

RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS EM AVES EXÓTICAS E ORNAMENTAIS DE CRIADOUROS COMERCIAIS DE SÃO PAULO: UM OLHAR NA SAÚDE ÚNICA

Bianca da Costa Tavares da Silva

Victoria Tiemi Sorbello Sakauchi, Marcos Bryan Heinemann

Natália Carrillo Gaeta

Universidade de São Paulo

biancactavares97@usp.br

Objetivos

Esta pesquisa teve como objetivo geral a identificação e caracterização do perfil de sensibilidade a antibióticos de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas presentes nas fezes de aves ornamentais e exóticas de criadouros comerciais de São Paulo, além de traçar o perfil de cada criador quanto ao manejo e conhecimento sobre resistência a antibióticos e saúde única.

Métodos e Procedimentos

Foram coletados *swabs* cloacais de 55 aves (canário belga – *S. canaria domestica* - $N = 32$; periquito australiano – *M. undulatus* – $N = 04$; calopsita – *N. hollandicus* – $N = 17$). As aves pertenciam a quatro criadouros comerciais da cidade de São Paulo (A – Vila Prudente; B – Mooca; C – Jd. Monte Kemel; D – Mooca). No laboratório, as amostras foram colocadas em tubos com três mililitros de água peptonada tamponada, sendo incubados a 37°C por 24 horas.

Em seguida, dez microlitros do crescimento foram semeados em placas com ágar MacConkey (Acumedia®), ágar sangue de carneiro (5%) e ágar Xylose Lactose Tergitol 4 (XLT4). As placas foram incubadas a 35°C $\pm$ 2°C por 24 horas. Os isolados foram identificados por Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) e estocadas

em meio Triptone Soy Agar (Acumedia®) semi-sólido (1%), à temperatura ambiente.

O perfil de sensibilidade a antibióticos foi avaliado por meio do teste de disco de difusão (método de Kirby-Bauer) de acordo com as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2021). Os agentes testados e respectivas concentrações foram: Aztreonam 30 (ATM), Sulfazotrim 25 (SUT), Ceftriaxona 30 (CRO), Ácido Nalidíxico 30 (NAL), Cefotaxima 30 (CAZ), Amoxicilina com ácido clavulânico 30 (AMC), Cefotaxima 30 (CTX), Cefoxitina 30 (CFO), Cefepime 30 (CPM), Ciprofloxacina 05 (CIP), Amicacina 30 (AMI) e Gentamicina 10 (GEN).

Dentre as bactérias isoladas tem-se enterobactérias de importância na medicina humana e veterinária (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* sp.), além de *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* sp. presentes nas fezes dessas aves, das quais foi avaliado o perfil de resistência por meio de antibiograma e testes moleculares. Este trabalho teve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA #4749110521).

Resultados

Foram obtidos 34 isolados bacterianos das 55 amostras de *swab* cloacal, sendo 71,9% (23/32) de canários, 35,3% (06/17) de calopsitas, e cinco isolados de quatro periquitos.

Quanto às espécies bacterianas isoladas, 58,8% (20/34) pertenciam ao gênero *Staphylococcus* spp., 26,4% (09/34) de Gram-negativas e 14,7% (06/34) de *Enterococcus* spp. *Salmonella* spp. não foram isoladas.

Dividindo a análise do perfil de resistência de acordo com as classes de antimicrobianos e levando em consideração o número total de amostras, observou-se que a maioria dos isolados apresentou resistência a pelo menos um agente beta-lactâmico testado (70,5%; 24/34), em especial a penicilina e a oxaciclina, seguido dos aminoglicosídeos (41,3%;12/29) e das tetracinas, (29,4%;10/34) (Figura 1).

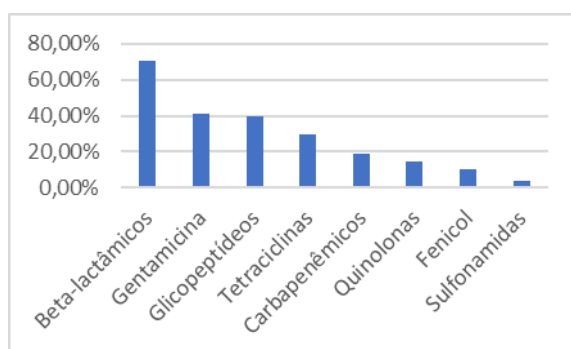


Figura 1: Porcentagem de bactérias resistentes isoladas da cloaca de aves exóticas e ornamentais de criadouros de São Paulo.

