

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**DETECÇÃO DE *Enterobacteriaceae* E *Chlamydophila* spp. EM
PSITACÍDEOS PROVENIENTES DO
CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS SELVAGENS DE GOIÁS**

Hilari Wanderley Hidasí

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora Andrade

**GOIÂNIA
2010**



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Hilari Wanderley Hidasí** E-mail: **hhidasi@yahoo.com.br**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? Sim Não

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento:

País: UF: CNPJ: Sigla:

Título: **DETECÇÃO DE Enterobacteriaceae E Chlamydomphila spp. EM PSITACÍDEOS PROVENIENTES DO CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS SELVAGENS DE GOIÁS**

Palavras-chave: **E. coli, psitacose, resistência bacteriana, salmonelose, tráfico**

Título em outra língua: **DETECTION OF ENTEROBACTERIACEAE AND Chlamydomphila spp IN PSITACINE BIRDS FROM CETAS/GO**

Palavras-chave em outra língua: **E. coli, psittacosis, bacterial resistance, salmonellosis, traffick**

Área de concentração: **SANIDADE ANIMAL, HIGIENE E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Data defesa: (dd/mm/aaaa) **26/02/2010**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Profª. Drª. Maria Auxiliadora Andrade** E-mail: **maa@vet.ufg.br**

Co-orientador(1): **Profª. Drª. Valéria de Sá Jayme** E-mail: **valeria.mg@uol.com.br**

Co-orientador(2): **Prof. Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares** E-mail: **guidofcl@vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.


 Assinatura do(a) autor(a)

Goiânia 13 de março de 2010

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

HILARI WANDERLEY HIDASI

**DETECÇÃO DE *Enterobacteriaceae* E *Chlamydophila* spp. EM
PSITACÍDEOS PROVENIENTES DO
CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS SELVAGENS DE GOIÁS**

Dissertação apresentada para a obtenção
do grau de Mestre em Ciência Animal
junto à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Goiás

Área de concentração:
Sanidade Animal

Linha de Pesquisa:
Enfermidades de importância em saúde pública

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Andrade – UFG

Comitê de orientação:
Prof^a. Dr^a. Valéria de Sá Jayme - UFG
Prof. Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares - UFG

**GOIÂNIA
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

H632d Hidasi, Hilari Wanderley.
Detecção de *Enterobacteriaceae* e *Chlamydophila* spp. em psitacídeos provenientes do centro de triagem de animais selvagens de Goiás[manuscrito] / Hilari Wanderley Hidasi. - 2010.
62 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Maria Auxiliadora Andrade; Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Helena Carasek.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2010.

Bibliografia.

1. Tráfico de animais silvestres - Goiás (Estado) 2. Psitacídeos
3. *Enterobacteriaceae* 4. *Chlamydophila* spp. I. Título.

CDU: 636.092.1(817.3)

HILARI WANDERLEY HIDASI

Dissertação defendida e aprovada em **26/02/2010**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Marcelo Vasconcelos Meireles - UNESP/SP



Profa. Dra. Luciana Batalha de Miranda - DMV/EV/UFG

"Primeiro foi necessário civilizar o homem
em relação ao próprio homem.
Agora é necessário civilizar o homem
em relação a natureza e aos animais."

Victor Hugo

AGRADECIMENTOS

Com certeza o que não me falta são agradecimentos. Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por sua companhia constante, todas as bênçãos alcançadas e por ter colocado tantas pessoas boas em meu caminho.

Agradeço a minha mãe, Solanita, por ser amiga, companheira, guerreira e me inspirar sempre a lutar pelos meus sonhos, com certeza esse trabalho é em grande parte seu.

Ao meu pai, José Hidasí Filho, que me ajudou muito nessa fase, também meu avô José Hidasí, que foi de onde tirei a inspiração e o fascínio pela vida selvagem.

Aos meus irmãos, Christine, Ayra e José Hidasí Neto, sempre companheiros e muito amados. Meus sobrinhos, Kevin e Maria Rita, fofinhos da Lili, e ao meu cunhado João.

A minha orientadora, Maria Auxiliadora, que pra mim é uma amiga, professora, mentora, exemplo de ser humano, um coração enorme que possui tantas qualidades que com certeza nem cabem aqui. Sua orientação foi um grande presente.

Aos professores Guido e Valéria, por aceitarem a participação no comitê de orientação, e por toda a ajuda concedida.

Aos professores Jurij, Chico, Luciana, Iolanda, Edmar, Café, Maria Lúcia, Regiane, Ana Paula, Clorinda, Andrea e Cinthia, por terem sempre um sorriso gostoso no rosto, fazem muita diferença todos os dias.

Às minhas colegas Anna Carolina, Dunya, Ana Caroline, Juliana, Fernanda e Eliete. À Dorinha e Tânia, que me ajudaram muito, E todos os outros companheiros de laboratório, Angélica, Mariana, Joelma, Ítalo, Gracinda, Suzane, Januária, Lidia. Às minhas estagiárias, Andrea e Adriana, adoro.

As minhas amigas de todas as horas, Illa e Gabi, que passaram vários fins de semana no laboratório trabalhando comigo sem esquecer da Lara, muito amada, Flavinha que sempre me ajudou e apoiou nas decisões “científicas”. Elisa, abandonadora!! Faz muita falta! Também a Hérika, “estranha”, Alberto, Sabrina e Osvaldo, a ajuda de vocês foi demais!

Minha coleguinha de coleta, amiga de tempos já, Thalita. Às residentes e amigas, Aline e Andrea, sem esquecer do Víctor, adoro demais.

A todos do CETAS, Leo Caetano, pessoa que tornou o estudo possível. Também Laura, Beth, Dona Elza, guardas, tratadores, estagiários, muito obrigada pela ajuda e paciência! Também a Cristina do IBAMA, sempre receptiva.

A todos os pesquisadores que me auxiliaram, seja pessoalmente ou por e-mail, Tânia Raso, Karin Werther, André Saidenberg, Terezinha Knobl, Pachaly, Rogério Lange, Paulo Mangini, Ricardo Vilani, Nadia Almosny, Jefferson Pires, Jean Carlos e tantos outros.

Ao William, que ouviu todas as reclamações durante esse ano.

Aos animais usados no experimento, um mais lindo que o outro, não é atoa que são tão cobiçados.

A CAPES pelo apoio financeiro e ao IBAMA por todo apoio.

E a todos que por acaso não citei o nome.

Muito obrigada!!!!

RESUMO

O tráfico de animais silvestres é a terceira maior atividade ilegal do mundo, estando apenas atrás do tráfico de armas e de drogas. As aves são os animais mais atingidos pelo comércio ilegal. Além de prejudicial à biodiversidade, o tráfico também pode implicar riscos à saúde humana. Uma série de doenças podem ser transmitidas e adquiridas pelas aves, sendo as mais comumente detectadas as de etiologia bacteriana. O manejo inadequado, principalmente relacionado ao transporte e superpopulação, favorece o aumento da susceptibilidade das aves às infecções ou mesmo a ativação de infecções latentes com conseqüente disseminação de patógenos. Pelo exposto objetivou-se realizar a pesquisa de *Enterobacteriaceae* e determinar o perfil de resistência das cepas isoladas de *Escherichia coli*, assim como, levantamento da freqüência de *Chlamydophila* spp. de psitacídeos apreendidos nas ações de combate ao tráfico de animais selvagens em Goiás, com devida autorização do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA/GO). Para tanto, 300 psitacídeos, num período de um ano, foram cadastrados no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), na cidade de Goiânia-Goiás, e submetidos a exames clínicos e laboratoriais. Para a pesquisa de *Enterobacteriaceae* foram colhidos excretas do fundo de gaiolas, forradas com papel alumínio e acondicionados em gelo para transporte ao laboratório, onde foram analisadas pelo método bacteriológico convencional. Para a pesquisa da *Chlamydophila psittaci* 300 suabes cloacais e 300 traqueais foram coletados e analisados pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Identificaram-se nas excretas as seguintes bactérias da família *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, 172/300 (33,87%), *Enterobacter* spp. 153/300 (30,12%), *Klebsiella* spp. 89/300 (17, 73%), *Citrobacter* spp. 9/300 (11,71%), *Proteus vulgaris* 21/300 (4,23%), *Providencia alcalifaciens* 5/300 (0,98%), *Serratia* sp.5/300 (0,98%), *Hafnia aivei* 3/300 (0,59%) e *Salmonella* sp. 1/300 (0,19%). Isolados de *Escherichia coli* foram submetidos ao teste de sensibilidade à antimicrobianos, onde se obteve: amoxicilina (10µg) (70,93%), ampicilina (10µg) (75,58%), ciprofloxacina (5µg) (69,76%), cloranfenicol (30µg) (33,14%), doxiciclina (30µg) (64,53%), enrofloxacina(5µg) (41,28%), tetraciclina (30µg) (69,19%), sulfonamida (300µg) (71,51%) de resistência aos antimicrobianos testados. Das amostras colhidas, 11/300 (3,66%) foram positivas na análise pela PCR para *Chlamydophila* spp. Os resultados sugerem que psitacídeos provenientes do comercio ilegal são potenciais veiculadores de agentes zoonóticos, e apontam ainda a possibilidade de aves selvagens se constituírem em suporte de transferência de fenótipos de *E.coli* resistentes para a microbiota humana e de outros animais.

Palavras-chave: *E. coli*, psitacose, resistência bacteriana, salmonelose, tráfico.

SUMÁRIO

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1 - Introdução	1
1.2 – <i>Enterobacteriaceae</i>	3
1.3 – Resistência bacteriana	6
1.4 – <i>Chlamydomphila psittaci</i>	8
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 2 - DETECÇÃO DE <i>Enterobacteriaceae</i> E DETERMINAÇÃO DE PERFIL DE RESISTÊNCIA DOS ISOLADOS DE <i>Escherichia coli</i> EM PSITACÍDEOS PROVENIENTES DO COMERCIO ILEGAL DE ANIMAIS SELVAGENS EM GOIÁS	17
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODO	21
Local.....	21
Animais e coleta das amostras.....	21
Pesquisa de <i>Enterobacteriaceae</i>	21
Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	22
Análise estatística	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO 3 - DETECÇÃO DE <i>Chlamydomphila spp.</i> EM PSITACÍDEOS PROVENIENTES DO COMERCIO ILEGAL DE ANIMAIS SELVAGENS EM GOIÁS	39
INTRODUÇÃO	41
MATERIAL E MÉTODO	44
Local.....	44
Animais e coleta das amostras.....	44
Reação em cadeia pela polimerase (PCR)	44
Extração do DNA.....	44
Amplificação	45
Evidenciação dos produtos amplificados.....	46
Análise estatística	46
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 - Introdução

Psitacídeos são aves que pertencem à família *Psittacidae*, representados pelas araras, periquitos e papagaios. São conhecidas como aves de “bico redondo”, possuem uma grande diversidade de cores e capacidade de imitar sons, o que as tornam muito populares como animais de estimação, atraindo compradores no mercado interno e externo (SICK, 1997; JUNIPER & PARR, 1998). O Brasil é o país mais rico do mundo em aves da família *Psittacidae*, já que das 344 espécies existentes, 72 são brasileiras, sendo este grupo aviário um dos que mais sofrem com o comércio ilegal da fauna silvestre (SICK, 1997; SIGRIST, 2006).

Conforme dados da Organização Internacional para a Conservação da Natureza e Recursos Naturais (IUCN), do total de espécies de psitacídeos brasileiros, 13 são classificadas como vulneráveis a ameaças (SNYDER et al., 2000). Segundo a rede TRAFFIC, uma organização internacional que monitora o comércio mundial de animais e plantas silvestres, cerca de 800 mil psitacídeos são vendidos ilegalmente a cada ano no mercado mundial. As vendas destes animais podem gerar lucros que chegam a 10 bilhões de dólares por ano (ESPÉCIES, 2008).

Dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA) permitem supor que 90% do comércio de animais selvagens é ilegal. Os animais comercializados ilegalmente são submetidos a condições inadequadas de transporte, alimentação, higiene e não passam por controle sanitário durante o processo. Ao serem capturadas geralmente são alojadas em pequenas gaiolas, em grande número, onde as condições higiênicas são precárias, o que permite e facilita o desequilíbrio fisiológico, determinando sofrimento e favorecendo o desenvolvimento de doença clínica. Acredita-se que em função dessas condições inapropriadas, de cada dez animais retirados da natureza, apenas um sobrevive (LOPES, 2002; RASO, 2004).

Quando agentes da fiscalização do IBAMA ou das polícias ambientais encontram aves sendo comercializadas ilegalmente, as mesmas são apreendidas e então encaminhadas para os Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS). Os CETAS podem ser gerenciados pelo IBAMA, ou então por outras instituições através de parceria ou convênio. Estes centros recebem, fazem a triagem e tratam dos animais resgatados ou apreendidos pelos órgãos fiscalizadores, assim como, eventualmente, recebem animais silvestres de particulares que os mantinham em cativeiro de forma irregular como animais de estimação. A equipe de cada CETAS providencia o melhor destino para os animais apreendidos, que são preferencialmente zoológicos, criadouros registrados no IBAMA e centros de pesquisa. Já as solturas são, sempre que possível vinculadas a programas específicos de manejo para as diferentes espécies (IBAMA, 2008; MEDEIROS, 2006).

Um aspecto a ser considerado é que essas aves que sobrevivem ao tráfico e não são apreendidas por agentes fiscalizadores, são compradas para serem mantidas como animais de estimação, e se portadoras de algum microrganismo patogênico, seja de forma crônica, latente ou assintomática, podem transmiti-lo para outros animais e para o homem, podendo acarretar consequências sanitárias preocupantes (PADRONE, 2004).

A pesquisa do estado sanitário de psitacídeos provenientes do comércio ilegal é de grande valor para a obtenção de dados e utilização destas informações como ferramenta de auxílio na manutenção das espécies. Psitacídeos podem ser acometidos por uma variedade de enfermidades e dados microbiológicos de populações naturais podem contribuir para a conservação de espécies ameaçadas, já que permitem o monitoramento da saúde desses animais assim como ajustes no manejo em cativeiro ou em ambiente natural alterado. O estudo das enfermidades transmissíveis pelas quais as aves silvestres são acometidas é um tema desafiador por sua complexidade, pois engloba uma grande diversidade de espécies, de agentes e a heterogeneidade dos ambientes (CORRÊA, 2007; LOIKO et al., 2008).

