.

MIDDLETON J.H. & AMBROSE A. Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). *Journal of Wildlife Diseases*, v. 41, p. 334-341, 2005.

NASCIMENTO A.M.A., CURSINO L., GONÇALVES-DORNELAS H., REIS A., CHARTONE-SOUZA E. & MARINI M.A. Antibiotic-resistant gram-negative bacteria in birds from the Brazilian Atlantic Forest. *The Condor*, v. 105, p. 358-361, 2003.

NEWMAN, S.H., CHMURA, A., CONVERSE, K., KILPATRICK, A.M., PATEL, N., LAMMERS, E. & DASZAK, P. Aquatic bird disease and mortality as an indicator of changing ecosystem health. *Marine Ecology Progress series*, v. 352, p. 299-309, 2007.

PACKER, R. A.; MERCHANT, I. A. *Bacteriologia y virologia veterinarias*. 3. Ed. Acribia: Zaragoza, p. 123-128, 1970.

PADRONE, J. M. B. *O comércio ilegal de animais silvestres: avaliação da questão ambiental no Estado do Rio de Janeiro*, p. 114, 2004.

PETNEY T.N., ANDREWS R.H., MCDIARMID L.A. & DIXON B.R. *Argas persicus* sensu stricto does occur in Australia. *Parasitology Research*, v. 93, p. 296-299, 2004.

SANTOS H.F., Flôres M.L., Lara V.M., Battisti L. e Lovato L.T. Microbiota cloacal aeróbia de cracídeos cativos no Rio Grande do Sul e sua susceptibilidade a antimicrobianos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Brazil, v. 30, n. 12, p. 1077-1082, 2010.

SAVIDGE J.A., SILEO L. & SIEGFRIED L.M. Was disease involved in the decimation of Guam's avifauna? *Journal of Wildlife Diseases*, v. 28, p. 206-214, 1992.

SMITH W.A., MAZET J.A.K. & HIRSH D.C. Salmonella in California wildlife species: Prevalence in rehabilitation centers and characterization of isolates. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 33, p. 228-235, 2002.

STEELE C.M., Brown R.N. & BOTZLER R.G. Prevalence of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the Pacific Coast of California and Washington, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 41, p. 735-744, 2005.

STYLES, D.K. & FLAMMER, K. Congo Red Binding of *Escherichia coli* isolated from the cloacae of psittacine birds. *Avian Diseases*, v. 35, p. 46-48, 1991.

TIZARD, I. Salmonellosis in wild birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 13, n. 2, p. 50-66, 2004.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. *Microbiologia*. 6.ed. Porto Alegre : Artmed, p. 827, 2000.