



**Staphylococcus sp. e Salmonella spp. isolados de pombos nas mediações do Hospital Veterinário da UFMG**  
**Giulia Said Oliveira<sup>1\*</sup>, Clara Alcântara Lara de Mesquita<sup>1</sup>, Isabela Pádua Zanon<sup>1</sup>, Isadora Maria Soares de Melo<sup>1</sup>, Rafael**  
**Gariglio Clark Xavier<sup>2</sup>, Jordana Almeida Santana<sup>2</sup> e Rodrigo Otávio Silveira Silva<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: giuliasaid21@gmail.com

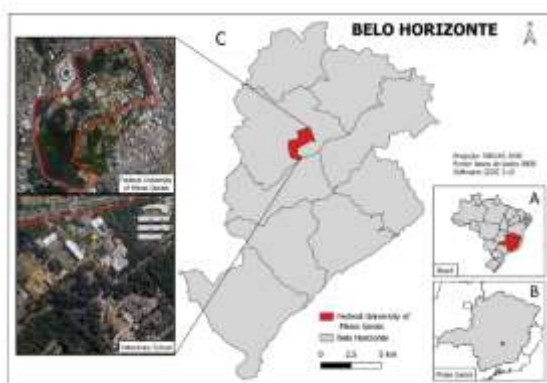
<sup>2</sup>Discente no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

<sup>3</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte/MG – Brasil

**INTRODUÇÃO**

Pombos são animais sinantrópicos que possuem uma ampla distribuição mundial, sendo frequentemente encontrados em grandes cidades devido à disponibilidade de alimento, aliado a poucos predadores naturais.<sup>1</sup> Tal espécie é conhecida por hospedar e disseminar zoonoses, como *Cryptococcus neoformans* e *Salmonella enterica*. Esses animais são capazes de atuar como agentes carreadores de bactérias multirresistentes.<sup>2,3</sup> O íntimo contato com a espécie e principalmente suas fezes, são fatores de risco para seres humanos que compartilham ambientes com estes animais, como é o caso do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) (Figura 1), compartilhando o ambiente hospitalar com uma população numerosa de pombos que veio aumentando ao longo dos anos. Embora os pombos possuam um conhecido potencial de reservatório de patógenos, existem poucos relatos avaliando a presença de agentes específicos como *Staphylococcus sp.* e *Salmonella spp.*<sup>4,5</sup>, e nenhum estudo avaliando sua presença destes patógenos em um ambiente universitário até o presente estudo. O objetivo do trabalho foi investigar a presença e a susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus sp.* e *Salmonella sp.* em pombos capturados nas imediações do hospital veterinário da UFMG.

**Figura 1:** Mapa mostrando a localização da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Fonte: Produção pessoal, 2022.



**METODOLOGIA**

Os animais foram capturados através de redes de neblina colocadas nos cochos de grandes animais do Hospital Veterinário, em três campanhas de captura diferentes (CEUA 361/2018). A primeira ocorreu em janeiro de 2019, durante o período de chuvas, resultando na captura de 18 animais. A segunda ocorreu em julho de 2019, durante a estação seca, com 13 animais capturados. A última campanha foi realizada em janeiro de 2020, com a obtenção de 16 pombos. Após as capturas, os animais receberam anéis coloridos para identificação e monitoramento, e foram acondicionados em gaiolas individuais. As fezes foram coletadas das gaiolas imediatamente após excreção utilizando espátulas e microtubos estéreis. Para o isolamento de *Salmonella spp.*, suabes estéreis foram introduzidos na cloaca dos animais, e homogeneizadas com 500 µL de solução tampão fosfato (PBS). As amostras de fezes foram acondicionadas em caixa de transporte com gelo e encaminhadas para o processamento no laboratório de Bacterioses e Pesquisa da Escola de Veterinária da UFMG.

