

# Resistência Antimicrobiana de Enterobactérias em Aves Migratórias no Litoral Paraibano

Cristiane Ribeiro da Silva<sup>1</sup>, Priscylla Carvalho Vasconcelos<sup>1</sup>, Celso José Bruno de Oliveira<sup>1</sup>, Danilo Tancler Stipp<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Cidade Universitária, Areia, PB, 58.397-000, Brasil, ORCID: 0000-0001-7759-8512, ORCID: 0000-0002-7578-4087, ORCID: 0000-0002-7761-0697.

<sup>2</sup>Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rod. Lauri Simões de Barros, km 12, SP-189, Buri, SP, 18290-000, Brasil. ORCID: 0000-0002-9577-2446.

Submissão: 25/01/23

Aceite: 24/05/23

\* Autor para correspondência: Danilo Tancler Stipp – [stipp@ufscar.br](mailto:stipp@ufscar.br)

**Resumo:** A migração é um comportamento biológico de várias espécies de aves e outros animais e que pode favorecer a disseminação de microrganismos patogênicos oriundos de animais contaminados, colocando em risco populações de outras espécies de aves, mamíferos, incluindo o homem, em novos locais. Muitos destes microrganismos podem ser resistentes a alguns tipos de antimicrobianos, sendo uma ameaça à saúde pública. Objetivou-se com este estudo, isolar, caracterizar e avaliar o perfil de resistência de enterobactérias encontradas em espécies de maçaricos no período de invernada na Paraíba, Brasil. Foram coletadas amostras cloacais das espécies *Arenaria interpres* (n=9), *Calidris pusilla* (n=32), *Charadrius semipalmatus* (n=5) e *Tringa flavipes* (n=1). Dos 47 isolados, foram identificados 14 gêneros bacterianos distintos para os quais foram testados 12 antimicrobianos. O teste de suscetibilidade *in vitro* com o método disco-difusão revelou o maior índice de resistência (68,8%) para todos os 14 gêneros frente ao amoxicilina + ácido clavulânico, seguido por cefoxitina (63,8%) e ampicilina (63,8%). Das cepas bacterianas que apresentaram halo fantasma, 6 (12,76%) foram resistentes ao aztreonam, 1 (2,12%) foi resistente a ceftazidima, 1 (2,12%) para cefoxitina, e 1 (2,12%) resistente contra cefotaxima. Duas principais rotas migratórias de aves passam pelo território brasileiro, uma rota central e outra atlântica, ambas iniciando do norte do Canadá até o sul da Argentina. A amplitude de extensão dessas rotas possibilita o contato entre diferentes espécies nativas e migratórias de aves. Portanto, se faz importante o monitoramento de aves silvestres nos locais de invernada do Brasil, pois podem desempenhar importante local para a disseminação de microrganismos resistentes a antimicrobianos entre as espécies.

**Palavras-chaves:** Enterobacteriaceae; migração; aves limícolas; resistência bacteriana.

## 1. Introdução

A migração de aves ocorre em diversas regiões ao redor do mundo, onde pássaros e outros animais percorrem encostas conforme seguem as variações sazonais de clima e abundância de alimentos (Schunk et al., 2023). Atualmente existe uma grande preocupação com a disseminação de microrganismos patogênicos entre as diferentes espécies animais. Isso se deve ao fato de que as aves migratórias encontram diversos indivíduos em determinados pontos de sua migração, facilitando assim a transmissão interindividual e interespecífica. A eficiência da dispersão de microrganismos patogênicos depende de uma ampla variedade de fatores bióticos e abióticos que afetam a sobrevivência ou desaparecimento do agente em um *habitat*. (Hubálek, 2004; Defaye et al., 2023).

A utilização de antimicrobianos no intuito de controlar infecções bacterianas e como promotores de crescimento, pode resultar na seleção de cepas resistentes, tanto de bactérias patogênicas, quanto naquelas que fazem parte da microbiota normal. Esse é considerado o principal fator desencadeante do surgimento, seleção e disseminação de microrganismos resistentes aos antimicrobianos, tanto na medicina veterinária quanto na medicina humana (Song et al., 2022).