1.2 – *Enterobacteriaceae*

Os membros da família *Enterobacteriaceae* são bacilos Gram-negativos de até 3µm de comprimento, classificados em aproximadamente 28 gêneros e 80 espécies, que se distinguem bioquimicamente (QUINN et al., 2005). Dentre as bactérias Gram-negativas, algumas espécies da família das enterobactérias são apontados como importantes patógenos aviários. Estas bactérias podem fazer parte da microbiota normal do trato gastrintestinal ou serem organismos patogênicos que não são detectados rotineiramente, podendo causar tanto infecções intestinais como extraintestinais (RITCHIE et al., 1994; CAMPOS & TRABULSI, 2002; SEGABINAZI, 2004).

De acordo com QUINN et al. (2005), elas podem ser agrupadas em bactérias não patogênicas (sem expressão patogênica para animais), em patógenos oportunistas (que ocasionalmente causam doença clínica em órgãos fora do trato gastrintestinal), ou ainda em bactérias patogênicas que podem causar doenças entéricas e sistêmicas. Conforme descrito por KONEMAN et al. (2001), os animais imunocomprometidos ou debilitados se tornam mais suscetíveis a infecções por esse grupo bacteriano.

Escherichia coli é considerada a enterobactéria mais descrita, sendo que em muitas espécies aviárias é considerada um patógeno tão ou mais importante que a *Salmonella* (RITCHIE et al., 1994). É uma das principais constituintes da microbiota intestinal de animais homeotérmicos (BIER, 1984; HOEFER, 1997, SCHREMMER et al., 1999). Acredita-se que a maioria dos sorotipos de *E. coli* seja desprovida de qualquer fator de virulência, entretanto algumas cepas adquiriram, durante o processo evolutivo, diferentes conjuntos de genes que lhes conferiram a capacidade de ocasionar doença, fato que determina a grande versatilidade patogênica dessa espécie (HIRSH, 2004).

E. coli podem ser agrupadas de acordo com seus mecanismos de patogenicidade, em patótipos que estão frequentemente associados à doença em animais: as ETEC (*E. coli* enterotoxigênicas), EPEC (enteropatogênica), STEC (*E. coli* produtoras de toxina de Shiga), EIEC (*E. coli* enteroinvasivas), UPEC (uropatogênicos), NMEC (meningite neonatal), REDEC (enteropatogênicos de coelhos) e APEC (*E. coli* patogênicas para aves)

(SCHREMMER et al., 1999; BARNES, 2003; KNÖBL, 2008; FERREIRA & KNÖBL, 2000).

Essas bactérias podem se fixar no intestino logo após o nascimento, de amostras provenientes da mãe ou adquiridas no ambiente (RITCHIE et al., 1994). Segundo MARIETTO-GONÇALVES (2007), mesmo que esse microrganismo faça parte da microbiota normal das aves, pode causar doença clínica em determinadas situações. A patogenia das infecções por *E. coli* está diretamente correlacionada aos mecanismos de virulência que estas apresentam, sendo que os conhecidos incluem a capacidade da bactéria em expressar adesinas, produção de colicinas, aerobactina e hemolisinas presença de capsula, produção de citotoxinas, capacidade de invadir tecidos e resistir aos fatores séricos inibitórios do hospedeiro (SUSSMAN, 1997).

A patogênese das infecções por *E. coli* em psitacídeos ainda é pobremente definida. Aparentemente, *E. coli* aviária produz poucas exotoxinas, diferente de estirpes de mamíferos que produzem grandes quantidades de exotoxinas, que ocasionam várias mudanças clínicas e patológicas associadas à infecção (RITCHIE et al., 1994; HIRSH, 2004).

Também de grande importância epidemiológica e clínica, são os membros do gênero *Salmonella*. Estas bactérias colonizam a porção distal do intestino delgado e/ou cólon das aves e de outros animais, estando normalmente relacionada a doenças intestinais ou quadros septicêmicos (ACHA & SZYFRES, 1992; AGUILAR et al., 2006; GODOY, 2007).

Aproximadamente 2500 sorovares desta bactéria já foram identificados, sendo classificadas com base em seus antígenos ou substâncias que induzem uma resposta imunológica por parte do hospedeiro. Todos os sorovares são potencialmente patogênicos para as diferentes espécies animais, porém para as aves dois apresentam maior importância, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* (BROWN, 2000; QUINN, 2005; BERQUIERI JR, 2009).

O conhecimento sobre a ocorrência e a distribuição de *Salmonella* sp em animais silvestres e domésticos é essencial para relacionar os possíveis reservatórios que possam ser responsáveis pela transmissão deste agente (DÁOUST et al., 2001), cuja presença por si só não determina o desenvolvimento de uma enfermidade. Fatores que provocam um desequilíbrio na microbiota intestinal, como uso de antibióticos, mudanças na dieta ou

privação de comida e água, podem facilitar a multiplicação e fixação desse patógeno na parede intestinal (QUINN et al., 2005; GODOY, 2007).

A ave pode adquirir a bactéria pelo contato direto com outros animais infectados ou superfícies contaminadas, pela ingestão de água ou alimento, ou pela inalação de poeira com fezes. Roedores e vetores como moscas e alguns helmintos podem servir como veiculadores da *Salmonella* sp. Indivíduos com infecções crônicas são fontes de contaminação e aves de vida livre podem ser carreadoras e servirem como reservatórios para animais mantidos em cativeiro (FRIEND, 1999; BROWN, 2000; GODOY, 2007).

Além da *E. coli* e *Salmonella*, outras enterobactérias são de importância para a clínica aviária, como as do gênero *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus* e *Enterobacter*. Dentre as espécies do gênero *Klebsiella* destacam-se *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca* como as mais comumente envolvidas em processos mórbidos em aves (AGUILAR et al., 2006). Não são conhecidas informações específicas sobre vias de transmissão, período de incubação e patogenia da *Klebsiella* spp nas aves (BROWN, 2000), entretanto podem ser patógenos do trato respiratório e intestinal que causam sinusite, aerossaculite e pneumonia (GODOY, 2007).

BROWN (2000) relatou que apesar da infecção sistêmica por *Klebsiella* spp. ser a forma mais comum, a infecção localizada acometendo seios infra-orbitários, pele e cavidade oral também pode ocorrer, principalmente, em Psitacídeos. Ainda, durante a bacteremia, geralmente ocorre a colonização dos rins, levando à falência renal e em casos crônicos os pulmões também podem ser afetados. Para BARNES, (2003), a infecção concomitante com *K. pneumoniae* aumenta a severidade de doenças respiratórias causadas por *Bordetella avium* ou *Chlamydophila psittaci*. Segundo RITCHIE et al. (1994), em alguns grupos de aves a doença evolui assintomática e só é detectada em um estágio bastante avançado quando os sintomas respiratórios começam a se manifestar.

Já as espécies do gênero *Citrobacter* (*C. freundii*, *C. amalonaticus* e *C. diversus*) são menos encontradas que os outros membros da família *Enterobacteriaceae* (RITCHIE et al, 1994). De acordo com GODOY (2007), estas espécies estão envolvidas principalmente nas infecções como agentes secundários. Aves infectadas por qualquer espécie podem morrer sem nenhum

sinal clínico ou podem exibir um curto período de depressão e diarreia antes de morrer. Aves que sobrevivem à infecção, frequentemente se tornam carreadoras do agente. RITCHIE et al. (1994) relataram ainda que existem relatos de casos de infecções humanas por *Citrobacter* devido a exposições com aves contaminadas, havendo, portanto potencial zoonótico.

O gênero *Enterobacter* inclui 16 espécies, sendo *E. aerogenes* e *E. cloacae* as espécies mais comumente isoladas de amostras biológicas. Fazem parte da microbiota entérica comensal e acredita-se que não causem diarreia, sendo que são associadas a uma variedade de infecções oportunistas que afetam vias urinárias, trato respiratório, feridas cutâneas e em alguns casos, em septicemias (KONEMAN et al., 2001).

Pesquisadores da área de saúde devem estar sempre alertas à possibilidade do aparecimento de *Enterobacteriaceae* resistente a múltiplos antibióticos. A grande maioria destas bactérias são produtores de β – lactamases de espectro ampliado (ESBLs), que representa um dos principais mecanismos de resistência bacteriana, portanto os antibióticos mais eficazes no controle das infecções são aqueles escolhidos de forma direcionada para que sejam ativos no controle das enfermidades e prevenir a resistência (KONEMAN et al, 2001; PATERSON, 2006).

1.3 – Resistência bacteriana

A descoberta e utilização de antimicrobianos para a prevenção e controle de processos infecciosos foram recebidas com grande otimismo pela classe científica. No entanto, o uso sem critério ou irracional de antibióticos e quimioterápicos trouxe algumas adversidades, sendo a maior delas a progressiva resistência bacteriana aos fármacos, um fenômeno que vem sendo observado desde a introdução destes agentes nas áreas médica e médico-veterinária (ALMEIDA & PALERMO-NETO, 2005).

As bactérias podem ser classificadas em sensíveis e resistentes aos antimicrobianos. Conforme citado por TRABULSI & TOLEDO (1989), classificam-se como resistentes, as bactérias que crescem “in vitro”, nas concentrações médias que os antimicrobianos atingem no sangue, quando administrados por via oral, enquanto são sensíveis as que não crescem nestas

concentrações. ALMEIDA & PALERMO-NETO, (2005) relatam que a resistência bacteriana pode ser natural ou adquirida. A natural corresponde a uma característica da espécie bacteriana e a adquirida, à característica de uma ou mais amostras da espécie, sendo que a aquisição de resistência por uma célula bacteriana sensível é decorrente de uma alteração genética.

Estudos recentes apontam um aumento exponencial na proporção de microrganismos resistentes a um ou mais antimicrobianos, mostrando que nos últimos anos o problema se agrava com maior velocidade, seja devido à prescrição excessiva de antibióticos por parte de médicos, o uso indiscriminado pelo público e o emprego dessas drogas na produção de animais (HARAKEH et al., 2006). O uso inadequado de antibióticos, além de suprimir a microbiota intestinal normal, rompendo o efeito protetor, pode aumentar a vantagem competitiva das bactérias resistentes, favorecendo a ocorrência de doença clínica (ELEY, 1994; PINTO, 2000). De acordo com VALADAS (2003), se fosse abolido o uso de antibióticos como promotores de crescimento na produção animal, o risco de disseminação de bactérias resistentes dos animais aos homens se reduziria consideravelmente.

Na medicina humana, são gastos anualmente 1,3 milhões de Kg de antibióticos. O consumo mundial anual de antibióticos tem sido estimado, entre 100.000 a 200.000 toneladas (KÜMMERER, 2003). Conforme observado por BRUNDTLAND (2000), o grande consumo, em sua maioria sem controle médico, causa o surgimento de cepas resistentes a estas drogas, sendo necessária a descoberta constante de medicamentos mais eficientes, o que acarreta em aumento no custo do tratamento das infecções. No entanto, até a data de publicação pelo autor, não havia sido descoberta nenhuma nova classe de antibióticos para combater as doenças infecciosas desde 1970, sendo que em média, a pesquisa e o desenvolvimento de drogas antimicrobianas levam de 10 a 20 anos.

A resistência bacteriana pode ser transferida por mecanismos diversos, podendo estabelecer-se entre microrganismos de uma mesma população (NIJSTEN et al. 1993). O desenvolvimento de resistência, além de determinar uma menor eficácia da droga, também representa um potencial risco à saúde pública, uma vez que o contato dos homens com os animais pode aumentar a ocorrência de resistência da microbiota desta espécie (BONGERS et al., 1995).

De acordo com GIBBS et al. (2007) estudar populações aviárias que não são tipicamente expostas a antimicrobianos, pode ser uma das maneiras de entender a resistência bacteriana, reconhecida como um problema emergente em todo mundo, crescente tanto para humanos quanto animais.

1.4 – *Chlamydophila psittaci*

Chlamydophila psittaci é uma bactéria intracelular obrigatória, agente causador da clamidiose aviária. A doença foi originalmente denominada psitacose, porém o termo clamidiose foi introduzido para diferenciar a doença nas aves da doença nos seres humanos, sendo a clamidiose considerada a principal zoonose transmitida por aves silvestres (RASO, 2009).

Os membros da ordem *Chlamydiales* são os únicos patógenos com o ciclo de desenvolvimento bifásico, consistindo de um corpo elementar infeccioso e de um corpo reticular não infeccioso. Até 1999, a ordem continha apenas um gênero, *Chlamydia*, com quatro espécies reconhecidas, *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* e *C. pecorum*. Recentemente a ordem foi reclassificada com base em análises taxonômicas dos genes 16S e 23S de rRna em quatro famílias, *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Woddiaceae* e *Chlamydiaceae*, sendo que a última foi dividida em dois gêneros, *Chlamydia* e *Chlamydophila*, com o total de nove espécies. Do gênero *Chlamydia*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia muridarum*, e *Chlamydia suis*, e do gênero *Chlamydophila*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila pecorum*, e quatro que correspondem à antiga *Chlamydia psittaci*, sendo eles *Chlamydophila psittaci*, patogênico para aves, *Chlamydophila abortus*, patogênica para ruminantes, *Chlamydophila caviae*, patogênico para porquinhos da Índia e *Chlamydophila felis*, patogênico para gatos (EVERETT et al, 1999).

Todas as espécies pertencentes ao gênero *Chlamydophila* são patógenos de grande significado na medicina veterinária, pois são apontados como agentes potencialmente zoonóticos. Animais que estão infectados pela forma latente, assintomáticos por um longo período são particularmente perigosos para a saúde humana. Infecções latentes por *Chlamydophila* ocorrem em condições naturais em aves, bovinos, ovinos e porquinhos da Índia. Uma relação bem equilibrada entre o hospedeiro e o microrganismo não

causa danos ao hospedeiro. No entanto, ocasionalmente a bactéria pode ser excretada e em condições desfavoráveis infectar um novo hospedeiro. A forma infecciosa do agente, os corpos elementares, permanece viável no ambiente por alguns dias até semanas sendo que o patógeno nesta forma pode ser facilmente disperso por aerossol ou ser transmitido por outros meios (VLAHOVIC´ et al., 2006).

As estirpes de *C. psittaci* têm as aves como hospedeiros naturais. Tais estirpes podem ser divididas em sorovares, conforme descrito por VANROMPAY et al. (1997), existindo seis isolados de aves (Sorovares A, B, C, D, E e F) (ANDERSEN, 1991; EVERETT et al, 1999; ANDERSEN & VANROMPAY, 2000). O sorovar A parece ser endêmico entre os papagaios, mas pode também causar doença em outros mamíferos e répteis. O sorovar B é endêmico entre pombos e perus, mas também há relatos de abortos em gado leiteiro. Os sorovares C e D foram isolados de patos e perus, porém hospedeiros específicos para os sorovares C e D não foram identificados, mas são conhecidos por representar um particular risco zoonótico na indústria de aves de produção. O sorovar F foi isolado em psitacídeos e em perus. O sorovar E já foi identificado em uma série de espécies de aves pelo mundo, mas seus reservatórios específicos não são conhecidos (ANDERSEN, 2005; HARKINEZHAD et al., 2009).