Analisando as *Enterococcus* spp. observou-se amostras resistentes à vancomicina, perfil de grande importância na saúde humana, e à quinolonas, como a ciprofloxacina. Já nas Gram-negativas, a resistência bacteriana foi menos frequente, mas a presença dessas bactérias estava associada principalmente ao manejo de um dos criadouros (criador C), que fazia uso profilático de antibióticos, prática que provavelmente gerou a disbiose na microbiota intestinal dessas aves. Importante destacar que a microbiota das aves é majoritariamente composta por indivíduos Gram-positivos.

Levando em consideração a importância das bactérias gram-negativas em infecções do trato urinário em humanos e animais como cães e gatos, essa seleção pode ser um fator de risco com o aumento do contato entre pássaros e humanos e outros pets.

Já quanto ao conhecimento sobre Saúde Única e resistência aos antimicrobianos, observou-se

uma compreensão superficial por parte dos criadores.

Conclusões

Os resultados mostram a presença de bactérias resistentes em aves exóticas de criadouros comerciais da cidade de São Paulo, em especial entre as espécies de *Enterococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. e entre os antibióticos beta-lactâmicos e as quinolonas.

A superficialidade do conhecimento dos criadores acerca dos conceitos de Saúde Única e resistência bacteriana a antimicrobianos foi fator determinante no modo de uso dos antibióticos, em especial pelo criador C, que, utiliza de forma profilática. Essa prática foi o provável fator determinante na geração de disbiose intestinal, com aumento da abundância relativa de bactérias Gram-negativas, além da seleção de bactérias resistentes.

O uso errôneo dos antibióticos pode contribuir para a seleção e disseminação de bactérias resistentes em seres humanos e animais. A presença de bactérias resistentes nas aves de criadouros comerciais de São Paulo alerta para a necessidade de ações educativas voltadas aos criadores, de modo a estabelecer protocolos que visem o correto uso desses agentes.

Referências Bibliográficas

COMMISSION, O. H. **What is One Health?** Disponível em: <https://www.onehealthcommission.org/en/why_one_health/what_is_one_health/>. Acesso em: 28 abr. 2021.

GUARDABASSI, L. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria: Review. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, n. 2, p. 321–332, 1 jul. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkh332>>.

MARTINEZ, J. L. General principles of antibiotic resistance in bacteria. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 11, p. 33–39, mar. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S14067491400002X>>.

ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA FROM EXOTIC AND ORNAMENTAL BIRDS OF COMMERCIAL BREEDING SITES OF SÃO PAULO: AN ONE HEALTH APPROACH

Bianca da Costa Tavares da Silva

Victoria Tiemi Sorbello Sakauchi, Marcos Bryan Heinemann

Natália Carrillo Gaeta

University of São Paulo

biancactavares97@usp.br

Objectives

This research aimed to identify and describe the antibiotic resistance profile of Gram-positive and Gram-negative bacteria from cloacal swabs samples of exotic and ornamental birds from commercial breeding sites in São Paulo, Brazil. Additionally, it aimed to define the profile of the breeders' aspects of handling the animals and their knowledge about antibiotic resistance and One Health.

Materials and Methods

Cloacal swabs were taken from 55 birds (domestic canary – *S. canaria domestica* – $N = 32$; parakeet – *M. undulatus* – $N = 04$; cockatiel – *N. hollandicus* – $N = 17$). The birds were from four commercial breeding sites in São Paulo (A – Vila Prudente; B – Mooca; C – Jd. Monte Kemel; D – Mooca). At the laboratory, the samples were placed in three milliliters of buffered peptone water (BPW) tubes and hatched for 24 hours at 37°C.

Then, ten microliters of the bacterial growth were cultivated onto plates with MacConkey agar (Acumedia®), sheep's blood agar (5%) and Xylose Lactose Tergitol 4 agar (XLT4). The plates were incubated for 24 hours at 35°C $\pm 2^\circ\text{C}$. The isolates were identified by Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) and stored in Tryptone Soy Agar (Acumedia®) semi-solid (1%) at room temperature.