Os suabes obtidos das cloacas foram plaqueados no meio Hektoen Entérico (HE) e inoculados em caldo Rappaport Vassiliadis, em seguida plaqueados novamente em HE. As colônias com morfologia sugestiva de *Salmonella spp.* passaram por avaliação de gene constitutivo através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), seguida da identificação

da espécie, subespécie e sorotipagem, buscando avaliar a diversidade genética dos isolados de pombos. Por fim, a sensibilidade antimicrobiana foi testada através da técnica de disco-difusão em ágar, utilizando os seguintes fármacos: cloranfenicol (30 µg), Sulfametoxazol/trimetoprim (25 µg), ceftriaxona (30 µg), ceftiofur (30 µg), amoxicilina/ácido clavulânico (30 µg), ampicilina (10 µg), tetraciclina (30 µg), Ácido nalidixico (30 µg), enrofloxacin (5 µg) e ciprofloxacina (5 µg).<sup>6,7</sup>

Para o isolado de *Staphylococcus sp.* as fezes foram suspensas em solução salina 0,85% e inoculadas em ágar Manitol Salgado. As colônias foram subcultivadas em ágar Infusão Cérebro e Coração (BHI) e identificadas pela técnica de espectrometria de massa por ionização com desorção à laser assistida por matriz - tempo de voo (MALDI-ToF).

Foi realizada a busca pelo *gene mecA*, responsável pela resistência à meticilina, através da técnica de PCR. Por fim as amostras tiveram sua susceptibilidade antimicrobiana avaliada através da técnica de disco-difusão em ágar, utilizando as seguintes bases: cefoxitina (30 µg), penicilina G (10 unidades), tetraciclina (30 µg), sulfametoxazol/trimetoprim (25 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), gentamicina (10 µg) e ciprofloxacina (5 µg).<sup>6,7</sup>

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A correlação entre os eventos de captura, a presença dos agentes patogênicos e a frequência dos isolados foi avaliada usando o teste exato de Fisher, com 95% de confiança (Tabela 1).

**Tabela 1:** Frequência dos isolados de encontrados em pombos de vida livre (n=47) em três eventos de captura no HV-UFMG.

Agente	Captura (%)			Total (n=47)
	Primeira	Segunda	Terceira	
<b>Salmonella spp.</b>	9/18 (50) <sup>a</sup>	0/13 (0) <sup>b</sup>	0/16 (0) <sup>b</sup>	9/47 (12.8)
<i>S. Typhimurium</i>	6/18 (33.3)	0/13 (0)	0/16 (0)	6/47 (6.4)
<i>S. Heidelberg</i>	3/18 (18.7)	0/13 (0)	0/16 (0)	3/47 (6.4)
<b>Staphylococcus sp.</b>	7/18 (38.9)	6/13 (46.1)	7/16 (43.7)	20/47 (42.5)
<i>S. xylosum</i>	3/18 (16.7)	2/13 (15.4)	1/16 (6.3)	6/47 (12.8)
<i>S. sciuri</i>	2/18 (11.1)	1/13 (7.7)	2/16 (12.5)	5/47 (10.6)
<i>S. lentus</i>	0/18 (0)	0/13 (0)	3/16 (18.7)	3/47 (6.4)
<i>S. haemolyticus</i>	0/18 (0)	2/13 (15.4)	0/16 (0)	2/47 (4.2)
<i>S. aureus</i>	0/18 (0)	0/13 (0)	1/16 (6.3)	1/47 (2.1)
<i>S. intermedius</i>	1/18 (5.6)	0/13 (0)	0/16 (0)	1/47 (2.1)
<i>S. succinus</i>	0/18 (0)	1/13 (7.7)	0/16 (0)	1/47 (2.1)
<i>S. schleiferi</i>	1/18 (5.6)	0/13 (0)	0/16 (0)	1/47 (2.1)

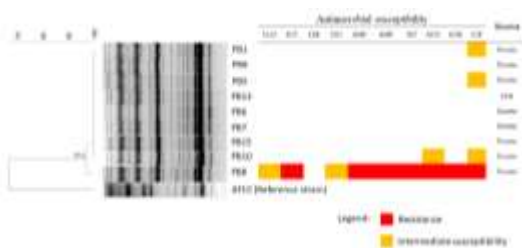
Letras minúsculas distintas indicam existência de diferença estatística ( $p < 0.05$ ).

Considerando todos os eventos de captura, o isolamento de *Salmonella spp.* foi encontrado em 19,1% dos pombos, sendo todos do período de janeiro de 2019, com uma elevada diferença entre os outros dois eventos. As amostras de *Salmonella* passaram por uma avaliação genética que encontrou similaridade entre oito das nove amostras obtidas durante o primeiro evento de captura (Figura 2). Tal fato sugere um possível surto durante este período de amostragem, o que está de acordo com estudos prévios que relatam surtos de salmonelose em animais durante o período



chuvoso, que aparenta ser um fator de risco para a disseminação bacteriana.<sup>9</sup>

**Figura 2:** avaliação da similaridade genética e susceptibilidade antimicrobiana das amostras de *Salmonella* spp. Fonte: Produção pessoal, 2022.