Diante destas informações e a escassez de estudos sobre a resistência bacteriana em aves migratórias (ex. maçaricos) no Brasil, o estudo teve como objetivo verificar o perfil de bactérias isoladas de aves migratórias presentes no litoral paraibano.

## 2. Material e Métodos

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba e registrada sob o protocolo nº172/201. A autorização para a realização do estudo foi concedida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), protocolo 47023-1.

### 2.1. Área de Estudo

O estudo foi realizado na Ilha da Restinga, ilha desabitada localizada no município de Cabedelo, litoral do Estado da Paraíba (07°03'47,5"S e 34°51'14,5"W) a cerca de 11 km da cidade de João Pessoa, Brasil. A área de estudo compreende uma ilha fluviomarina localizada junto à desembocadura do rio Paraíba. Possui uma área de aproximadamente 6 km<sup>2</sup>, predominantemente coberta de manguezais e resquícios de Mata Atlântica de restinga, contendo pastagens com arbustos e vegetação de mangue. Apresenta dois períodos distintos no regime pluviométrico: uma estação seca, que se prolonga de setembro a fevereiro (primavera-verão) e uma estação chuvosa, de março a agosto (outono-inverno). O clima da região é Am

tropical chuvoso, apresentando temperatura máxima de 31°C e mínima de 21°C, com média de 26°C. O local recebe diferentes espécies de aves em períodos específicos do ano principalmente por ser um local para alimentação e descanso dos animais. A maioria das espécies de aves migratórias encontradas na região se reproduz no hemisfério norte (neárticas) e migram para a América do Sul durante o inverno boreal, enquanto que algumas se reproduzem no hemisfério sul (neotropicais). Aves da família *Charadriidae* realizam as maiores migrações, podendo migrar do norte do Canadá ao sul do Chile (Piersma, 2007).

## 2.2. Captura das aves e coleta das amostras

As coletas foram realizadas nos dias 20 e 21 de outubro de 2016 e 05 e 06 de abril de 2017, meses estes em que várias espécies de aves migratórias retornam dos locais de reprodução. Para a captura das aves, foram utilizadas redes de neblina (12x2,5m) com malha de 36 mm, instaladas em dois pontos (A: 06°98'28,8"S e 34°85'72,8"W; e B: 06°98'25,9"S e 34°85'47,9"W) na face norte da Ilha da Restinga, local de pouso das aves (Figura 1).



**Figura 1** – Locais (A e B) dos pontos de instalação das redes de captura de aves, Ilha da Restinga, Cabedelo, Paraíba (Adaptado Google Earth Pro).

Ao longo de um total de quatro dias de trabalho, foram capturadas um total de 47 aves compreendendo 18 aves capturadas no ponto A e 29 aves capturadas no ponto B. Quatro espécies de aves migratórias foram identificadas, sendo cinco Batuíras-de-bando (*Charadrius semipalmatus*); 32 maçaricos-rasteirinho (*Calidris pusilla*); 9 vira-pedras (*Arenaria interpres*), e 1 maçarico-de-perna-amarela (*Tringa flavipes*). As aves capturadas também foram marcadas com anilhas fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisa para Conservação das Aves – Cemave/ICMBio para identificação das mesmas. Nenhuma das aves marcadas foram vistas no período seguinte de coleta. Após a retirada da rede, as aves foram trazidas para o acampamento e colocadas em gaiolas de manutenção até o momento da coleta de amostras.

Amostras cloacais individuais foram coletadas por meio de swab cloacal estéril. Após a coleta, os swabs foram colocados em tubos de ensaio com meio de transporte Stuart (Laborclin, Pinhais, Brasil) e imediatamente acondicionados sob temperatura de refrigeração.

## 2.3. Processamento das amostras

As amostras foram encaminhadas em até 12 horas para o Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal, LAPOA no CCA, campus Areia, Paraíba, sendo mantidas sob temperatura de refrigeração até o início da análise microbiológica. Uma alíquota de cada amostra, foi preparada para a confirmação da identificação bacteriana por meio do teste MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Light*), na Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

## 2.4. Isolamento e identificação fenotípica

Os swabs cloacais foram colocados em caldo BHI (*Brain and heart infusion broth*) (Difco™, New York, EUA) com incubação a 37°C por 24h em estufa bacteriológica. Posteriormente, as amostras foram semeadas em ágar MacConkey

(Difco<sup>TM</sup>, New York, EUA), com incubação em aerobiose a 37°C com leitura de 24, 48 e 72h. As bactérias isoladas foram identificadas de acordo com as características macro e microscópicas, bem como por provas bioquímicas conforme descrito por Farmer (1999). Dentre as 47 amostras analisadas, a identificação de 10 isolados foi confirmada pelo teste de MALDI-TOF, justificada por ser uma metodologia mais específica de alta eficácia para a confirmação da identificação de isolados (Davies et al., 2022).

## 2.5. Teste de suscetibilidade

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizado pela técnica de disco-difusão (Bauer et al., 1966), utilizando meio de cultura Mueller-Hinton (Difco<sup>TM</sup>, New York, EUA) e discos de antibióticos (Laborclin, Pinhais, Brasil) contendo gentamicina (120 µg), cefotaxima (30 µg), ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (10 µg), amoxicilina + ácido clavulânico (20/10 µg), ceftazidima (30 µg), clorafenicol (30 µg), ceftoxitina (30 µg), sulfametoxazol/trimetoprim, (1,25/23,75 µg), tetraciclina (30 µg), imipenem (10 µg) e aztreonam (30 µg).

A inoculação ocorreu por suspensão bacteriana, sendo as placas com meio Mueller-Hinton semeadas com a suspensão bacteriana de cada amostra e com discos de antimicrobianos. As placas foram incubadas a 37°C por 12h. A leitura e interpretação dos diâmetros dos halos foram realizadas conforme orientação e diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015). Como controle positivo foi utilizada a cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 e, como controle negativo, a cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

## 2.6. Identificação de genes de mecanismos de resistência

As colônias isoladas foram coletadas e ressuspendidas em microtubos contendo 500µL de água estéril ultrapura. As suspensões foram aquecidas a 100°C por 10 minutos e em seguida mantidas em gelo por 10 minutos. Em seguida, foram centrifugadas a 1.700g por 3 minutos sendo retirado, ao final do processo, o sobrenadante que foi então submetido à técnica de extração por meio da técnica de fenol-clorofórmio, de acordo com Sambrook et al. (1989). O ácido nucléico extraído foi submetido à técnica de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para a identificação de genes relacionados aos mecanismos de resistência. Os primers e referências da metodologia de amplificação dos genes estão apresentados na Tabela 1.

Gene	Sequência	Amplicon (pb)	Condições de termociclagem*	Controles positivos	Referências
CTX-M	F: SCSATGTGCAGYACCAGTAA R: CCGCRATATGRTTGGTGGTG	554	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70060	Liu et al. 2016
CTX-M-1	F: AAATCACTGCGYCAATTCA R: GGTGACGATTTAGCCGCCG	854	2	<i>Escherichia coli</i>	Dropa et al. 2016
CTX-M-2	F: GACTCAGAGCATTCCGCCG R: TCAGAAACCGYGGGTTACGA	870	2	<i>Escherichia coli</i>	Dropa et al., 2016
CTX-M-8	F: GATGAGACATCGCGTTAAG R: GGTGACGATTTTCGCGCA	861	2	<i>Escherichia coli</i>	Dropa et al. 2016
MCR-1	F: GATCGGATTGGAGAACCAGA R: ATTTCTGACCGCATTTCCAT	343	3	<i>Escherichia coli</i>	Liu et al. 2015
ACC	F: AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA R: TTCGCCCAATCATCCCTAGC	346	4	<i>Hafnia alvei</i> (ACC- 1)	Pérez-Pérez e Hanson, 2002
FOX	F: AACATGGGGTATCAGGGAGATG R: CAAAGCGCGTAACCGGATTGG	190	4	<i>Escherichia coli</i> 200	Pérez-Pérez e Hanson, 2002
MOX	F: GATCGGATTGGAGAACCAGA R: ATTTCTGACCGCATTTCCAT	520	4	Não possui controle	Pérez-Pérez e Hanson, 2002
CMY-2	F: TGGCCAGAACTGACAGGCAAA R: TTCTCCTGAACGTGGCTGGC	462	4	Não possui controle	Pérez-Pérez e Hanson, 2002
NDM	F: GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC R: CGGAATGGCTCATCACGATC	621	5	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (C262)	Poirel et al. 2011

**Tabela 1** – Sequência de primers e metodologias de amplificação para a PCR.

## 3. Resultados

Dentre as 47 aves capturadas de cinco espécies diferentes, a mais abundante no local foi a espécie *Calidris pusilla* (n=32). Quanto ao isolamento, houve crescimento em todas as amostras coletadas. Foram identificados 14 gêneros bacterianos por meio dos testes bioquímicos e de MALDI-TOF, sendo eles: 1 (2,1%) *Acinetobacter parvus*, 1 (2,1%) *Enterobacter asburiae*, 4

(8,5%) *Enterobacter cloacae*, 11 (23,4%) *Enterobacter* spp., 7 (14,9%) *Escherichia coli*, 1 (2,1%) *Edwardsiella* spp., 1 (2,1%) *Hafnia* spp., 2 (4,2%) *Klebsiella* spp., 1 (2,1%) *Salmonella* spp., 4 (8,5%) *Shigella* spp., 1 (2,1%) *Providencia rettgeri*, 1 (2,1%) *Pseudomonas aeruginosa*, 10 (21,2%) *Pseudomonas* spp. e 2 (4,2%) *Pseudomonas stutzeri*. Observou-se maior o crescimento de *Enterobacter* spp., seguido do crescimento de *Pseudomonas* spp.

A Tabela 2 apresenta as frequências do perfil de sensibilidade identificadas por cada antimicrobiano utilizado. A maior frequência de resistência (100%) aos antimicrobianos foi observada para a amoxicilina/ácido clavulânico com 16 cepas (34%), seguido de cefotaxima com 6 (12,7%), ampicilina com 5 (10,6%), cefoxitina 3 (6,3%), tetraciclina 2 (4,2%), aztreonam 1 (2,1%) e sulfametoxazol/trimetopim 1 (2,1%). Não foram identificadas cepas resistentes à ciprofloxacina.

Antibióticos	AMC		AMP		ATM		CAZ		CFO		CIP		CLO		CTX		GEN		IPM		SUT		TET	
	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%	R	%
<i>Acinetobacter parvus</i> n= 1	-	-	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter asburiae</i> n= 1	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> n= 4	3	75	3	75	-	-	-	-	3	75	-	-	1	25	2	50	-	-	-	-	2	50	-	-
<i>Enterobacter spp</i> n= 11	8	72,7	9	81,8	-	-	-	-	10	90,9	-	-	1	9,1	1	9,1	-	-	2	18,2	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> n= 7	3	42,8	2	28,5	-	-	-	-	4	57,1	-	-	1	14,2	1	14,2	-	-	-	-	1	14,2	1	14,2
<i>Edwardsiella spp</i> n= 1	-	-	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hafnia spp</i> n= 1	1	100	-	-	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella spp</i> n= 2	2	100	2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella spp</i> n= 1	1	100	-	-	1	100	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shigella spp</i> n= 4	1	25	1	25	3	75	2	50	-	-	-	-	-	4	100	1	25	-	-	-	-	-	-	-
<i>Providencia rettgeri</i> n= 1	1	100	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> n= 1	1	100	1	100	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	1	100	1	100
<i>Pseudomonas spp</i> n= 10	10	100	10	100	-	-	-	-	9	90	-	-	-	-	7	70	-	-	-	-	7	70	3	30
<i>Pseudomonas stutzeri</i> n= 2	1	50	1	50	-	-	-	-	1	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total: 47	32	68,1	30	63,8	5	10,6	4	8,5	30	63,8	-	-	3	6,3	17	36,1	1	2,1	2	4,2	11	23,4	6	12,7

**Tabela 2** – Frequência absoluta do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos apresentados pelas cepas isoladas.

Foram observadas cepas resistentes a  $\beta$ -lactâmicos, como a ampicilina com 30 (63,8%) de cepas isoladas resistentes e 5 (10,6%) cepas resistentes ao aztreonam. Resistência para cefalosporinas de segunda e terceira geração também foi observado, sendo 30 (63,8%) cepas resistentes para cefoxitina e 17 (36,1%) para cefotaxima, respectivamente. Apresentaram halo fantasma, indicando a produção de Beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL), um total de 6 (12,7%) cepas resistentes ao aztreonam, 1 (2,1%) resistente a ceftazidima, 1 (2,1%) para cefoxitina e 1 (2,1%) resistentes a cefotaxima, conforme apresentado na Tabela 3.

Gêneros Bacterianos	Antibióticos			
	Aztreonam	Ceftazidima	Cefoxitina	Cefotaxima
<i>Acinetobacter parvus</i> n=1	1	1	-	-
<i>Escherichia coli</i> n= 5	2	-	-	-
<i>Enterobacter spp</i> n=2	2	-	1	1
<i>Providencia rettgeri</i> n=1	1	-	-	-
Total de cepas = 6				

**Tabela 3** – Cepas positivas para o teste fenotípico com possível confirmação de produção de  $\beta$ -lactamase de espectro ampliado (ESBL) de acordo com o gênero e a presença de halo fantasma para cada antimicrobiano usado.

Não foram identificados genes relacionados à produção de ESBL por meio da técnica de PCR, não sendo computadas por esta metodologia cepas resistentes a  $\beta$ -lactâmicos.

#### 4. Discussão

O gênero *Enterobacter* spp. foi o mais prevalente (23,4%) dentre os gêneros bacterianos identificados, seguido de *Pseudomonas* spp. (21,2%) e *E. coli* (14,9%). A escassez de investigações microbiológicas em espécies de aves migratórias no Brasil dificulta o estabelecimento de informações importantes que norteiem futuros estudos comparativos da microbiota de aves silvestres e migratórias do litoral brasileiro. Alguns estudos descrevem a presença dos gêneros pertencentes à família *Enterobacteriaceae* entre as aves capturadas. Wink et al. (2022) identificaram 74 (27%) isolados de *E. coli* em meio a amostras de gaivotas (*Larus dominicanus*) e pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) encontrados na costa do estado de Santa Catarina. Matias et al. (2016) investigaram a frequência de enterobactérias em amostras de swab cloacais de 109 pássaros de espécies da família de passeriformes e também *Psittacidae*, capturados no município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. O gênero *Enterobacter* spp. (91,7%) foi o mais prevalente no estudo, seguido de *Klebsiella* spp. (71,5%) e *E. coli* (50,4%). Em um estudo realizado ao longo dos anos de 2015 e 2016 nos municípios costeiros brasileiros de Niterói-RJ, Rio de Janeiro-RJ, São João da Barra-RJ, Pontal do Paraná-PR, Rio Grande-RS e Ilha de Marajó-PA, foram coletados swabs cloacais de aves migratórias de espécies de gaivota-alegre (*Leucophaeus atricilla*), petrel-gigante (*Macronectes giganteus*), pardela-preta (*Procellaria aequinoctialis*), grazina-de-barriga-branca (*Pterodroma incerta*) e pinguim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*), onde identificaram alta prevalência (41%) do gênero *Vibrio* spp., seguido de (21%) *Aeromonas* sp. e (7%) *Salmonella* sp. (Cardoso et al., 2021). Estas diferenças de prevalência dos isolados identificados com o presente estudo pode ser justificado pela diferença geográfica das áreas de estudo, bem como pela variedade de espécies de aves migratórias que residem ou não ao longo da costa brasileira, sendo o gênero *Salmonella* spp. identificado em maior número de amostras de espécies residentes de aves marinhas. Bactérias do gênero *Enterobacter* spp. também foram as mais identificadas em estudo realizado na Itália a partir da coleta de swabs cloacais de 218 pássaros de vida livre na região da Sicília. Neste, um total de 183 estirpes bacterianas foram identificadas, sendo a mais frequente pertencente ao gênero *Enterobacter* spp. (39,89%), seguido de *E. coli* (28,9%) e *Klebsiella* spp. (4,9%) (Foti et al., 2011).

A resistência a diferentes antimicrobianos tem sido reportada em uma ampla gama de animais selvagens no Brasil e em outros países como China, EUA e Itália (Cardoso et al., 2021; Wink et al., 2022; Zhang et al., 2022; Ahlstrom et al., 2023; Di Francesco et al., 2023). Devido à grande população e considerada mobilidade global das aves migratórias, estas são capazes de promover a disseminação de patógenos e constituem uma grande preocupação à saúde pública. Os resultados apresentados neste estudo evidenciam esta atenção sanitária, resultando em uma variedade de gêneros bacterianos identificados e seus diferentes perfis de resistência. Amoxicilina e ácido clavulânico foram os antimicrobianos com maior índice de resistência identificados (34%), o que difere de outros estudos semelhantes realizados em aves marinhas na costa de Portugal e da Argélia onde obtiveram taxas de resistência nula e abaixo de 5% dos isolados, respectivamente (Freire et al., 2022; Belmahdi et al., 2022). Por outro lado, Alroy e Ellis (2011) obtiveram resultados semelhantes com isolados a partir de swabs cloacais de gaivota-prateada (*Larus argentatus*) na região nordeste dos EUA, com a identificação de cepas resistentes a diferentes antimicrobianos, incluindo tetraciclina, ampicilina, sulfametoxazol/trimetoprim, gentamicina, ciprofloxacina e clorafenicol.

Estudos realizados por Rodrigues e Mesquita (2016) revelaram ocorrer maior frequência de *E. coli* produtora de ESBL a partir de isolados de origem hospitalar, sendo a *E. coli* e a *K. pneumoniae* as espécies mais comumente produtoras de ESBL (Mana, 2014). Esses resultados estão de acordo com o presente estudo, já que isolados mostraram-se positivos para a produção de ESBL (23,4%) por meio do método fenotípico do disco-aproximação. Recentemente, bactérias resistentes a antibióticos de animais selvagens têm atraído grande atenção científica e a potencial contribuição desses animais como reservatórios de genes de resistência a antimicrobianos (antibiotic resistance genes – ARGs) tem sido reconhecida (Torres et al., 2021). Aves selvagens, especialmente migratórias, podem desempenhar papel importante na transmissão desses microrganismos carreadores de ARGs. No entanto o presente estudo não detectou ARGs nos isolados bacterianos analisados por meio da PCR. Ainda que se tenham poucos estudos para comparação, nota-se que a produção de ESBL por enterobactérias em aves silvestres é alta e tem se elevado ao longo dos anos (Zhang et al., 2022; Wink et al., 2022; Freire et al., 2022; Belmahdi et al., 2022). Assim, o avanço de microrganismos carreadores de ARGs ao longo dos últimos anos, expressa uma preocupação em saúde única com a propagação desses genes independente do hospedeiro, incluindo o homem, as aves ou animais em geral.

O uso indiscriminado de antimicrobianos é considerado a principal causa da seleção de microrganismos carreadores de ARGs, sendo este um assunto importante e que requer estudos mais abrangentes em termos de espécie e comportamento de animais selvagens (Darwich et al., 2019). Essa atenção pode ser evidenciada pela identificação de resistência dos isolados à diferentes classes de  $\beta$ -lactâmicos, sendo esta escolha eletiva no tratamento de infecções determinadas por enterobactérias. Seu uso é justificado pela baixa toxicidade e eficácia terapêutica quando adequadamente administrado (Nabti et al., 2019; Marin et al., 2022).

Devido a algumas limitações do presente estudo, como menor intervalo de permanência no local de estudo e, consequentemente, baixo número de amostras coletadas, há necessidade da realização de outros estudos mais abrangentes, envolvendo outros locais de descanso na costa brasileira que estão presentes nas rotas das aves migratórias identificadas. Foram identificados gêneros que são normalmente encontrados em aves silvestres, assim como no ambiente e também em outros animais. Por outro lado, foram identificados diferentes isolados que apresentaram perfis de resistência importantes, especialmente para  $\beta$ -lactâmicos. O monitoramento de aves silvestres é de considerável utilidade para avaliação do impacto da pressão antrópica específica de um local, podendo observar um melhor entendimento da resistência aos antimicrobianos no Brasil e no mundo.

## 5. Conclusão

Os locais para descanso e alimentação de aves em migração representam um ambiente extremamente propício para estudos relacionados à diversidade de espécies de aves silvestres. Por sua vez, essa variedade de aves pode desempenhar papel importante na variabilidade da microbiota, em especial a presença de gêneros bacterianos de potencial risco à saúde ambiental, animal e humana. A identificação de diferentes perfis de resistência a antimicrobianos reportada no presente estudo contribuiu para a elucidação da importância de um maior monitoramento das aves nesses locais por meio de estudos sobre o papel das aves na disseminação de microrganismos resistentes a antimicrobianos. A identificação de diferentes isolados produtores de ESBL em aves silvestres migratórias no litoral paraibano pode ser ainda considerada um importante parâmetro relacionado à saúde única, especialmente à transmissão e manutenção de enterobactérias em diferentes ecossistemas.

## 6. Referências

- Ahlstrom CA, Scott LC, Woksepp H, et al. Environmental antimicrobial resistance gene detection from wild bird habitats using two methods: A commercially available culture-independent qPCR assay and culture of indicator bacteria followed by whole-genome sequencing. *J Glob Antimicrob Re*, 33:186-193, 2023. (10.1016/j.jgar.2023.03.009)
- Alroy K, Ellis JC. Pilot study of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in herring gulls (*Larus argentatus*) and wastewater in the northeastern United States. *J Zoo Anim Med*, 42:(1):160-163, 2011. (10.1638/2010-0130.1)
- Belmahdi M, Chenouf NS, Belmahdi AAB, et al. Extended Spectrum-Lactamase-Producing *Escherichia coli* from Poultry and Wild Birds (Sparrow) in Djelfa (Algeria), with Frequent Detection of CTX-M-14 in Sparrow. *Antibiotics*, 11:1814, 2022. (10.3390/antibiotics11121814)
- Cardoso MD, Santos AFM, Rodrigues MS, et al. *Salmonella* spp. profiles isolated from seabird samples from the Brazilian coast. *Prev Vet Med*, 193: 1-7, 2021. (10.1016/j.prevetmed.2021.105413)
- Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Twenty: first information supplement. 25<sup>ed</sup>. Wayne: CLSI, 2015. 362 p. (ISBN 9781684401352)
- Darwich L, Vidal A, Seminati C, et al. High prevalence and diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and emergence of OXA-48 producing Enterobacterales in wildlife in Catalonia. *Plos One*, 14:(8): e0210686, 2019. (10.1371/journal.pone.0210686)
- Davies YM, Franco LS, Barbosa FB, et al. Use of MALDI-TOF for identification and surveillance of gram-negative bacteria in captive wild psittacines. *Braz J Biol*, 82: e233523, 2022. (10.1590/1519-6984.233523)
- Defaye B, Moutailler S, Vollot B, et al. Detection of Pathogens and Ticks on Sedentary and Migratory Birds in Two Corsican Wetlands (France, Mediterranean Area). *Microorganisms*, 11:869, 2023. (10.3390/microorganisms11040869)
- Di Francesco A, Salvatore D, Bertelloni F, et al. Tetracycline Resistance Genes in Wild Birds from a Wildlife Recovery Centre in Central Italy. *Animals*, 13:(76):1-10, 2023. (10.3390/ani13010076)
- Farmer JJ. Enterobacteriaceae: introduction and identification In: Manual of clinical microbiology, Washington D.C., 1999, p. 442-458.
- Foti M, Rinaldo D, Guercio A, et al. Pathogenic microorganisms carried by migratory birds passing through the territory of the island of Ustica, Sicily (Italy). *Avian Pathol*, 40:(4):405-409, 2011. (10.1080/03079457.2011.588940)
- Freire S, Grilo T, Poirel L, et al. Urban Pigeons (*Columba livia*) as a Source of Broad-Spectrum-B-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Lisbon, Portugal. *Antibiotics*, 11:1368, 2022. (10.3390/antibiotics11101368)
- Hubálek Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *J Wildlife Dis*. 40:(4):639-659, 2004. (10.7589/0090-3558-40.4.639)
- Mana M, Bossani N, Romanelli S, et al. Prevalência de *Klebsiella* spp. ESBL isolada em Hospital Escola do Sul de Minas Gerais. *Rev Univ Vale do Rio Verde*, 12:(2):497-506, 2014. (10.5892/ruvrd.v12i2.1503)
- Matias CAR, Pereira IA, Reis EMF, et al. Frequency of zoonotic bacteria among illegally traded wild birds in Rio de Janeiro. *Vet Microbiol*, 47:882-888, 2016. (10.1016/j.bjm.2016.07.012)
- Marin J, Clermont O, Royer G, et al. The Population Genomics of Increased Virulence and Antibiotic Resistance in Human Commensal *Escherichia coli* over 30 Years in France. *Appl Environ Microb*, 88:(15):1-16, 2022. (10.1128/aem.00664-22)
- Nabti LZ, Sahli F, Radji N, et al. High Prevalence of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* in Urine Samples from Inpatients and Outpatients at a Tertiary Care Hospital in Sétif, Algeria. *Microb Drug Resist*, 25:(3):386-393, 2019 (10.1089/mdr.2018.0314)
- Piersma T. Using the power of comparison to explain habitat use and migration strategies of shorebirds worldwide. *J Ornithol*, 148:(1):45-59, 2007. (10.1007/s10336-007-0240-3)
- Rodrigues FCB, Mesquita ARC. Enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBL) em uroculturas de transplantados renais: frequência e perfil de resistência. *Ver Bras Anal Clin*, 48:(2):129-132, 2016. (ISSN: 24483877)
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2<sup>ed</sup>. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 2344p. (ISBN 978-0879695774)
- Schunck F, Silveira LF, Candia-Gallardo C. Seasonal altitudinal movements of birds in Brazil: a review. *Zoologia*, 40:e22037, 2023. (10.1590/S1984-4689.v40.e22037)
- Song H, Yi S, Kim WH, et al. Environmental Perturbations during the Rehabilitation of Wild Migratory Birds Induce Gut Microbiome Alteration and Antibiotic Resistance Acquisition. *Microbiol Spec*, 10:(4):1-15, 2022. (10.1128/spectrum.01163-22)
- Torres RT, Carvalho J, Cunha MV, et al. Temporal and geographical research trends of antimicrobial resistance in wildlife – A bibliometric analysis. *One Health*, 21:(11):100198, 2021. (10.1016/j.onehlt.2020.100198)

Wink PL, Lima-Morales D, Meurer R, et al. Escherichia coli carrying blaNDM-1 obtained from a migratory penguin (*Spheniscus magellanicus*) in the Brazilian seacoast. *Braz J Microbiol*, 53: 499-502, 2022. (10.1007/s42770-021-00652-7)

Zhang W, Lu A, Chen S et al. Molecular epidemiology and population genomics of tet(X4), blaNDM or mcr-1 positive Escherichia coli from migratory birds in southeast coast of China. *Ecotoxicol Environ Safety*, 244: 1-8, 2022. (10.1016/j.ecoenv.2022.114032)