The susceptibility profile against antibiotics was evaluated by the disk-diffusion test (Kirby-Bauer method), following the guidelines of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2021). The drugs tested and their respective concentrations were: Aztreonam 30 (ATM), Sulfazotrim 25 (SUT), Ceftriaxone 30 (CRO), Nalidixic Acid 30 (NAL), Ceftazidime 30 (CAZ), Amoxicillin and Clavulanic acid 30 (AMC), Cefotaxime 30 (CTX), Cefoxitin 30 (CFO), Cefepime 30 (CPM), Ciprofloxacin 05 (CIP), Amikacin 30 (AMI), and Gentamycin 10 (GEN). This work was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals in Experimentation (CEUA # 4749110521).

Results

Thirty-four isolates were obtained from 55 cloacal swab samples, of which 71,9% (23/32) were from canaries, 35,3% (06/17) from cockatiels and five were from the parakeet. Regarding species isolated, 58,8% (20/34) were *Staphylococcus* spp., 26,4% (09/34) were Gram-negatives, and 14,7% (06/34) were *Enterococcus* spp. *Salmonella* spp. were not isolated.

Most isolates were resistant to at least one beta-lactam drug (70,5%; 24/34), mainly penicillin and oxacillin, followed by aminoglycosides (43,3%; 12/29) and tetracyclines (29,4%; 10/34) (Figure 1).

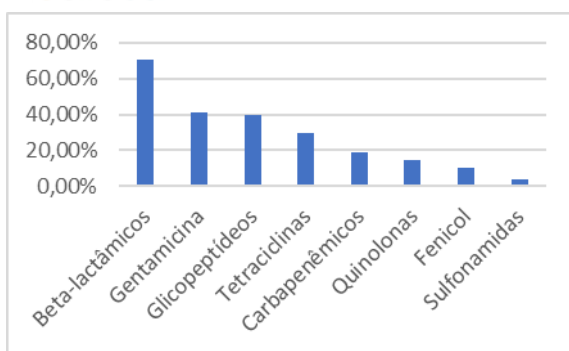


Figure 1: Percentage of resistant bacteria isolated from the cloaca of exotic and ornamental birds in commercial breeding sites in São Paulo.

It is worth mentioning that vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. were detected, and these microorganisms are important to Human Health. Ciprofloxacin-resistant *Enterococcus* spp. was also obtained, and Gram-negative-resistant bacteria were less frequent.

It is worth mentioning that the gut microbiota of birds is mainly composed of Gram-positive bacteria. In this research, Gram-negative bacteria were more abundant in Site C, where prophylactic antibiotic therapy is frequent. This practice probably generated a dysbiosis of the intestinal microbiota of these birds, which resulted in the increased abundance of Gram-negative bacteria.

Antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in birds should be treated with caution. Few species, such as *E. coli*, are well-known human and animal urinary infections and enteric pathogens. Close contact between birds, humans, and other companion animals might increase the risk of inter-transmission of these microorganisms, leading to diseases challenging to treat.

Regarding the knowledge of "One Health" and antimicrobial resistance, the data showed a superficial comprehension by those who work at the breeding sites.

Conclusions

The results showed antimicrobial-resistant bacteria (especially *Enterococcus* spp. and *Staphylococcus* spp.) in exotic and ornamental birds in São Paulo. Isolates were more resistant to beta-lactams and quinolones.

The superficial knowledge regarding One Health and antimicrobial resistance was critical in determining how birds have been managed, notably Site C, which uses prophylactic antibiotic therapy. This practice was probably essential to generating intestinal dysbiosis and consequent Gram-negative bacterial growth and selection of resistant bacteria.

The inappropriate use of antibiotics contributes to the selection and dissemination of resistant bacteria to humans and other animals. The presence of these resistant bacteria in birds of commercial breeding sites in São Paulo reinforces the need for educative actions, including establishing protocols for correctly using these agents.

References

- COMMISSION, O. H. **What is One Health?** Disponível em: <https://www.onehealthcommission.org/en/why_one_health/what_is_one_health/>. Acesso em: 28 abr. 2021.
- GUARDABASSI, L. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria: Review. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, n. 2, p. 321–332, 1 jul. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkh332>>.
- MARTINEZ, J. L. General principles of antibiotic resistance in bacteria. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 11, p. 33–39, mar. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S174067491400002X>>.
- MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. In: **Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion**