

IDENTIFICAÇÃO DE *KLEBSIELLA* SPP. EM FEZES DE PSITACÍDEOS CATIVOS

Paloma Viegas Knöbl*
José Fernando Viveiros
Letícia Soares Franco
Yamê Minierio Davies
Marcos Paulo Vieira Cunha
Márcia Cristina Menão
Maria Inês Zanolli Sato
Vasco Túlio de Moura Gomes
Andrea Micke Moreno
Hilari Wanderley Hidasi
Cláudia Almeida Igayara de Souza
Terezinha Knöbl

Resumo:

No Brasil são encontradas mais de 80 espécies de aves da família Psittacidae, incluindo papagaios, araras e periquitos. A manutenção destas aves em zoológicos contribui para a conservação das espécies, mas o ambiente de cativeiro pode favorecer a colonização intestinal por enterobactérias. O objetivo deste trabalho foi identificar a presença de *Klebsiella* spp. nas fezes de psitacídeos cativos. Foram analisadas 34 amostras de fezes de aves alojadas em um zoológico do estado de São Paulo em maio de 2017. As amostras foram coletadas com auxílio de suabe estéril, no mês de maio de 2017 e submetidas ao cultivo bacteriológico, utilizando-se ágar MacConkey com incubação a 37°C por 24 horas. Foram identificadas 11 (32,35%) amostras positivas para *Klebsiella* spp., incluindo as espécies: *K. pneumoniae* e *K. oxytoca*. Os resultados demonstraram a presença de aves colonizadas por *Klebsiella* spp. Novos estudos são necessários para determinação da patogenicidade destas estirpes, perfil de resistência antimicrobiana e riscos de saúde animal, uma vez que as enterobactérias não são componentes da microbiota de psitacídeos saudáveis.

Palavras-chaves: Aves silvestres; *Enterobactérias*; *Klebsiella pneumoniae*; *Klebsiella oxytoca*.

* Faculdades Metropolitanas Unidas e Universidade de São Paulo. E-mail: palomaknobl@hotmail.com

Abstract:

More than 80 species of birds belonged to the family Psittacidae in Brazil, including parrots, macaws and parakeets. The maintenance of these birds in Zoos may help the conservation of the species, but the captivity can favor intestinal colonization by enterobacteria. The aim of this study was to identify the presence of *Klebsiella* spp. in the fecal samples of captive parrots. Thirty - four fecal samples of psittacine birds from a Zoo of São Paulo state were analyzed. The samples were collected with a sterile swab during May 2017, and subjected to bacteriological culture on MacConkey agar, with incubation at 37°C for 24 hours. The results showed that 11 (32.35%) were positive for *Klebsiella* spp., with identification of the species: *K. pneumoniae* and *K. oxytoca*. This study showed the presence of birds colonized by *Klebsiella* spp. Further studies are required to determine the pathogenicity, the antimicrobial resistance profile and animal health risks, since enterobacteria do not belong to microbiota of psittacine birds.

Key-word: Wildlife birds; *Enterobacteria*; *Klebsiella pneumoniae*; *Klebsiella oxytoca*.

1. INTRODUÇÃO

A microbiota intestinal de psitacídeos é constituída principalmente por bactérias Gram positivas e tem menor prevalência de Gram negativas (Saidenberg et al. 2015). Segundo Mattes et al. (2005) a manutenção de aves em cativeiro altera a microbiota intestinal e favorece a colonização por bactérias Gram negativas. A importância das bactérias da Família Enterobacteriaceae se deve ao risco de saúde animal em infecções oportunistas e ao potencial risco de zoonótico (Gioia-Di Chiacchio et al. 2016).

Klebsiella spp. é uma enterobactéria associada às infecções respiratórias, oculares, doenças reprodutivas e sepse em aves (Davies et al. 2016). No entanto, o agente pode ser isolado das fezes de diversas espécies de psitacídeos clinicamente saudáveis (Gibbs et al. 2007, Loiko et al. 2007, Davies et al. 2016).

A patogenicidade do agente pode ser atribuída a diversos fatores de virulência, tais como cápsula, exopolissacarídeos associados à hiperviscosidade, adesinas, lipopolissacarídeos e sistemas de aquisição de ferro (Davies et al., 2016).

Mesmo diante dos riscos de doença e de transmissão ao homem, o agente é pouco investigado na medicina aviária. Este trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Klebsiella* spp. em psitacídeos cativos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas e analisadas fezes provenientes de 34 Psitacídeos clinicamente saudáveis, originários de um Zoológico do Estado de São Paulo, sem distinção de sexo ou idade. O material foi coletado no mês de maio de 2017, com auxílio de suabes estéreis, mantidos sob-refrigeração até sua chegada ao Laboratório de Medicina Aviaria da FMVZ – USP.

As amostras foram semeadas em tubos contendo 3mL de caldo BHI, incubados à 37°C por 24h, para seu enriquecimento. Após esse período, as amostras foram semeadas em ágar MacConkey e incubadas nas mesmas condições anteriores.

As colônias fermentadoras de lactose foram selecionadas para a extração proteica e a medição do tempo de vôo pela técnica por MALDI-TOF MS, para identificação microbiológica (Carbonnelle et al. 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 34 psitacídeos avaliados, 11 (32,35%) mostraram-se positivos para *Klebsiella* spp., com identificação de duas espécies: *K. pneumoniae* (17,6%) e *K. oxytoca* (14,7%). Estes resultados estão apresentados na Tabela 1. Das nove espécies avaliadas, apenas 3 não estavam colonizadas pelo agente, *Ara chloropterus*, *Aratinga solstitialis* e *Ara nobilis*. No entanto, o número de exemplares analisados é muito pequeno para uma análise estatística que comprove diferença em relação às espécies colonizadas.