Estudos relatam o isolamento com sucesso de *Chlamydia* em um grande número de animais domésticos e selvagens. De acordo com KRAUSS et al. (2003), a doença foi identificada em 32 espécies de mamíferos. Casos esporádicos de infecções por *Chlamydia* foram relatados em répteis, sendo alguns mantidos como *pet*, como serpentes, tartarugas e camaleões.

C. psittaci produz uma doença sistêmica e ocasionalmente fatal em aves. Os sinais clínicos variam largamente em severidade e dependem da espécie aviária afetada, idade da ave e virulência e a concentração da cepa de *Chlamydochlamydia* envolvida. Clamidiose aviária pode produzir letargia, hipertermia, excreções anormais, descargas nasais e oculares e diminuição da produção de ovos, sendo que as taxas de letalidade variam muito. Em aves de companhia, os sinais clínicos mais freqüentes são conjuntivite, anorexia e perda de peso, diarreia, sinusite, biliverdinúria, descarga nasal, espirro,

lacrimejamento e dificuldade respiratória (ANDERSON & FRANSON, 2007; RASO, 2009).

Geralmente, todas as espécies de aves podem servir de fonte de infecção para humanos, no entanto, estudos revelam que a maioria das infecções vem de animais de companhia, particularmente os que mantêm o microrganismo de forma latente (VLAHOVIC´et al., 2006).

O agente é excretado de forma intermitente pelas fezes e descargas nasais. O período de excreção da bactéria durante a infecção natural pode variar dependendo da virulência da estirpe, carga infectante e estado imune do hospedeiro. No entanto, a ave pode transmitir o agente por meses. A transmissão da *Chlamydiae* ocorre principalmente através da inalação de material contaminado e algumas vezes ingestão. Grande numero de células de *C. psittaci* pode ser encontrada no exsudato do trato respiratório e em material fecal de aves infectadas (ANDRESEN & FRANSON, 2007; RODOLAKIS, 2009).

A transmissão de *C. psittaci* no ninho é possível em várias espécies, sendo que pode ocorrer quando os pais vão alimentar os filhotes pela regurgitação, através de exsudatos ou fezes. O agente também pode ser transmitido por ectoparasitas sugadores de sangue como piolhos, ácaros moscas ou menos comumente por feridas. A transmissão vertical já foi demonstrada em perus, galinhas, patos, gansos, periquitos e gaivotas. Acredita-se que ovos infectados geralmente causem morte embrionária, mas podem eclodir e dar origem a um filhote infectado, a principal via de contaminação nesse caso seria a mucosa do sistema reprodutor da mãe (ANDRESEN & FRANSON, 2007; RODOLAKIS, 2009).

O Manual de Testes de Diagnósticos e Vacinas OIE (2008), recomenda vários métodos de diagnóstico para a detecção de *C. psittaci*, sendo o isolamento e identificação considerado o método *gold standard* para o diagnóstico deste agente, no entanto, o tempo exigido para seu processamento e a necessidade de um laboratório com nível de biossegurança três, são suas desvantagens. Por isso, outras técnicas vêm sendo usadas como alternativa como teste de Imunofluorescência, ensaio imunoenzimático, imunohistoquímica, teste de aglutinação de látex, reação de fixação do complemento, aglutinação de corpo elementar, microimunofluorescência,

Imunodifusão em *Gel* de Agar, microscopia e teste de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). TREVEJO et al. (1999) fizeram um estudo comparativo entre o teste de PCR e outros usados rotineiramente e concluíram que se tratava de um teste mais rápido que os demais, com alta sensibilidade e alta especificidade, sendo uma importante ferramenta para o diagnóstico desta enfermidade.

Outro aspecto a ser considerado sobre essa enfermidade é a infecção em humanos. Em estudo no Brasil, RASO (2004) pesquisou a presença de *C. psittaci* em papagaios e araras, de vida livre e cativo, e avaliou o potencial zoonótico da enfermidade. O trabalho realizou sorologia de trabalhadores que mantêm contato próximo com aves selvagens e pode observar que a doença humana, psitacose, não é tão rara no Brasil.

ANDERSEN & FRANSON (2007) recomendaram que indivíduos que trabalham com aves selvagens, assim como proprietários de aves de companhia devem ser alertados do potencial zoonótico da clamidiose a fim de tomarem as devidas medidas de biossegurança para o manejo de aves tanto doentes como saudáveis.

Diante do exposto, foi realizado um estudo com 300 aves provenientes do comércio ilegal de animais selvagens, oriundas de diferentes regiões do Brasil e mantidas no Centro de Triagem de Animais Selvagens de Goiás (CETAS/GO).

REFERÊNCIAS

1. ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Salmonellosis. In: **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2. ed. Washington: Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud, p. 158-167, 1992.
2. AGUILAR, R. F.; HERNÁNDEZ, S. M.; HERNÁNDEZ, S. J. Medicina e patologia de aves de companhia. In: **Atlas de medicina, terapêutica e patologia de animais exóticos**. São Caetano do Sul, SP: Interbook, Cap. 08, p. 213-264, 2006.
3. ALMEIDA, R. T; PALERMO-NETO, J. Uso de anti microbianos em Avicultura e o desenvolvimento de Resistencia Bacteriana. In: **Farmacologia aplicada à Avicultura**. São Paulo, SP: ROCA, p. 161-174, 2005.
4. ANDERSEN, A. A. Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates using serovar-specific monoclonal antibodies with the microimmunofluorescence test. **Journal Clinical Microbiology**, v. 19, p. 707- 711, 1991.
5. ANDERSEN, A.A. Serotyping of US isolates of *Chlamydia psittaci* from domestic and wild birds. **Journal Veterinary Diagnosis Investigation**. v.17, p.479–482, 2005.
6. ANDERSEN, A. A., D. VANROMPAY. Avian chlamydiosis. **REVUE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DE L OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE)** v.19, p. 396- 404, 2000.
7. ANDERSEN, A. A., J; FRANSON, C. Avian Chlamydiosis. In: Nancy J. Thomas, D. Bruce Hunter, Carter T. Atkinson **Infectious Diseases of Wild Birds** Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional, p. 303-316, 2007.
8. BARNES, H.J. Miscelaneous and sporadic bacterial infections. In.: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 11 ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, p.845-862, 2003.
9. BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**. 23 ed. São Paulo: Melhoramentos, 1984, 1234 p.
10. BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, p. 185-195, 2009.
11. BONGERS, J.H., FRANSSEN, F.; ELBERS, A.R.W., TIELEN, M.J.M. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from the faecal flora of veterinarians with different professional specialities. **Veterinary quarterly**, v.17, p.146-149, 1995.

12. BROWN, N. H. H. Psittacine birds. *In*: TULLY, JR, T. N.; LAWTON, M. P. C. DORRESTEIN, G. M. **Avian medicine**. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltda, p. 116-120, 2000.
13. BRUNDTLAND, G. H. **Vencendo a resistência microbiana**. 2000. Disponível em: <<http://www.ccih.med.br/vencendoresistencia.html>>. Acesso em: 08 Outubro 2009.
14. CAMPOS, L.C.; TRABULSI, L.R. Escherichia. *In*: TRABULSI, L.R. et al. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, p.215-228, 2002.
15. CORRÊA, S.H.R. **Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo**. São Paulo, 2007, 89f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Universidade de São Paulo - Medicina Veterinária.
16. D'AOUST, J.Y.; MAURER, J.; BALEY, J.S. Salmonella Species. *In*: DOYLE, M.P. et al **Food Microbiology Fundamentals frontiers**. 2ed. Washington, DC: American Society for Microbiology. p. 141-178, 2001.
17. ELEY, A. R. **Microbial food poisoning**. London: Chapman & Hall, 191 p., 1994.
18. ESPÉCIES ameaçadas. Disponível em: <http://www.wwf.org.Br/informa/espécie.asp?lista=0&item=5&print=ok> Acesso em: 4 jan. 2008.
19. EVERETT, K.D.E.; BUSH, R.M.; ANDERSEN, A.A. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. Nov. and Simkaniaceae fam. Nov. each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. **International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology.**, v.49, p.415 – 440, 1999.
20. FERREIRA, A.J.P.; KNÖBL, T. Colibacilose aviária. *In*: BERCHIERI JR, A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 198-207.
21. FRIEND, M. Bacterial diseases. *In*: **Field manual of wildlife diseases: General field procedures and diseases of birds**. USGS – National Wildlife Health Center, University of Nebraska – Lincoln, 1999. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/zoonoticpub/12>> Acesso em: 4 nov 2009.
22. 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.

23. GODOY, S.N. Psittaciformes. *In: Tratado de animais selvagens*-medicina veterinária. São Paulo: Roca, p.222 -251, 2007. HARAKEH, S.; YASSINE, H.; EL-FADEL, M. Antimicrobial resistant patterns of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains in the aquatic Lebanese environments. **Environmental pollution**, v. 143, n. 02, p. 269-277, 2006.
24. HARKINEZHAD, T.; GEENS, T.; VANROMPAY, D. Chlamydophila psittaci infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. **Veterinary microbiology**.135(1-2):68-77, 2009.
25. HIRSH, D. C.; MACLACHLAN, N. J.; WALKER, R. L. **Veterinary Microbiology**, 2nd Edition. Massachusetts: Wiley-Blackwell. 536 p. 2004.
26. 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.
27. IBAMA – Instituto Brasileiro do meio Ambiente e Recursos Renováveis– Fauna – **Centros de Triagem de Animais Silvestres – CETAS**. Informativo Técnico. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/fauna/home.htm>. Acesso em: 12 set. 2008.
28. JUNIPER, T.; PARR, M. **Parrots: a guide to parrots of the world**. New Haven: Yale University Press, 574p, 1998.
29. KNÖBL, T.; GODOY, S.N.; MATUSHIMA, E.R.; GUIMARÃES, M.B.; FERREIRA, A.J.P. Caracterização molecular dos fatores de virulência de estirpes de *Escherichia coli* isoladas de papagaios com colibacilose aviária **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, suplemento, p. 54-60, 2008.
30. KONEMAN, E W; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M., SCHERECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed. Rio de Janeiro : Medsi, p. 494, 919-920, 2001.
31. KRAUSS, H., A. WEBER, B. ENDERS, H. D. ISENBERG, H. G. SCHIEFER, W. SLENCZKA, A. GRAEVENITZ, H. ZAHNER. **Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans**. 3th edn. ASM Press, Washington, USA p. 191-193, 2003.
32. KÜMMERER, K. Significance of antibiotics in the environment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 52, p. 5-7, 2003.
33. LOIKO, M. R.; ABILLEIRA, F.; MOTTIN, V. D.; GUEDES, N. M. R.; PASSOS, D. T.; OLIVEIRA, S. J.; WEIMER, T.A.; ALLGAYER, M.C.. OCORRÊNCIA DE *Salmonella* BRAENDERUP EM ARARA-AZUL-GRANDE (*Anodorhynchus hyacinthinus*) DE VIDA LIVRE DO PANTANAL (MATO GROSSO DO SUL, BRASIL). **Anais...** Gramado, 2008.

34. LOPES, J.C. A. **Operações de fiscalização da fauna: análise, procedimentos e resultados.** In: ANIMAIS SILVESTRES. Vida à venda. Brasília, DF: Dupligráfica, 260 p., 2002.
35. MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; LIMA, E. T., SEQUEIRA, J. L., ANDREATTI FILHO, R.L. Colisepticemia em Papagaio verdadeiro (*Amazona aestiva*) – Relato de caso. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal.** v.8, n.1, p. 56-60, jan/mar, 2007.
36. NIJSTEN, R.; LONDON, N.; BOGAARD, A.; STOBBERINGH, V.D. Antibiotic resistance of enterobacteriaceae isolated from the faecal flora of fattening pigs. **Veterinary quarterly,** v.15, n.4, p.152-157, 1993.
37. OIE. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2004.** Disponível em: < http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00105.htm>. Acesso em: 03 Dez. 2008.
38. PADRONE, J.M.P. **Comércio ilegal de animais silvestres: avaliação da questão ambiental no estado do Rio de Janeiro.** Niterói, 2004, 115p. Dissertação (Curso de pós-graduação em ciência ambiental). – Universidade Federal Fluminense.
39. PATERSON, D. L. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. **The American Journal of Medicine,** v. 119, n. 6A, p. 20-28, 2006.
40. PINTO, P. S. A. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. **Higiene Alimentar,** v. 14, n. 73, p. 39-43, 2000.
41. QUINN, P. J; MARKEY, B.K.; CARTER,N.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD,E.C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Editora Artmed, Porto Alegre. 2005. 512p.
42. RASO, T. F. **Chlamydia psittaci em psitacídeos de vida livre e cativo e suas implicações à saúde pública.** Jaboticabal, 2004. Tese (Doutorado em Patologia Animal). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/Jaboticabal. 79p.
43. RASO, T. F.; SEIXAS G.H.F., GUEDES N.M.R., PINTO A.A. *Chlamydia psittaci* in free-living Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) and Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Microbiology.** 117 (2-4), pp. 235-241.2006.
44. RASO, T.F. Clamidiose aviária in: **Patologia aviária Barueri:** Manole, p.367-374. 2009.
45. Ritchie B. W.; Harrison G. J.; Harrison L. R. **Avian medicine: principles and application.** Lake Worth, Wingers Publishing, 1384p, 1994.
46. RODOLAKIS, A., MOHAMAD, K.Y. Zoonotic potential of *Chlamydia*. **Veterinary Microbiology,** v. 140, p. 382-391, doi: 10.1016/j, 2009.

47. SEGABINAZI, S. D. **PRESENÇA DE BACTÉRIAS DA FAMÍLIA *Enterobacteriaceae* NAS SUPERFÍCIES EXTERNA E INTERNA DE *Alphitobius diaperinus* (PANZER) ORIUNDOS DE GRANJAS AVÍCOLAS DOS ESTADOS DO RIO GRANDE DO SUL E SANTA CATARINA.** Santa Maria, 2004. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria. 105 p.
48. SCHREMMER, C. J. E. LOHR; U. WASTLHUBER; J. KOSTERS; K. RAVELSHOFER; H. STEINRUCK; L. H. WIELER. Enteropathogenic *Escherichia coli* in Psittaciformes. **Avian Pathology**. V.28, p. 349-354.1999.
49. SICK, Helmut. **Ornitologia Brasileira.** Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 912p.
50. SIGRIST, T. **AVES DO BRASIL – UMA VISÃO ARTÍSTICA –2ed.** São Paulo: AVIS BRASILIS. 2006. 672 p.
51. SNYDER, N.; MCGOWAN, P.; GILARDI, J.; GRAJAL, A. **Parrots. Status Survey and Conservation Action Plan 2000.** Gland, Switzerland and Cambridge, Oxford: IUCN. Disponível em: <http://www.biologybrowser.org/node/1186916>. Acesso em maio de 2009.
52. SUSSMANN, M. *Escherichia coli* and human disease. In: SUSSMAN, M. ***Escherichia coli* mechanisms of virulence.** Cambridge, Reino Unido: University Press, p. 3-48, 1997.
53. TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. Resistência Bacteriana a Droga. In: TRABULSI, L. R. **Microbiologia.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, cap. 13, p. 86-89, 1989.
54. TREVEJO, R.T., CHOMEL, B.B., KASS, P.H. Evaluation of the polymerase chain reaction in comparison with other diagnostic methods for the detection of *Chlamydia psittaci*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**.v.11, p. 491-496, 1999.
55. VALADAS, E. Conseqüência do uso e abuso de antibióticos e de desinfetantes na cadeia alimentar e no meio ambiente. **VI Jornadas de Doenças Infecciosas na Clínica Geral (1º Parte).** RFML, série III; 8 (5): 289-290, 2003.
56. VANROMPAY, D., P. BUTAYE, C. SAYADA, R. DUCATELLE, F. HAESEBROUCK. Characterization of avian *Chlamydia psittaci* strains using omp1 restriction mapping and serovar-specific monoclonal antibodies. **Research in Microbiology**, 327-333, 1997.
57. VLAHOVIĆ, K., A. DOVČ, P. LASTA: Klamidioza u životinja s gledišta zoonoza - pregledni članak. **Veterinarski arhiv**, 76, 2006.

CAPÍTULO 2 - DETECÇÃO DE *Enterobacteriaceae* E DETERMINAÇÃO DE PERFIL DE RESISTÊNCIA DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli* EM PSITACÍDEOS PROVENIENTES DO COMÉRCIO ILEGAL DE ANIMAIS SELVAGENS EM GOIÁS

RESUMO: As enterobactérias são consideradas patógenos de potencial importância na clínica aviária, seja como agentes oportunistas ou primários nas infecções. O objetivo deste estudo foi avaliar a frequência das *Enterobacteriaceae*, além de determinar o perfil de resistência frente aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas da microbiota intestinal de psitacídeos. Para tanto, amostras de excretas foram colhidas de 300 exemplares de psitacídeos provenientes do comércio ilegal de animais selvagens e posteriormente processadas por bacteriologia convencional. Identificaram-se das excretas as seguintes bactérias da família *Enterobacteraceae*: *Escherichia coli*, 172/300 (33,87%), *Enterobacter* spp. 153/300 (30,12%), *Klebsiella* spp. 89/300 (17,73%), *Citrobacter* spp. 9/300 (11,71%), *Proteus vulgaris* 21/300 (4,23%), *Providencia alcalifaciens* 5/300 (0,98%), *Serratia* sp. 5/300 (0,98%), *Hafnia aivei* 3/300 (0,59%), *Salmonella* sp. 1/300 (0,19%). Isolados de *Escherichia coli* foram submetidos ao teste de sensibilidade à antimicrobianos, onde se obteve: amoxicilina (10µg) (70,93%), ampicilina (10µg) (75,58%), ciprofloxacina (5µg) (69,76%), cloranfenicol (30µg) (33,14%), doxiciclina(30µg) (64,53%), enrofloxacina(5µg) (41,28%), tetraciclina (30µg) (69,19%), sulfonamida (300µg) (71,51%) de resistência aos antimicrobianos testados, sendo que 40 amostras (23,25%) apresentaram resistência múltipla a três grupos de antibióticos e quatro amostras (2,32%), a quatro grupos de antibióticos. Os resultados obtidos revelam a importância dessas aves como veiculadoras de bactérias potencialmente patogênicas para outros animais e para o homem. Apontam ainda, a possibilidade das aves selvagens se constituírem em suporte de transferência de fenótipos de *E. coli* resistentes a antimicrobianos para microbiota humana e animal.

Palavras-chave: Antibióticos, aves selvagens, microbiota, tráfico.

***Enterobacteriaceae* DETECTION AND DETERMINATION OF RESISTANCE PROFILE OF ISOLATED FROM *Escherichia coli* IN PSITTACIDAE FROM THE ILLEGAL TRADE IN WILDLIFE**

ABSTRACT: Enteric bacteria are considered pathogens of potential importance in aviary clinic, either as primary or opportunistic agents in infections. The aim of this study was to evaluate the frequency of *Enterobacteriaceae*, and to determine the resistance against antimicrobial agents of *E. coli* isolated from intestinal microbiota of psittacine birds. To that end, samples of feces were collected from 300 psittacine birds from the illegal trade in wildlife and which were subsequently processed by conventional bacteriology. The following bacteria were identified in the excreta: *Escherichia coli*, 172/300 (33.87%), *Enterobacter* spp. 153/300 (30.12%), *Klebsiella* spp. 89/300 (17, 73%), *Citrobacter* spp. 9 / 300 (11.71%), *Proteus vulgaris* 21/300 (4.23%), *Providencia alcalifaciens* 5 / 300 (0.98%), *Serratia* sp. 5 / 300 (0.98%), *Hafnia aivei* 3 / 300 (0.59%), *Salmonella* sp. 1 / 300 (0.19%). Isolates of *Escherichia coli* were tested for sensitivity to antibiotics, which were obtained: amoxicillin (10mg) (70.93%), ampicillin (10mg) (75.58%), ciprofloxacin (5µg) (69.76%), chloramphenicol (30µg) (33,14%), doxycycline (30µg) (64,53%), enrofloxacin (5µg) (41,28%), tetracycline (30µg) (69,19%), sulfonamide (300µg) (71,51%) of resistance to antimicrobials, and 40 samples (23.25%) had multiple resistance to three groups of antibiotics and four samples (2.32%), four groups of antibiotics. The results show the importance of these birds as carriers of potentially pathogenic bacteria to other animals and humans. Point also the possibility that wild birds would constitute support for transfer of phenotypes of *E. coli* resistant to antibiotics for human and animal microbiota.

Keywords: Antibiotics, microbiota, traffic, wild birds.

INTRODUÇÃO

Os Psitacídeos estão entre os grupos de aves que mais sofrem com o comércio ilegal da fauna silvestre (SICK, 1997; GODOY, 2007). Conforme citado por SANCHES (2008), as aves provenientes do tráfico são em grande parte de vida livre, que foram capturadas na natureza. Esses animais comercializados ilegalmente são submetidos a condições inadequadas de transporte, alimentação, higiene e não passam por controle sanitário durante o processo. Ao serem capturadas, geralmente são alojadas em pequenas gaiolas, em grande número e em condições higiênicas precárias, o que permite e facilita o desequilíbrio fisiológico, disseminação de microrganismos e desenvolvimento da doença clínica (LOPES, 2002; RASO, 2004).

A microbiota intestinal natural de aves selvagens ainda não é bem documentada. RITCHIE et al. (1994) relataram que a microbiota de um psitacídeo saudável é composta essencialmente por bactérias Gram positivas e a presença de bactérias Gram negativas por si só, não indica enfermidade. Segundo SCHREMMER et al. (1999), o desequilíbrio com a presença de grandes quantidades de bactérias Gram negativas, pode-se constituir em um distúrbio entérico, além disso, enterobactérias presentes no intestino da ave, incluindo neste grupo tanto bactérias patogênicas como não patogênicas.

Conforme descrito por IKUNO et al. (2008) as aves silvestres possuem importância para a saúde pública por albergarem patógenos zoonóticos. O deslocamento territorial dessas aves, como que ocorre no tráfico de animais selvagens constitui em um mecanismo de estabelecimento de novos focos endêmicos de agentes infecciosos a grandes distâncias dos locais aonde foram adquiridos. As excretas das aves podem contaminar os ambientes por onde passam e, as enterobactérias podem persistir desta forma por longos períodos, particularmente em condições de baixa umidade (BARNNES et al., 2003).

O conhecimento da microbiota intestinal pode auxiliar na determinação da etiologia de doenças, podendo servir de ferramenta para medidas de controle das infecções, medir o potencial zoonótico dos agentes que acometem esses animais e também no apoio da conservação destas espécies aviárias (CORRÊA, 2007; LOIKO et al., 2008).

Além disso, de acordo com GILLIVER et al. (1999), a determinação do perfil de resistência a antimicrobianos é de interesse tanto para a espécie em estudo, como para a saúde pública. Estudos recentes apontam um aumento exponencial na proporção de microrganismos resistentes, mostrando que nos últimos anos o problema se agrava com maior velocidade, seja devido à prescrição excessiva de antibióticos por parte de médicos, o uso indiscriminado pelo público e o emprego dessas drogas para uso veterinário (HARAKEH et al., 2006). O assunto tem sido alvo de muitas pesquisas, tanto com cepas humanas quanto para as isoladas de animais (LEVY, 2002), no entanto são escassas as informações sobre resistência bacteriana em isolados de animais selvagens (GILLIVER et al., 1999).

Isolados de *E. coli* de animais e humanos possuem muitos genes em comum. Visto isso, autores sugerem que quando cepas diferentes entram em contato, existe a possibilidade de trocas genéticas entre as mesmas, e conseqüentemente, a probabilidade de surgimento de um patógeno emergente (KUHNERT et al., 2000). Alterações na resistência ou a aquisição de fatores de virulência associados na *E. coli* comensal podem servir como um “sistema de alerta” para aparecimento de resistência em bactérias com potencial patogênico (IKUNO et al., 2008).

Diante do exposto, foram colhidas amostras de excretas de psitacídeos provenientes do comércio ilegal de animais selvagens recém chegados ao CETAS/GO, realizada a detecção de enterobactérias e determinado o perfil de sensibilidade dos isolados de *E. coli* frente a antibióticos de uso rotineiro na clínica veterinária e humana.

MATERIAL E MÉTODO

Local

O experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária (EV) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Goiás (CETAS/GO).

Animais e coleta das amostras

Foram utilizados 300 psitacídeos oriundos do Centro de Triagem de Animais Selvagens (CETAS/GO), localizado em Goiânia-GO, resultantes de apreensão provenientes de ações contra o comércio ilegal de animais.

Para a coleta das excretas, as aves eram transferidas para uma gaiola forrada, com papel alumínio, onde permaneceram por aproximadamente uma hora. Após esse tempo, cerca de um grama de excretas era colhido e imediatamente acondicionadas em recipiente esterilizado contendo 2 mL de água peptonada a 0,1% e imediatamente transportadas ao laboratório em embalagem isotérmica, tipo isopor com gelo reciclável, onde foram processadas.

Pesquisa de *Enterobacteriaceae*

No laboratório, o conteúdo dos recipientes foi fracionado em duas alíquotas aproximadamente iguais. Uma das frações foi inoculada em caldo selenito cistina e outra em caldo Rapport Vassalis, os quais foram incubados a 37 °C por 18 - 24h.

Em sequência, alíquotas dos caldos foram estriadas para os ágar verde brilhante, Hektoen e XLT-4, de acordo com o proposto por NASCIMENTO et al. (2000), incubados a 37°C por 18-24h. De cada meio seletivo foram transferidas de três a cinco unidades formadoras de colônias com características morfológicas similares para tubos contendo o ágar tríplice açúcar ferro (TSI) e incubados a 37 °C por 24h.

Após esse período, de acordo com as características de crescimento bacteriano no TSI, procedeu-se a seleção de três tubos com características similares e determinou-se o perfil fenotípico por meio dos seguintes testes: produção de urease, de indol, de H₂S, prova do vermelho de metila, prova de motilidade, utilização de glicose, lactose, citrato de Simmons, do malonato e desaminação de fenilalanina e os resultados foram interpretados de acordo com quadros de referência (KONEMAN et al., 2001; HENDRIX, 2005).

As amostras isoladas e tipificadas como cepas de *E. coli*, foram submetidas a testes de patogenicidade, hemólise em ágar sangue (HELLER & DRABKIN, 1977) e ao Vermelho do Congo (GUDOGAN et al., 2006), e sensibilidade aos antibióticos e quimioterápicos (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS - NCCL, 2002).

Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Após a identificação das enterobactérias, isolados com perfil fenotípico de *E. coli* foram submetidas ao teste de sensibilidade frente aos seguintes antibióticos: amoxicilina (10µg), ampicilina (10µg), ciprofloxacina (5µg), cloranfenicol (30µg), doxiciclina (30µg), enrofloxacina (5µg), tetraciclina (30µg), sulfonamida (300µg).

Com uma agulha de níquel-cromo transferiram-se cinco unidades formadoras de colônia com características morfológicas semelhantes para 5 mL de caldo casoy. Incubou-se o caldo inoculado até atingir a turvação de 0.5 na escala de Macfarland. Então um suabe foi umedecido no caldo, pressionando contra as paredes do tubo para remover o excesso e esfregado em várias direções sobre a superfície de uma placa de petri contendo o ágar Mueller-Hinton, até obter uma camada uniforme e homogênea do inóculo. Aguardava-se em torno de 15 minutos para ocorrer a difusão do caldo com inóculo no ágar e então depositavam-se os discos de antimicrobianos sobre a superfície inoculada com o auxílio de uma pinça. Os discos eram pressionados para uma melhor aderência ao meio, e mantidos a uma distancia de aproximadamente 3 cm um do outro. Depois de serem colocados os discos, as placas eram incubadas na posição invertida por 18-24 horas à temperatura de 35-37°C. Após esse período, procedia-se a leitura dos halos de inibição com o

auxílio de uma régua e os resultados eram interpretados de acordo com uma tabela (tabela padrão interpretativo zona-halos de inibição recomendados pelo Cefar-diagnósticos) considerando a concentração do disco.

Análise estatística

Para interpretação dos resultados obtidos, foi feita análise da frequência dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser visualizado na Tabela 1, diferentes agentes microbianos foram isolados das excretas examinadas. Foram identificados das excretas das aves, as seguintes bactérias da família *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli*, 172/300 (33,87%), *Enterobacter* spp. 153/300 (30,12%), *Klebsiella* spp. 89/300 (17,73%), *Citrobacter* spp. 9/300 (11,71%), *Proteus vulgaris* 21/300 (4,23%), *Providencia alcalifaciens* 5/300 (0,98%), *Serratia* sp. 5/300 (0,98%), *Hafnia aivei* 3/300 (0,59%), *Salmonella* Tiphymurium 1/300 (0,19%), sendo que em muitas amostras mais de uma espécie foi detectada (508/300).