Tabela 1. Espécies de Psitacídeos cativos avaliados para presença de *Klebsiella* spp.

Espécie de Psitacídeo	Aves avaliadas (n)	Positivas para <i>K. pneumoniae</i>	Positivas para <i>K. oxytoca</i>
Papagaio verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>)	9	3	1
Papagaio anacã (<i>Deroptyus accipitrinus</i>)	1	-	1
Papagaio colirroja (<i>Pyrrhura hematoris</i>)	1	1	-
Maitaca de cabeça azul (<i>Pionus menstruus</i>)	6	1	-
Arara Canindé (<i>Ara ararauna</i>)	5	-	2
Jandaia Maracanã (<i>Aratinga leucophthalma</i>)	8	1	1
Arara vermelha (<i>Ara chloropterus</i>)	1	-	-
Jandaia Sol (<i>Aratinga solstitialis</i>)	1	-	-
Jandaia maracanã nobre (<i>Ara nobilis</i>)	2	-	-
TOTAL	34	6	5

Os dados deste trabalho corroboram os resultados encontrados por Hidasi et al. (2013) que relataram um percentual de 29,7% de *Klebsiella* spp. nas fezes de 300 papagaios nativos traficados. Segundo os autores, esta enterobactéria foi o terceiro agente Gram negativo em frequência de isolamento, superado apenas por *Escherichia coli* e *Enterobacter* spp.

Não são conhecidas informações específicas sobre as vias de transmissão, período de incubação e patogenia de *Klebsiella* spp. nas aves. No entanto, muitos clínicos consideram que a colonização intestinal de psitacídeos por bactérias Gram negativas é um sinal da doença e recomendam o tratamento independente da presença de sinais clínicos (Hoefler 1997). Neste estudo o agente foi isolado de diversas espécies de psitacídeos clinicamente saudáveis, alojados em recintos únicos ou compartilhados. Não foi possível determinar se estas aves eram portadoras assintomáticas ou convalescentes, mas os dados sugerem que o agente está sendo eliminado pelas fezes, favorecendo a contaminação ambiental. Existe, portanto, um risco potencial de infecção respiratória para as aves susceptíveis que coabitam o recinto, bem como chance de transmissão para trabalhadores e visitantes do zoológico.

Davies et al. (2016) avaliaram 32 estirpes de *K. pneumoniae* isoladas de psitacídeos e passeriformes brasileiros. Algumas estirpes foram consideradas virulentas e 25% destas apresentaram um fenótipo de resistência múltipla aos antibióticos. Segundo os autores, algumas estirpes apresentavam genes associados à resistência estendida aos betalactâmicos (ESBL) e genes plasmidiais de resistência à quinolona.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos nesse trabalho revelaram a presença de *Klebsiella* spp. na microbiota fecal destas aves. As espécies identificadas foram *K. pneumoniae* e *K. oxytoca*. A caracterização da virulência e resistência destes isolados será útil futuramente para a avaliação dos riscos zoonóticos e sanitários para os psitacídeos cativos.

REFERÊNCIAS

Carbobbelle E, Mesquita C, Bille E, Day N, Dauphin B, Dauphin B, Beretti J, Ferroni A, Gutmann L, Nassif X. MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. Clin Biochem. 2011; 44(1):104-109.

Chiacchio RM, Cunha MP, Sturn RM, Moreno LZ, Moreno AM, Pereira CB, Martins FH, Franzolin MR, Piazza RM, Knöbl T. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Zoonotic risks associated with psittacine pet birds in home environments. Vet Microbiol. 2016; 29(184):27-30.

Davies YM, Cunha MPV, Oliveira MGX, Oliveira, MCV, Philadelpho N, Romero DC, Sá LR M (2016). Virulence and antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from passerine and psittacine birds. Avian Pathol. 2016; 45 (2):194-201.

Gibbs PS, Kasa R, Newbrey JL, Peteremann SR, Wooley RE, Winson HM, 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 Dis. 2017; 51(1):649-655.

Hidasi H W, Neto JH, Moraes DMC, Linhares GFC, de Sá Jayme V, Andrade MA. Enterobacterial detection and *Escherichia coli* antimicrobial resistance in parrots seized from the illegal wildlife trade. J. Zoo Wild Med. 2013; 44(1),1-7.

Hoefer HL. Diseases of the gastrointestinal tract. In: Altman RB, Clubb SL, Dorestein GM, Quesenbery K (Eds). Avian Medicine and Surgery. Saunders Company. Philadelphia. 1997.

Loiko MR, Abilheira FS, Guedes NR, Passos DT, Weimer TA, Oliveira SJ, Allygayer MC. Identificação da microbiota da orofaringe e cloaca em filhotes de arara-azul-grande (*Anodorhynchus hyacinthinus*) de vida livre do Pantanal-MS. Rev. Inic Cient. ULBRA 2007; 6(6):29-35.

Mattes BR, Consiglio SAS, Almeida BZ, Guido MC, Orsi RB, Silva RM, Costa A, Ferreira A JP, KNÖBL T. Influência da biossegurança na colonização intestinal por *Escherichia coli* em psitacídeos. Arq Inst Biol. 2005; 72(1):13-16.

Saidenberg ABS, Gilardi JD, Munn C, Knobl T. Evaluation of fecal Gram stains and prevalence of endoparasites in free-living macaws. Atas de Saúde Amb. 2015: 3 (3),3-11.

RECEBIDO EM: 17/08/2017

ACEITO EM: 23/10/2017