TABELA 1 - Frequência de bactérias isoladas de 300 amostras de excretas de 300 psitacídeos do Centro de Triagem de Animais Selvagens (CETAS/GO) ao longo do ano de 2008

Amostras bacterianas	N	Percentual %
<i>Escherichia coli</i>	172	33,87%
<i>Enterobacter</i> spp.	153	30,12%
<i>Klebsiella</i> spp.	89	17,73%
<i>Citrobacter</i> spp.	9	11,71%
<i>Proteus</i> spp.	21	4,23%
<i>Providencia alcalifaciens</i>	5	0,98%
<i>Serratia</i> spp.	5	0,98%
<i>Hafnia aivei</i>	3	0,59%
<i>Salmonella</i> Tiphymurium	1	0,19%
Total	508	100%

E. coli destacou-se como a bactéria mais isolada 170/300 (33,87%) (Tabela 1). Contudo, mesmo ela sendo recuperada de cultura pura, pesquisadores possuem opiniões diferentes quanto a sua participação em quadros entéricos. A microbiota intestinal de psitacídeos saudáveis é composta quase exclusivamente por bactérias Gram positivas, como as dos gêneros *Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Gaffkya* spp., *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. hemolíticos. Por isso, alguns autores consideram a colonização intestinal de psitacídeos por bactérias Gram negativas como um sinal de doença e recomendam tratamento com

antimicrobianos (BOWMAN & JACOBSON, 1980; BANGERT et al., 1988; FLAMMER & DREWES, 1988; RITCHIE et al., 1994; MARIETTO-GONÇALVES et al., 2007), outros autores sugerem que a *E. coli* não é um componente da microbiota entérica de psitacídeos e, portanto sua presença estaria associada com a ocorrência de alguma patologia (HOEFER, 1997; MATTES et al, 2005).

Por outro lado, existem pesquisadores que sugerem a existência de *E. coli* como componete da microbiota normal de psitacídeos, mas que podem causar doença clínica em aves imunossuprimidas, algumas vezes associada a outras enterobactérias ou leveduras oportunistas (CUBAS & GODOY, 2004; AGUILAR, 2006; GODOY, 2006), em psitacídeos doentes ou submetidos ao estresse de captura e de transporte (RAPHAEL & IVERSON, 1980; PANIGRAHY & HARMON, 1985; MATTES et al., 2005).

BOWMAN & JACOBSON (1980) realizaram um trabalho com oito espécies diferentes de psitacídeos clinicamente saudáveis, e relataram uma baixa porcentagem de isolamento de bactérias Gram negativas, sendo *E. coli* e *Enterobacter* spp. isoladas com maior frequência. Também FLAMMER & DREWES (1988), detectaram em psitacídeos, frequência de 91% de isolamento de bactérias Gram positivas e das bactérias Gram negativas isoladas (9%), os autores descreveram o isolamento de 31% de *Escherichia coli*, 4% de *Enterobacter* spp., 0,6% de *Klebsiella* sp., 0,8 % de *Pseudomonas* spp., além de 5% de leveduras.

Em trabalho similar, BANGERT et al. (1988) verificaram a predominância de *E. coli* em amostras de excretas de psitacídeos clinicamente saudáveis. O mesmo foi relatado por SAIDERBERG (2008), com amostras oriundas de filhotes de psitacídeos de vida livre, onde obteve 100% de amostras positivas para *Enterobacteriaceae* sendo, 62,5% de *E. coli*. Esta alta frequência de bactérias Gram negativas recuperadas de aves em meio selvagem, aponta para a possibilidade do ninho ser a fonte de infecção. Isto porque os ninhos no meio natural acumulam fezes e matéria orgânica, além da possível utilização prévia por outras espécies que possuem microbiota entérica diversa a de psitacídeos.

Portanto, somente o isolamento de *E. coli* a partir de amostras de fezes e conteúdo intestinal não foi suficiente para estabelecer o diagnóstico da enfermidade. Pesquisadores revelam que a capacidade da bactéria em se

corar pelo vermelho do Congo pode ser associada com a patogenicidade da cepa (CORBETT et al., 1987; QADRI et al., 1988; FLAMMER & DREWES, 1988; YODER, 1989; CONSTANTINIU et al., 2001). Por isso realizou-se o teste em ágar vermelho Congo para avaliar a invasibilidade das amostras isoladas (GUDOGAN et al., 2006). De acordo com VILELA et al., (2006) as amostras invasivas se coram em vermelho e as não invasivas não se coram e ficam transparentes. Das 172 amostras isoladas, 47 amostras foram positivas no teste, representando 27,4% das amostras como potencialmente patogênicas.

Além do teste do Vermelho do Congo, as amostras foram submetidas ao teste de hemólise para detectar a presença de hemolisina, em ágar sangue (FORTES, 2008). Neste teste, apenas 15/172 (8,7%) amostras foram positivas, sendo que apenas duas das amostras foram positivas aos dois testes. Por isso, outras investigações necessitam ser realizadas para a obtenção de dados mais conclusivos.

Foi obtido no estudo, um alto isolamento 153/300 (30,12%) de bactérias do gênero *Enterobacter*. Este achado pode ser respaldado em ROOSKOPF & WOERPEL (1995), que afirmaram que esse gênero é comumente isolado em amostras de cloaca, fezes e olhos de psitacídeos, podendo estar associados como agente secundário em infecções sistêmicas, respiratórias e intestinais.

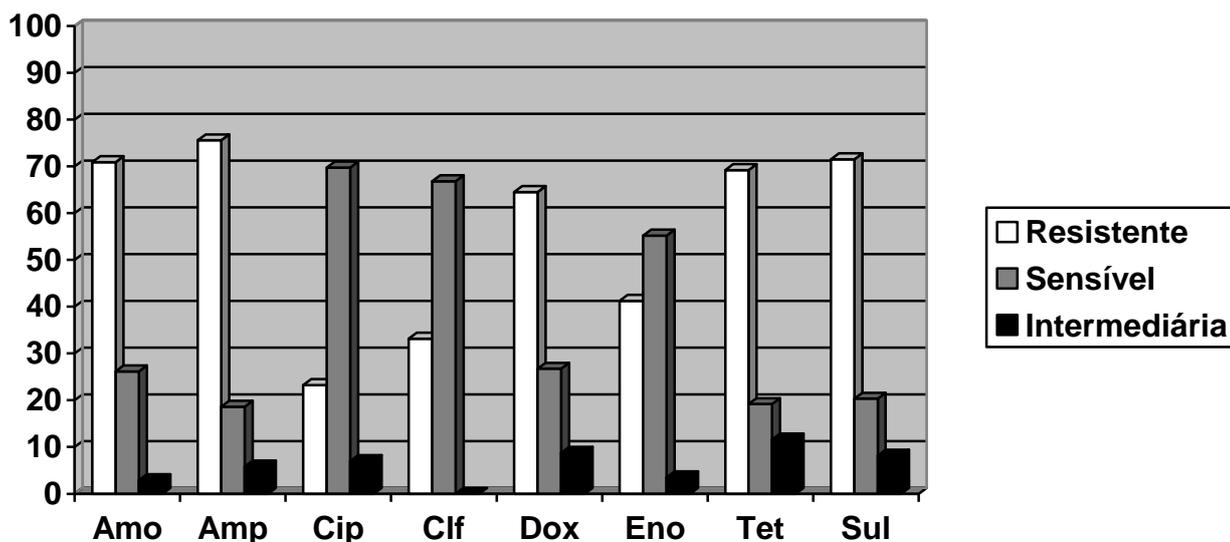
Outro gênero identificado com uma frequência alta, 89/300 (17,73%), foi *Klebsiella* spp. Para CUBAS (2004) e AGUILAR et al. (2006), este agente é raramente detectado em aves saudáveis e comumente associado com infecções respiratórias tanto de aves quanto de humanos, podendo também ser detectado como agente primário em patologias.

Das 508 enterobactérias isoladas, apenas uma amostra do gênero *Salmonella* foi encontrada, sendo que a mesma foi enviada para tipificação no laboratório do instituto FioCruz-RJ e caracterizada como *Salmonella* Typhimurium. Este resultado corrobora com os dados obtidos por outros autores, tanto em trabalhos em que foram abordados psitacídeos de vida livre (WILSON & MACDONALD, 1967; STEELE & GALTON, 1971; LOPES, 2005; LOIKO, et al 2008) quanto nos trabalhos com aves cativas (MADEWELL & MCCHESENEY, 1975; DORRESTEIN et al., 1985; PANIGRAPHY & GILMORE, 1983; OROSZ, 1992; GATTAMORTA et al. 2003), nos quais foi observado uma baixa ocorrência de *Salmonella* em aves desta ordem aviária. No entanto,

foram relatados surtos esporádicos na literatura por esta patogenia (GRIMES & ARIZMENDI, 1992; WARD et al., 2003). Por outro lado, LOPES et al. (2005) não isolaram a bactéria em nenhuma das amostras analisadas nos suabes cloacais no cultivo bacteriano.

Deve ser ressaltado que aves aparentemente saudáveis ou mesmo infectadas podem portar a *Salmonella* no seu organismo, ou seja, podem ser portadoras inaparentes, e excretar o patógeno de forma intermitente. Aves de vida livre são apontadas como potenciais carreadoras de patógenos para criações comerciais (GOPEE et al, 2000) ou mesmo para o homem, pelo contato íntimo quando mantidos como *pet* (KANASHIRO et al, 2002). Por isso, psitacídeos destinados à programas de soltura e reintrodução ao ambiente natural devem ser avaliados quanto a presença desse patógeno.

Paralelamente ao isolamento e identificação das *Enterobacteriaceae*, fez-se a determinação do perfil de sensibilidade das 172 amostras de isolados de *Escherichia coli*. Onde se obteve: amoxicilina (10µg) 122/172 (70,93%), ampicilina (10µg) 130/172 (75,58%), ciprofloxacina (5µg) 40/172 (69,76%), cloranfenicol (30µg) 57/172 (33,14%), doxiciclina (30µg) 110/172 (64,53%), enrofloxacina (5µg) 71/172 (41,28%), tetraciclina(30µg) 119/172 (69,19%), sulfonamida (300µg) 123/172 (71,51%) de resistência (Figura 1). Acrescenta-se ainda que 40 amostras tiveram resistência múltipla a três grupos de antibióticos e quatro amostras a quatro grupos.



Legenda: Amoxicilina - AMO; Ampicilina - AMP; Ciprofloxacina - CIP; cloranfenicol - CLF; Doxiciclina - DOX, Enrofloxacina - Eno, tetraciclina - T e Sulfonamidas - Sul.

FIGURA 1 - Percentual de sensibilidade e resistência de amostras de *Escherichia. coli* isoladas de psitacídeos do CETAS/GO , frente aos diversos antimicrobianos

E. coli é um microrganismo intestinal muito utilizado em pesquisa, sendo capaz de facilmente adquirir e transferir resistência a antibióticos, além de que muito se sabe sobre sua ecologia e bioquímica. Portanto é um bom bioindicador para estudos de observação da resistência antimicrobiana, além de que existem vários estudos realizados para o melhor entendimento da resistência nessa bactéria (VON BAUM & MARRE, 2005). A preocupação não está apenas com as bactérias patogênicas, mas também com as comensais, que colonizam determinados sítios e constituem um reservatório de genes de resistência, o que pode acarretar em sérios problemas decorrente da possibilidade de transferência destes genes de resistência e fatores de virulência entre as bactérias de populações humanas e animais (AMINOV et al, 2001).

Neste estudo procurou-se usar antibióticos e quimioterápicos de uso comum na medicina humana e veterinária, considerando que as aves em sua maioria são provenientes de vida livre, e é provável que nunca tenham passado

por tratamentos com antibióticos, mas tiveram contato com humanos e outros animais fora de seu ambiente natural.

De acordo com o que pode ser observado na Figura 1, os antibióticos β -lactâmicos, amoxicilina e ampicilina, obtiveram resultados de resistência similares (70,93% e 75, 58%). Tal resultado pode ser justificado pela produção de β -lactamase por algumas enterobactérias, o que provavelmente confere uma resistência natural a esses antibióticos e corrobora com resultados obtidos por GIBBS et al. (2007), em estudo com passeriformes de vida livre. As tetraciclina e doxiciclina, também apresentaram resultados similares, respectivamente 64, 53% e 69,19%.

As quinolonas, ciprofloxacino e enrofloxacino, foram os quimioterápicos que apresentaram maior eficácia, 40/172 (23,25%) e 71/172 (41,28%). Observa-se que mesmo havendo uma eficácia similar, o antibiótico lançado mais recentemente no mercado, obteve um percentual superior de eficácia frente a *E. coli*. Acredita-se que essas quinolonas selecionam mutantes resistentes numa frequência ainda bastante pequena, porém é provável que os microrganismos resistentes as quinolonas mostram reação cruzada com outros antimicrobianos (SPINOSA et al., 2002). Foi observado resistência por cloranfenicol, em 57 amostras bacterianas, com 33,14% de resistência. Deve ser considerado que ocorre resistência cruzada entre cloranfenicol e outros antibióticos, como macrolídeos e as lincosamidas (SPINOSA et al., 2002). Já o representante do grupo das sulfas, sulfonamidas, quimioterápico amplamente usado na medicina humana e veterinária, mostrou um alto percentual de resistência, com 123/172 (71,51%) das amostras.

Entende-se que a resistência bacteriana é o resultado de uma interação entre agentes microbianos, microrganismos e meio ambiente. A utilização desordenada de antibióticos nas medicinas humana e veterinária vêm causando sérias implicações em todo mundo, resultando em maior dificuldade na cura clínica, sendo considerado um dos maiores problemas de saúde pública da atualidade (RODRIGUES & FONSECA, 2006). No entanto, já foi documentado por alguns autores que a resistência bacteriana pode ser adquirida independentemente do uso de drogas (KHACHATRYAN et al, 2004).

KANG et al. (2005) relataram que as amostras de *E. coli* isoladas de animais já são resistentes à maioria dos antimicrobianos comumente usados,

como as tetraciclina, sulfametoxazole, ampicilina, estreptomicina e carbenicilina. Segundo BAUM (2005), a resistência por *E. coli* a pelo menos duas classes de agentes antimicrobianos é um achado comum na atualidade, fato que restringe as opções terapêuticas.

CONCLUSÕES

Constatou-se que os psitacídeos podem ser veiculadores de bactérias potencialmente patogênicas para outros animais e homens. Foi constatado também que *E. coli* mostrou um alto perfil de resistência aos antimicrobianos, podendo se constituir em suporte de transferência de fenótipos de *E. coli* resistentes para a microbiota humana e de outros animais.

REFERÊNCIAS

1. AGUILAR, R. F.; HERNÁNDEZ, S. M.; HERNÁNDEZ, S. J. Medicina e patologia de aves de companhia. *In: Atlas de medicina, terapêutica e patologia de animais exóticos*. São Caetano do Sul, SP: Interbook, Cap. 08, p. 213-264, 2006.
2. ALLGAYAR, M.C. **Detecção de salmonella sp. em psitacídeos de cativeiro através da reação em cadeia da polimerase (PCR)**. Porto Alegre, 2003. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 54p.
3. AMINOV, R.I.; GARRIGUES-JEANJEAN, N.; MACKIE, R.I. Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation o primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribossomal protection proteins. **Applied Environmental Microbiology**, v.67, p.22-32, 2001.
4. BANGERT, R. L.; CHO, B. R.; WIDDERS, P. R.; EHLERS, M. N.. A survey of aerobic bacteria and fungi in the feces of healthy psittacine birds. **Avian Diseases**, v.32, p.46–52, 1988.
5. BARNES, H.J.; VAILLANCOURT, J.P.; GROSS, W.B. Colibacillosis. *In: SAIF, Y.M. Diseases of Poultry*. 11ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, p.631-656, 2003.
6. BAUM, V.H.; MARRE, R. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* and Therapeutic implications. **International Journal of Medical Microbiology**. V.295 pg. 503-511. 2005.
7. BOWMAN, T. A.; JACOBSON, E. R. Cloacal flora of clinically normal captive psittacine birds. **Journal of Zoo Animal Medicine**, v. 11, p.81–85, 1980.
8. BROWN, N. H. H. Psittacine birds. *In: TULLY, JR, T. N.; LAWTON, M. P. C.; DORRESTEIN, G. M. Avian medicine*. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltda, p. 116-120, 2000.
9. CONSTANTINIU, S.; BUZDUGAN, I.; ROMANIUC, A.; COZMA, L.; FILIMON, R.; DUMBRAVA, M.; NISTOR, A.; TEODORU, L.; ONU, P.; DANIS, G. Serotypes of *Escherichia coli* enteroinvasive in northeastern districts of Romania. **The Journal of Preventive Medicine**, v.9, n.3, p.67-73, 2001.
10. CORBETT, W.T.; BERKHOFF, H.A.; VINAL, A.C. Epidemiological Study of the Relationship between Congo Red Binding *Escherichia coli* and Avian Colisepticemia. **Canadian Journal of Veterinary Research**.v. 51: 312-315, 1987.
11. CORRÊA, S.H.R. **Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo**. São Paulo,

- 2007.Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Universidade de São Paulo - Medicina Veterinária, 89 p.
- 12.CUBAS, Z. S.; GODOY, S. N. **Algumas doenças de aves ornamentais**, 2004 Disponível em: <<http://www.abma.com.br/2004/notes/207.pdf>> Acesso em: 4 nov 2009.
 - 13.CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens - medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, 1354 p.
 - 14.CUBAS, Z.S. Natural diseases of free-ranging birds in South America. *In*: FOWLER, M.E. **Zoo & wild animal medicine: current therapy**, 3. Philadelphia: Saunders, p.166-172, 1993.
 - 15.DORRESTEIN, G. M.; BUITELAAR, M. N.; VAN DER HAGE, M. H.; ZWART, P. Evaluation of a bacteriological and mycological examination of psittacine birds. **Avian Diseases**, v.29, n.4, p. 951-962, 1985.
 - 16.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**. 32:79–83, 1988.
 - 17.FORTES, F.B.B. Perfil bioquímico de amostras de *Escherichia coli* isoladas de materiais avícolas no Estado do Rio Grande do Sul e sua relação com a patogenicidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, n.3, p.339-340, 2008.
 - 18.GATTAMORTA, M.A.; KOLESNIKOVAS, C. K. M.; GREGO, K. F.; MATUSHIMA, E. R. Determinação pós-morte de Patógenos Bacterianos e Fúngicos de Animais Selvagens no Período de 1998-1999. *In*: VI CONGRESSO E XI ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS. **Anais...** São Pedro: Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens, 2003.
 - 19.GERLACH, H. Bacterial diseases. *In*: HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. **Clinical avian medicine and surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 434-453, 1986.
 - 20.GIBBS, P. S.; PETERMANN, S. R.; WOOLEY, R. E. Comparison of several challenge models for studies in Avian Colibacillosis **Avian Diseases**. v.48, p.751–758, 2004.
 - 21.GIBBS, P. S.; KASA,R.; NEWBREY, J.L.; PETERMANN, S.R.; WOOLEY,R.E.; VINSON,H.M.; AND 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.
22. GILLIVER, M. A.; BENNETT, M.; BEGON, M.; HAZEL, S. M. Y.; HART, C. A. Antibiotic resistance found in wild rodents. **Nature**, p.401-233, 1999.
23. GOPEE, N. V. ADESIYUN, A. A; CAESAR, K. Retrospective and longitudinal study of salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. **Journal of wildlife disease**, v. 36, n. 2, p.284-293, 2000.
24. GODOY, S.N. Psittaciformes. *In: Tratado de animais selvagens - medicina veterinária*. São Paulo: Roca, p.222 -251, 2007.
25. GRIMES, J.E; ARIZMENDI, F. Survey of clinical psittacine bird sera for *Salmonella typhimurim* agglutinins. **Avian Diseases**, v.36, n.3, p. 813-815, 1992.
26. GUDOGAN, N. ;CITAK, S. ;TURAN,E. ;Slime production, Dnase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurized milk and ice cream samples. **Food control**, v.17, p.389-392, 2006.
27. HARAKEH, S.; YASSINE, H.; EL-FADEL, M. Antimicrobial resistant patterns of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains in the aquatic Lebanese environments. **Environmental pollution**, v. 143, n. 02, p. 269-277, 2006.
28. HELLER, E. D; DRABKIN, N. Some characteristic of pathogenic *E. coli* strains. **British Veterinary Journal**, v.133, p.572-578, 1977.
29. HENDRIX, C.M. **Procedimentos laboratoriais para técnicos veterinários**. 4. ed. São Paulo: Rocca, 2005, 556p.
30. HOEFER, H.L. Diseases of the gastrointestinal tract. *In: ALTMAN, R Avian medicine*.B.; CLUBB, S.L.; DORESTEIN, G.M.; QUESENBERY, K. (Eds.). *and surgery*. Philadelphia: Saunders, p.419-453, 1997.
31. IKUNO, A.A. GAMA, N.M.S.Q.; GUASTALLI; E.A.L. GUIMARÃES, M.B.; & FERREIRA, V.C.A. CARACTERÍSTICAS DE ISOLADOS DE *ESCHERICHIA COLI* PROVENIENTES DE AVES SILVESTRES QUANTO A GENES DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS. **Anais 35° Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Gramado. 2008.
32. KANG, H.Y.; JEONG, Y.S.; OH, J.Y.; TAE, S.H.; CHOI, C.H.; MOON, D.C.; LEE, W.K.; LEE, Y.C.; SEOLI, S.Y.; CHO, D.T.; LEE, J.C. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from humans and animals in Korea. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. V.55. p 639-644, 2005.

33. KANASHIRO, A.M.I. et al. Persistencia de *Salmonella* sp após antibioticoterapia em psitacídeos pertencentes a um criadouro comercial. **Arquivo do Instituto Biológico**. V60, n2, p 99-101, São Paulo, 2002.
34. KHACHATRYAN, A.R.; HANCOCK, D.D.; BESSER, T.E.; CALL, D.R. Role of calf-adapted *Escherichia coli* in maintenance of antimicrobial drug resistance in dairy calves. **Applied and Environmental Microbiology** 71, 752-757, 2004.
35. KONEMAN, E. W; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M., SCHERECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, p. 494, 919-920, 2001.
36. KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment . **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, p.107-117, 2000.
37. LEVY, C. E. **Manual de Microbiologia clínica aplicada ao controle de infecção hospitalar**. Associação Paulista de estudos e controle de infecção hospitalar. 2 ed. 2002.
38. LOIKO, M. R.; ABILLEIRA, F.; MOTTIN, V. D.; GUEDES, N. M. R.; PASSOS, D. T.; OLIVEIRA, S. J.; WEIMER, T.A.; ALLGAYER, M.C.. OCORRÊNCIA DE *Salmonella* BRAENDERUP EM ARARA-AZUL-GRANDE (*Anodorhynchus hyacinthinus*) DE VIDA LIVRE DO PANTANAL (MATO GROSSO DO SUL, BRASIL). **Anais...** Gramado, 2008.
39. LOPES, J.C. A. **Operações de fiscalização da fauna: análise, procedimentos e resultados**. In: ANIMAIS SILVESTRES. Vida à venda. Brasília, DF: Dupligráfica, 260 p., 2002.
40. LOPES, L.F.L.; ZIMOVSKI, I. M.; GATTAMORTA, M. A.; SANCHES, T. C.; JOPPERT, A.; MATUSHIMA, E. R. Investigação sobre a frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em aves silvestres no estado de São Paulo. In: IX CONGRESSO E XIV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 2005, **Anais...** São José do Rio Preto: Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens, p. 38, 2005.
41. MADEWELL, B.R.; McCHESNEY, A.E. Salmonellosis in a human infant, a cat, and two parakeets in the same household. **Journal Animal Veterinary Medicine Association**, v.167,n.12, p.1089-1090, 1975.
42. MATTES, B.R., Consiglio, S. de A.S; de Almeida, B.Z.; Guido, M.C.; Orsi, R.B.; da Silva, R.M.; Costa, A.; Ferreira, A.J.P.; Knöbl, T. Influencia da biossegurança na colonização intestinal por *Escherichia coli* em psitacídeos. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.72,n.2, p.13-16, 2005.
43. MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; LIMA, E. T., SEQUEIRA, J. L., ANDREATTI FILHO, R.L. Colisepticemia em Papagaio verdadeiro

- (*Amazona aestiva*) – Relato de caso. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**. Bahia, v.8, n.1, p. 56-60, 2007.
44. NASCIMENTO, M. S.; BERQUIERI JUNIOR, A.; BARBOSA, M. D.; ZANCAN, F. T.; ALMEIDA, W. A. F. Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento utilizados na pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango e fezes de aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.1, p.85-91, 2000.
45. NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Bacterial from animal**. 2002. p.1234.
46. OROSZ, S. E. *Salmonella enteritidis* infection in two species of psittaciformes. **Avian Diseases**, v.36, n.3, p.766-769, 1992.
47. PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, S.H.; GORNIK, S.L. Farmacologia Aplicada a Avicultura. São Paulo, 366 p., 2005.
48. PANIGRAPHY, B.; GILMORE, W.C. Systemic salmonellosis in an African gray parrot and salmonella osteomyelitis in canaries. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.183, n.6, p.699-700, 1983.
49. PANIGRAHY, B. & HARMON, B.G. Bacterial septicemias in two psittacine birds. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.186, n.9, p. 983-984, 1985.
50. QADRI, F.; HOSSAIN, S.A.; CIZNAR, I.; HAIDER, K.; LJUNGH, A.; WADSTROM, T.; SACK, D.A. Congo Red Binding and Salt Aggregation as Indicators of Virulence in *Shigella* Species. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 26, N.7, p.1243-1348. 1988.
51. RASO, T. F. SEIXAS G.H.F., GUEDES N.M.R., PINTO A.A. *Chlamydophila psittaci* in free-living Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) and Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Microbiology**. 117 (2-4), p. 235-241, 2006.
52. RAPHAEL, B.L. & IVERSON, W.O. Coligranuloma and psittacosis in an Amazon parrot. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.177, n.9, p.927-929, 1980.
53. RITCHIE B. W.; HARRISON G. J.; HARRISON L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth, Wingers Publishing, 1994. 1384p.
54. ROOSKOPF, W. & WOERPEL, R. **Diseases of Cage and Aviary Birds**. Baltimore, Pennsylvania - USA, Williams & Wilkins A waverly Company, 1996, 650 p.
55. RODRIGUES, D.P.; FONSECA, E.L. Resistencia Antimicrobiana. **Manual de Procedimentos para a Determinação de Suscetibilidade Antimicrobiana em Enterobactérias**. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ-

Laboratório de Referência Nacional de Cólera e outras Enteroinfecções Bacterianas LRNCEB/LABENT. 2006.

56. SCHREMMER, C. et al. Enteropathogenic *Escherichia coli* in Psittaciformes. **Avian Pathology**. v.28, p. 349-354,1999.
57. SICK, Helmut. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 912p.
58. STEELE, J. H.; GALTON, M. M... Salmonellosis. *In: Infectious and Parasitic Diseases of Wild Birds*, J. W. Davis et al. (eds.). Iowa State University Press, Ames, Iowa, p.51-58, 1971.
59. STYLES, D. K.; FLAMMER, K. Congo Red Binding of *Escherichia coli* Isolated from the Cloacae of Psittacine Birds **Avian Diseases**, v. 35, N. 1, p. 46-48, 1991.
60. STEBBINS, M.E.; BERKHOFF, H.A.; CORBETT, W.T. Epidemiological Studies of Congo Red *Escherichia coli* in Broiler Chickens. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.56, p.220-225, 1992.
61. SANCHES, T.C. **Causas de morte em Passeriformes: Comparação entre aves de vida livre residentes na Região metropolitana de São Paulo e aves oriundas do tráfico**. São Paulo, 2008, Dissertação (Mestrado em patologia veterinária). Universidade de São Paulo (USP). 169p.
62. SAIDENBERG, A.B.S. **Deteção de fatores de virulência de *Escherichia coli* isoladas de psitacídeos com diferentes manifestações clínicas**. São Paulo. 2008. Dissertação (mestrado) Universidade de São Paulo (USP). 91 p.
63. SANTIAGO, F. E.; THOMAS, S. W.; WINKWORTH, C. L.; RILEY, M. A. Genomic divergence of *Escherichia coli* strains: evidence for horizontal transfer and variation in mutation rates. **International Microbiology**. v. 8, n.4, p.271-278, 2005.
64. SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L. BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3ed. São Paulo: Guanabara Koogan. 2002. 752p.
65. VILELA, S.M.O.; PNHEIRO JUNIOR, J.; BARBOSA, R.A.; MEDEI, ES.; MOTA, A. Surto de colisepticemia em peodeiras comerciais provenientes de granjas do estado de Pernambuco. **Ciencia Veterinária Tropical**, Recife-PE, v.9, n.1, p.36-40, Jan-Abril, 2006.
66. VON BAUM, H.; MARRE, R. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and therapeutic implications. **International Journal of Medical Microbiology**, v.295, p.503-51, 2005.
67. WARD, M. P.; RAMER, J. C.; PROUDFOOT, J.; GARNER, M. M.; JUAN-SALLES, C.; WU, C. C. Outbreak of salmonellosis in a zoologic collection of

lorikeets and lorries (*Trichoglossus*, *Lorius* and *Eos* spp). **Avian Diseases**, v.47, p.493–498, 2003

68. WILSON, J.E.; MACDONALD, J.W. Salmonella infection in wild birds. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.123, n.5, p.212-219, 1967.

69. YODER, H. W. J. Congo Red Binding by *Escherichia coli* Isolates from Chickens **Avian Diseases**, v. 33, n. 3, p.502-505, 1989.

CAPÍTULO 3 - DETECÇÃO DE *Chlamydophila* spp. EM PSITACÍDEOS PROVENIENTES DO COMERCIO ILEGAL DE ANIMAIS SELVAGENS EM GOIÁS

RESUMO: *Chlamydophila* spp. é uma bactéria intracelular de aves e mamíferos que pode ser transmitida ao homem, considerado o principal agente zoonótico veiculado por aves selvagens. O objetivo deste estudo foi examinar 300 psitacídeos provenientes do comercio ilegal de animais selvagens no CETAS/GO quanto ao estado físico e presença de *C. psittaci*. As aves foram catalogadas, avaliados o estado nutricional, condições físicas e pigmentação das penas, presença de ectoparasitos, fraturas, secreções nasal e ocular, dificuldade respiratória, estertores, desordens entéricas e aspecto das fezes. Foram colhidos suabes traqueais e cloacais que foram processados por reação em cadeia de polimerase (PCR) para a detecção de *Chlamydophila* spp. Das 300 amostras colhidas, 11/300 (3,66%) foram positivas na análise pela PCR, porém apenas duas das aves apresentaram clínica compatível. O resultado nos permite supor que psitacídeos provenientes do comércio ilegal de animais selvagens são potenciais veiculadores de *Chlamydophila* para humanos e outros animais, reforçando sua importância para saúde pública.

Palavras-chave: Clamidiose, psitacose, tráfico, zoonose.

DETECTION OF *Chlamydophila* spp. IN PSITTACIDAE FROM THE ILLEGAL TRADE IN WILDLIFE

ABSTRACT: *Chlamydophila* spp. is an intracellular bacterial of birds and mammals that can be transmitted to man, considered the main zoonotic agent transmitted by wild birds. The objective of this study was to examine 300 parrots from the illegal trade of wildlife in CETAS / GO on the physical status and the presence of *Chlamydophila* spp. The birds have been cataloged, evaluated the nutritional status, physical condition and pigmentation of feathers, the presence of ectoparasites, fractures, nasal and eye secretions, difficulty breathing, crackles, and enteric disorders aspect of the droppings. Were collected tracheal and cloacal swabs that were processed by polymerase chain reaction (PCR) for detection of *Chlamydophila* spp. Of the 300 samples, 11/300 (3.66%) were positive in PCR analysis, but only two of the birds showed clinical signs compatible. The result suggests that the parrots from the illegal trade in wild animals are potential vehicles of *Chlamydophila* for humans and other animals, reinforcing its importance for public health.

Keywords: Chlamydiosis, psittacosis, traffic, zoonosis.

INTRODUÇÃO

Psitacídeos são aves populares como animais de companhia, possuem grande potencial de domesticação e adestramento, uma diversidade de cores e capacidade de imitar sons, atraindo compradores no mercado interno e externo (SICK, 1997; JUNIPER & PARR, 1998; HARCOURT-BROWN, 2000). Dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA) permitem supor que 90% do comércio de animais selvagens é ilegal. Os animais comercializados ilegalmente são submetidos a condições inadequadas de transporte, alimentação, higiene e não passam por controle sanitário. Ao serem capturados geralmente são alojadas em pequenas gaiolas, em grande número, onde as condições higiênicas são precárias, o que permite e facilita o desequilíbrio fisiológico, determinando sofrimento e favorecendo o desenvolvimento de doença clínica. Acredita-se que em função dessas condições inapropriadas, de cada dez animais retirados da natureza, apenas um sobrevive (LOPES, 2002; RASO, 2004).

Um aspecto a ser considerado é que aves que sobrevivem ao tráfico e não são apreendidas por agentes fiscalizadores, são compradas para serem mantidas como animais de estimação, e se portadoras de algum microrganismo patogênico, podem transmiti-lo para outros animais e para o homem, podendo acarretar conseqüências sanitárias preocupantes (PADRONE, 2004).

Chlamydophila psittaci é uma bactéria intracelular obrigatória, agente causador da clamidiose aviária. A doença foi originalmente denominada psitacose, porém o termo clamidiose foi introduzido para diferenciar a doença nas aves da doença nos seres humanos, sendo a clamidiose considerada a principal zoonose transmitida por aves silvestres (RASO, 2009).

A lista de espécies aviárias que podem ser acometidas por *C. psittaci* aumentou rapidamente em um curto espaço de tempo. De acordo com KALETA & TADAY (2003), *C. psittaci* foi identificada em torno de 465 espécies aviárias compreendendo 30 ordens diferentes, sendo psitacídeos e columbiformes os mais acometidos e os psitacídeos os maiores reservatórios, especialmente sob condições de cativeiro.

Animais infectados pela forma latente são particularmente perigosos para a saúde humana. Infecções latentes por *Chlamydophila* ocorrem em condições naturais em aves, bovinos, ovinos e porquinhos da Índia. Uma relação bem equilibrada entre o hospedeiro e o microrganismo não causa danos. No entanto, em condições desfavoráveis ocasionalmente a bactéria pode ser excretada e infectar um novo hospedeiro (VLAHOVIC´ et al., 2006). Conforme citado por EVERETT (2000) e HARKINEZHAD et al. (2009), os surtos estão associados a locais onde existam animais confinados, como zoológicos e em situações envolvendo transporte de animais.

C. psittaci produz uma doença sistêmica e ocasionalmente fatal em aves. Os sinais clínicos variam largamente em severidade e dependem da espécie aviária afetada, idade da ave e virulência e a dose infectante envolvida. Clamidiose aviária pode se manifestar com letargia, hipertermia, excreções anormais, descargas nasais e oculares e diminuição da produção de ovos, sendo que a taxa de letalidade variável. Em aves, os sinais clínicos mais freqüentes são conjuntivite, anorexia e perda de peso, diarreia, sinusite, biliverdinúria, descarga nasal, espirro, lacrimejamento e dificuldade respiratória (ANDERSEN & FRANSON, 2007; RASO, 2009).

O agente é excretado em fezes e exsudato respiratório por meses de forma intermitente. A excreção pode ser ativada pelo estresse causado por deficiência nutricional, transporte prolongado, superlotação, refrigeração, reprodução, aves em período reprodutivo, sob tratamento ou manuseadas. Além disso, o período de excreção relaciona-se com a virulência da estirpe, carga infectante e estado imune do hospedeiro (ANDRESEN & FRANSON, 2007; RODOLAKIS & MOHAMAD, 2009).

Vários métodos de diagnóstico são recomendados para a detecção de *C. psittaci*, sendo o isolamento e identificação considerado o método *gold standard* para o diagnóstico deste agente, no entanto, o tempo exigido para seu processamento e a necessidade de um laboratório com nível de biossegurança três, são suas desvantagens. Por isso, outras técnicas vêm sendo usadas como alternativa como teste de imunofluorescência, ensaio imunoenzimático, imunohistoquímica, teste de aglutinação de látex, reação de fixação do complemento, aglutinação de corpo elementar,

microimunofluorescência, Imunodifusão em Gel de Agar, microscopia e teste de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) (OIE, 2008).

As vantagens observadas do uso do PCR, conforme descrito por ELDER & BROWN (1999) e CELEBI & AK (2006), são a facilidade para a coleta das amostras, simplicidade no transporte e estocagem, possibilidade de ser aplicado em uma grande quantidade de aves, resultados rápidos, habilidade de se detectar DNAs em material morto, capacidade de identificar uma quantidade muito pequena do agente no inóculo, além de ter uma alta sensibilidade e especificidade.

Diante do exposto, os objetivos deste estudo foram detectar a presença de *Chlamydophila* spp. em 300 aves provenientes do comércio ilegal de animais selvagens, oriundas de diferentes regiões do Brasil e mantidas no Centro de Triagem de Animais Selvagens de Goiás (CETAS/GO), através da PCR, e relacionar os achados deste exame com as observações clínicas das aves.

MATERIAL E MÉTODO

Local

O experimento foi desenvolvido nos Laboratório de Diagnóstico Molecular do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária (EV) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Goiás (CETAS/GO), em Goiânia-GO.

Animais e coleta das amostras

Foram utilizados 300 psitacídeos oriundos do Centro de Triagem de Animais Selvagens (CETAS/GO), localizado em Goiânia-GO, resultantes de apreensão provenientes de ações contra o comércio ilegal de animais.

Primeiramente as aves passaram por exame clínico em que foram avaliados o estado nutricional, condições físicas e pigmentação das penas, presença de ectoparasitos, fraturas, secreções nasal e ocular, dificuldade respiratória, estertores, desordens entéricas e aspecto das fezes. Posteriormente foram colhidas amostras de material biológico de traquéia e cloaca através da fricção da mucosa, pelo uso de suabe de algodão estéril, sendo que os dois suabes colhidos da ave constituíam uma amostra. Em seqüência os suabes foram devolvidos às embalagens plásticas que foram encaminhadas sob refrigeração ao laboratório onde foram mantidas sob congelamento até o momento do processamento.

Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

Extração do DNA

Para extração, foi adotado protocolo proposto por LAUERMAN (1998). Ambas as amostras de suabes traqueal e cloacal de cada ave foram cortadas em um tubo de eppendorf de 1,5 mL em que foram adicionados 600 μ L de PBS e agitadas em vórtex por um minuto. Transferiu-se 240 μ L da solução para outro tubo de eppendorf e acrescentou-se à mesma 10 μ L de dietiltreitol (DTT),

a 50%, previamente preparado e armazenado a -70°. As amostras foram fervidas por 10 minutos. Após fervura, 100 µL da solução foram transferidos para um outro tubo de eppendorf de 1,5mL e então foram adicionados 100 µL de clorofórmio seguido de agitação em vórtex por 30 segundos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 9300.6g por dois minutos. A camada aquosa superior da amostra foi alíquotada para o uso no PCR.

Amplificação

A reação foi realizada utilizando-se oligonucleotídeos correspondentes à região conservada do gene MOMP de *Chlamydiaceae*, de acordo com HEWISON et al. (1997). As seqüências dos primers usados foram CPF: 5´ GCAAGACACTCCTCAAAGCC 3´ e CPR: 5´ CCTTCCCACATAGTGCCATC 3´ amplificando um produto de 264 pares de bases (pb).

A amplificação foi realizada em 50 µl de volume, contendo 35,75 µl de água ultrapura, 5 µl de solução tampão de reação 10 x (500 Nm kcl; 15 Nm MgCL₂, 100 Nm Tris- HCL, pH 9,0), 2 µl de MgCL₂ (50 nM), 1 µl da mistura de dNTPs (200 µM de cada nucleotídeo [dCTP, dATP, dGTP, dTTP]), 0,5 µl de cada primer (10 pmol/ µl), 0,25 µl de Taq DNA polimerase e 5 µl da amostra de DNA extraído (HEWISON et al, 1996).

Em seguida, as amostras foram transferidas para o termociclador (Mastercycler Personal, Eppendorf) programado para um ciclo de 94°C por 3 minutos, seguido por 40 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50° C por 30 segundos e 72° C por 45 segundos e um ciclo final de 72° C por 45 segundos para extensão.

Foi utilizada como controle positivo da reação, amostra de DNA extraído conforme protocolo descrito acima, a partir de vacina comercial para gatos (Felocell® CVR-C, São Paulo, Pfizer), e como controle negativo, água ultrapura.

Evidenciação dos produtos amplificados

Em seguida da amplificação, as amostras foram inoculadas em gel de agarose a 1,2% em tampão tris-borato-EDTA (TBE) (TRIS 1M; Ácido bórico 0,83M; EDTA 20Mm), corado com GelRed Nucleic Acid Gel Stain, 10.000X em água destilada. As amostras foram submetidas à eletroforese a 90V por 60 minutos e as bandas visualizadas e analisadas com o auxílio de um aparelho transiluminador de UV (Electronic UV Transilluminator, Ultra-Lum). Foram consideradas positivas aquelas amostras que apresentaram bandas de aproximadamente 264 pb na eletroforese (Figura 1) quando comparadas ao controle positivo e marcador de DNA (DNA Ladder 100bp, Gibco BRL, USA).

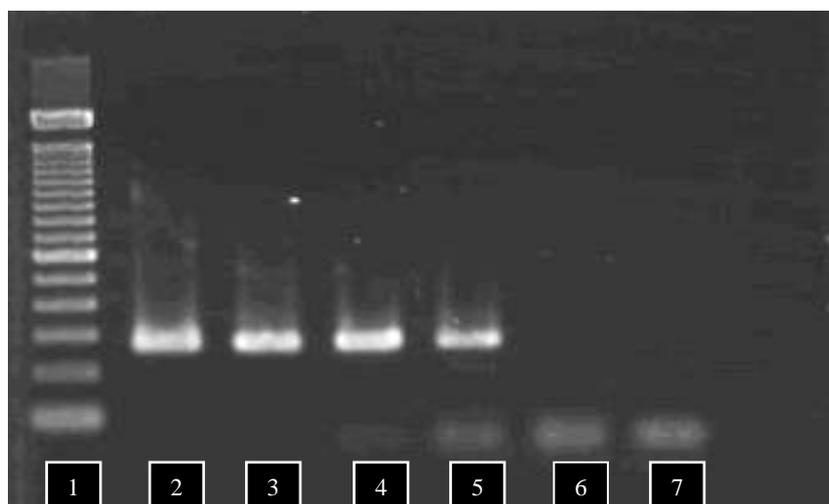


FIGURA 1 - Eletroforese referente ao ensaio de PCR com o par de primers: CPF/CPR. 1 - marcador de 100 pb; 2- controle positivo, 3-Produto de PCR com 264 pb, 4- Produto de PCR com 264 pb, 5- Produto de PCR com 264 pb, 6 – Amostra negativa, 7 – Controle negativo.

Análise estatística

Para interpretação dos resultados obtidos, foi feita análise da frequência dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 300 animais passaram primeiramente por um exame clínico onde foram observadas as principais alterações, conforme descrito na Tabela 1:

TABELA 1 - Principais alterações clínicas observadas ao exame individual de 300 psitacídeos do Centro de Triagem de Animais Selvagens (CETAS/GO) durante o ano de 2008

Alteração clínica	Nº de aves	%
Aparentemente sem alteração clínica	112/300	37,4
Animal magro	92/300	30,7
Diarréia	73/300	24,7
Presença de ectoparasitos	46/300	15,3
Ausência de membros	37/300	12,4
Secreção ocular	34/300	11,4
Angústia respiratória	29/300	9,7
Apteregia	23/300	1,3
Alterações nas penas	23/300	7,7
Fraturas	15/300	5
Alterações no bico	14/300	4,7
Obesidade	8/300	2,7
Estertores	5/300	1,66
Secreção nasal	4/300	1,3

Ao serem capturadas, as aves geralmente são alojadas em pequenas gaiolas, em grande número, onde as condições higiênicas são precárias, o que permite e facilita o desequilíbrio fisiológico, o que pode determinar o aparecimento de alterações conseqüentes ao manejo inadequado estando entre as mais comuns: diarréia, magreza, ectoparasitose, alteração e queda das penas e alterações no bico, além de sinais de maus tratos, tais como fraturas (Tabela 1).

Dentre as aves examinadas, em 112/300 (37,4%) não se constatou nenhuma alteração clínica. Aves da ordem *Psitacidae* são animais predados na natureza então, qualquer sinal de debilidade pode fazer do animal uma presa

mais fácil que os demais, por isso costumam expressar sintomatologia clínica em estágios mais avançados da doença, o que torna o exame clínico mais complexo, já que a ausência de sintomatologia, não determina ausência de infecções.

Dentre os animais que apresentavam ausência de membros 37/300 (12,4%), identificou-se áreas de necrose devido ao uso de anilhas falsas ou por linhas de pipa, que causavam estrangulamento do membro. Notou-se também que algumas aves, 8/300 (2,7%), estavam obesas, fato raro na natureza, o que leva a supor que essas aves eram mantidas em ambiente doméstico de forma ilegal, alimentados de forma inadequada, com dieta indiscriminada e provavelmente com excesso de sementes, o que ocasiona o sobrepeso (STEINER & DAVIS, 1985; RITCHIE et al., 1994; RUPLEY, 1999).

Para aumentar a sensibilidade do teste da PCR, fez-se um *pool* de amostras cloacais e traqueais de uma mesma ave. Em estudo provido por RASO (2004), foi observado maior frequência de isolamento em amostras cloacais que as de traquéia, no entanto indica-se que o sistema respiratório superior é o sítio de instalação primário do microrganismo, sendo assim detectado com maior frequência neste local em infecções primárias e em reinfecções em aves portadoras, detectado comumente via cloaca (PHALEN, 2006).

Das 300 amostras analisadas por PCR, em 11 foi detectadas *C. psittaci*, totalizando um percentual de 3,66% de amostras positivas. Dos animais positivos, apenas duas das 11 aves (18,2%), apresentavam sintomatologia respiratória. Ressalta-se que seis das aves positivas (54,6%) eram provenientes da mesma apreensão, e as demais aves positivas (45,4%), foram provenientes de apreensões isoladas. Das aves positivas, 7/11 (63,6%) estavam aparentemente sem alterações clínicas, o que denota a importância do portador assintomático como transmissor do agente, encontrando sustentação em RASO et al., (2006) ANDERSEN (2004) e ANDERSEN et al. (2007).

Dos animais examinados, 125/300 (41,7%) eram do gênero *Ara*, 132/300 (44%) do gênero *Amazona* e 43/300 (14,3%), do gênero *Aratinga*. Dos animais positivos para detecção pela PCR, 4/11 (36,4%) eram do gênero *Ara* e 7/11 (63,7%) do gênero *Amazona*. Das aves identificadas como positivas, 8/11

(72,8%) eram filhotes. Esta maior proporção em filhotes também foi observado por RASO (2004). É provável que aves jovens, ao serem expostas ao microrganismo pela primeira vez, desencadeia um processo infeccioso, mas a capacidade de induzir a resposta imune do hospedeiro no início da infecção, pode permitir um crescimento lento, se multiplicam e se estabelecem intracelularmente, levando a uma infecção persistente (LAMMERT & WYRICK., 1982).

Além disso supõe-se que o agente esteja naturalmente disseminado no meio ambiente. Os pais alimentam os filhotes ativamente, o alimento regurgitado pelas aves adultas pode conter secreções contaminadas. Os ninhos representam um meio de transmissão comum intra e interespecies na natureza, seja através de contaminantes como ovo, exsudatos, fezes ou alimentos regurgitados, sendo uma importante forma de manutenção da infecção no meio ambiente (WITTEMBRINK et al., 1993; ANDRE, 1994; RASO, 2004; 2009).

A detecção de freqüência mais alta em aves aparentemente saudáveis encontra respaldo em BRAND (1989), que afirma que em aves de vida livre a infecção é na maioria das vezes inaparente. Em situações em que aves se encontram aglomeradas, é esperado que se aumentem as chances de surtos de clamidiose, já que o estresse a que essas aves são submetidas pode causar uma maior excreção deste microrganismo, e o contato próximo com as outras aves, aumentar a disseminação.

Ressalta-se que a prevalência das infecções por clamídias em humanos é subestimada mesmo em países onde a notificação é compulsória (ANDERSEN & VANROMPAY, 2003). No entanto, de acordo com dados da secretaria da saúde, casos humanos relacionados com doença animal são frequentemente reportados, como caso ocorrido em 2007 no Rio Grande do Sul, em que aves provenientes do tráfico foram citadas como transmissoras da psitacose para 30 pessoas que tiveram contato com as mesmas.

CONCLUSÕES

Aves provenientes do comércio ilegal de animais selvagens são potenciais transmissores de *Chlamydophila* spp. para humanos e outros animais, devendo ser tomadas medidas sanitárias adequadas para manejo, transporte, translocação ou soltura dessas aves.

REFERÊNCIAS

1. ANDERSEN, A. A.; VANROMPAY, D. Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne D.E. **Diseases of poultry**, 11th ed. Ames (IA):Iowa State University Press; p. 863–79, 2003.
2. ANDERSEN, A. A., J; FRANSON, C. Avian Chlamidiosis. *In*: Nancy J. Thomas, D. Bruce Hunter, Carter T. Atkinson **Infectious Diseases of Wild Birds** Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional, p. 303-316, 2007.
3. ANDERSEN, A. *Chlamydia in: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*, Third Edition, Blackwell Publishing. p. 418-427, 2004.
4. ANDRE, J. P. La chlamydirose aviaire `Chlamydia psittaci chez lês oiseaux de Cage: revue bibliographique. **Revue de Medecine Veterinaire.**, v.145, n.12, p.915-929, 1994.
5. BRAND, C. J. Chlamydial infections in free-living birds. **Journal of America Veterinary Medical Association.**, v. 195, n.11, p.1531-1535, 1989.
6. CELEBI, B. S.; AK, S. A comparative study of detecting Chlamydophila psittaci in pet birds using isolation in embrionated egg and polimerase chain reaction. **Avian diseases.** v. 50. p. 489-493, 2006.
7. ELDER, J., BROWN, C. Review of techniques for the diagnosis of Chlamydia psittaci infection in psittacine birds. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v.11, p.539 -541, 1999.
8. EVERETT, K.D.E. Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye **Veterinary Microbiology**, v.75, n.2, p.109-126,2000.
9. HARCOURT-BROWN, N. **Birds of Prey, Anatomy**, Radiology and Clinical Condition of the Pelvic Limb. Multimida CD-Rom, Lake Worth, FL, Zoological Education Network, 2000.
10. HARKINEZHAD, T.; GEENS, T.; VANROMPAY, D. Chlamydophila psittaci infections in birds: A reiew with emphasis on zoonotic consequences **Veterinary Microbiology**, v.135, n.2, p.109-126, 2009.
11. HEWINSON, R. G.; GRIFFITHS, P. C.; BEVAN, B. J.; KIRWAN, S. E.; FIELD, M. E.; WOODWARD, M. J.; DAWSON, M. Detection of Chlamydia psittaci DNA in avian clinical samples by PCR. **Veterinary Microbiology**, v.54, n.2, p.155-166, 1997.
12. JUNIPER, T.; PARR, M. **Parrots: a guide to parrots of the world.** New Haven: Yale University Press, 1998, 574p.

13. KALETA, E. F.; TADAY, E. M. A. Avian host range of chlamydophila spp. based on isolation, antigen detection and serology. **Avian pathology**, Philadelphia v.32, n.5, p. 435-462, 2003.
14. LAMMERT, J. K.; WYRICK, P. B. Modulation of the host immune response as a result of Chlamydia psittaci infection. **Infection and Immunity**. P. 537–545. 1982.
15. LAUERMAN, L.H. **Nucleic acid Amplification assays for diagnosis of animal diseases**. Washington: Library of congress cataloging in publication data. 152p.1998.
16. LOPES, J. C. A. **Operações de fiscalização da fauna: análise, procedimentos e resultados**. In: Animais Silvestres. Vida à venda. Brasília: Dupligráfica, 260 p., 2002.
17. OIE. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2004**. Disponível em: <http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00105.htm>. Acesso em: 03 Dez. 2008.
18. PADRONE, J. M. P. **Comércio ilegal de animais silvestres: avaliação da questão ambiental no estado do Rio de Janeiro**. Niterói, 2004. Dissertação (Curso de pós-graduação em ciência ambiental). Universidade Federal Fluminense. 115 p.
19. PHALEN, D. N. Preventive Medicine. In: **Clinical Avian Medicine**. G. J. Harrison and T. L. Lightfoot. Spix Publishing, Inc, Palm Beach, FL, USA. 613- 625. 2006.
20. RASO, T. F. **Chlamydophila psittaci em psitacídeos de vida livre e cativo e suas implicações à saúde pública**. Jaboticabal, 2004. Tese (Doutorado em Patologia Animal). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/Jaboticabal. 79p.
21. RASO, T. F.; SEIXAS G. H. F., GUEDES N. M. R., PINTO A. A. Chlamydophila psittaci in free-living Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) and Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Microbiology**, v.117, n.2, p. 235-241, 2006.
22. RASO, T. F. Clamidiose aviária in: **Patologia aviária** Barueri: Manole, p. 367-374. 2009.
23. RITCHIE B. W.; HARRISON G. J.; HARRISON L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth, Wingers Publishing, 1384p, 1994.
24. RODOLAKIS, A., MOHAMAD, K.Y. Zoonotic potential of Chlamydophila. **Veterinary Microbiology**.10.1016j. vetmic. 2009.
25. RUPLEY, A. E. **Manual de Clínica Aviária**. São Paulo: Roca, 1999. 598p.

26. SECRETARIA DA SAÚDE – RS. **Saúde do Estado acompanha investigação sobre provável surto de psitacose no RS.** Disponível em: <http://www.saude.rs.gov.br/wsa/portal/index.jsp?menu=noticias&cod=21271>. Acesso em janeiro de 2010.
27. SICK, H. **Ornitologia Brasileira.** Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 912p.
28. STEINER, C. V.; DAVIS, R. B. **Patologia das aves enjauladas, temas selecionados.** Zaragoza :Acribia, , 1985, 165p.
29. VLAHOVIĆ, K.; DOVČ, A.; LASTA, P. Klamidioza u životinja s gledišta zoonoza - pregledni članak. **Veterinarski arhiv**, v.76, p.259-274, 2006.
30. WITTENBRINK, M. M.; MROZEK, M.; BISPING, W. Isolation of *Chlamydia psittaci* from a chicken egg:evidence of egg transmission. **Journal of Veterinary Medicine B**, v.40, n.6, p.451-452, 1993.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tráfico de animais selvagens é uma atividade ilícita de preocupação internacional, não somente pelos danos referentes à biodiversidade, mas também pela possível disseminação de agentes potencialmente patogênicos pelos animais. Nessa atividade, não existe critério para a captura, transporte ou manutenção dos animais, sendo estes aglomerados, sem alimentação adequada e condições higiênicas insatisfatórias, o que desencadeia sérios problemas sanitários, levando a morte de muitos exemplares.

O conhecimento da microbiota intestinal desses animais propicia maiores esclarecimentos quanto a diagnóstico etiológico, tratamento e prevenção de enfermidades. Além disso, conhecimento de potencial zoonótico, auxilia em programas de preservação de espécies ameaçadas e serve de instrumento para educação ambiental, instruindo melhor a comunidade sobre os riscos de se adquirir uma ave proveniente de comércio ilegal.

No estudo observou-se que aves provenientes do tráfico de animais selvagens podem excretar enterobactérias potencialmente patogênicas para o homem e outros animais, assim como possivelmente transferir genes de resistência a antimicrobianos, constituindo assim um problema de saúde pública. Constatou-se que aves provenientes de comércio ilegal são potenciais veiculadores de *Chlamydophila* spp. e *Salmonella* sp. para humanos e outros animais. A eliminação contínua destes microrganismos por aves clinicamente saudáveis ou mesmo doentes pode representar um importante problema para pessoas e outros animais que tenham contato com as excretas ou ambiente contaminado pelas mesmas, podendo causar conseqüências sanitárias preocupantes.

O conhecimento sobre distribuição na natureza e importância da *Chlamydophila psittaci* como agentes de enfermidades está evoluindo rapidamente, o que gera benefícios para melhorias laboratoriais. Estudos desta enfermidade buscam melhoria dos testes diagnósticos e também evitar de maneira cada vez mais efetiva a doença humana. O advento de antibióticos e o desenvolvimento de técnicas modernas de diagnóstico têm diminuído o impacto patogênico da *C. psittaci*, mas não resolveu grande parte dos questionamentos que envolvem seu diagnóstico e tratamento em animais.

Portanto, programas designados para translocação de fauna e soltura devem adotar protocolos de quarentena, diagnóstico de avaliação das mortalidades, e teste periódico das aves vivas a fim de prevenir a soltura de aves positivas. Além disso, indivíduos que mantêm contato íntimo com aves devem ser alertados quanto a possível transmissão de agentes zoonóticos, e tomar medidas de segurança, tal como o uso de equipamentos de proteção individual para manejo de aves aparentemente saudáveis ou doentes, assim como para a execução de necropsias.