Um dos animais morreu após a captura, apresentando hepatomegalia, serosa do intestino delgado difusamente hiperêmica, com conteúdo hemorrágico intestinal, sendo *S. typhimurium* reisolado das fezes e do fígado do animal. Tal amostra apresentou resistência à sulfametoxazol/trimetoprim, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, tetraciclina, enrofloxacin, ciprofloxacina e ácido nalidíxico, sendo classificada como amostra multiresistente. As demais amostras não apresentaram resistência aos antimicrobianos testados, entretanto a transmissão de *Salmonella* spp. entre pombos e seres humanos já foi relatada, mas os estudos que associam a salmonelose ao contato com os pombos são escassos<sup>10</sup>.

Dentre todos os 47 pombos capturados, foram identificados *Staphylococcus* sp. em 42,5% dos animais, sendo detectadas oito espécies diferentes, com maior prevalência de *S. xylosum*. Sete (35%) dos isolados foram resistentes a ao menos um agente antimicrobiano, enquanto treze (65%) das amostras foram sensíveis a todas as amostras. Não foi encontrada diferença estatística entre a resistência à tetraciclina, penicilina G, eritromicina e clindamicina. Apenas um isolado de *S. aureus* apresentou resistência a penicilina G, eritromicina e clindamicina.

Cerca de mais de um terço dos animais capturados foi positivo para *Staphylococcus* sp., sendo descobertas oito espécies diferentes. Na natureza, os pombos aparentam ter uma colonização mais homogênea que a apresentada no estudo, sendo sugerido que o contato diário com humanos e outras espécies animais, aliado ao ambiente hospitalar pode ter influenciado a diversidade das espécies recuperadas.<sup>12</sup> A amostra de *S. aureus* isolada no presente estudo apresentou resistência a múltiplas drogas, o que vai de acordo com estudos prévios que indicam que o convívio com seres humanos e animais está mais associado à transmissão de genes de resistência antimicrobiana.<sup>13</sup> Mais de um terço dos isolados apresentou resistência à pelo menos um antimicrobiano, principalmente tetraciclina e penicilina G, amplamente utilizadas em medicina humana e veterinária.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo sugere que pombos capturados ao redor da escola de veterinária da UFMG podem atuar como reservatórios e disseminadores de bactérias patogênicas, incluindo algumas que possuem conhecidos genes de resistência a antimicrobianos. Em um ambiente hospitalar, é necessário realizar um diagnóstico precoce, permitindo o uso racional de antibióticos, algo fundamental dentro do entendimento da relação entre o homem os animais e o ambiente, chamado de Saúde Única. A evidência do potencial reservatório dos pombos comprova a importância do manejo adequado de suas populações, visando evitar a disseminação de zoonoses para a comunidade universitária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

<sup>1</sup> SPENNEMANN, D.H.R.; WATSON, M.J. Dietary habits of urban pigeons (*Columba livia*) and implications of excreta pH – a review. EJE, v.3, n.1, p.27-41, 2017. DOI: 10.1515/eje-2017-0004

<sup>2</sup> BORGES, C.A.; CARDOZO, M.V.; BERALDO, L.G.; OLIVEIRA, E.S.; MALUTA, R.P.; BARBOZA, K.B.; WERTHER, K.; ÁVILA, F.A. Wild birds and urban pigeons as reservoirs for diarrheagenic

*Escherichia coli* with zoonotic potential. Journal of Microbiology (Seoul, Korea), v.55, p.344–348, 2017. DOI: 10.1007/s12275-017-6523-3.

<sup>3</sup> TORRES-MEJÍA, A.M.; BLANCO-PEÑA, K.; RODRÍGUEZ, C.; DUARTE, F.; JIMÉNEZ-SOTO, M.; ESPERÓN, F. Zoonotic Agents in Feral Pigeons (*Columba livia*) from Costa Rica: Possible Improvements to Diminish Contagion Risks. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, v.18, p.49–54, 2018. DOI: 10.1089/vbz.2017.2131.

<sup>4</sup> ARGIUOLO, A.; RUSSO, T.P.; SCETTINI, R.; MALLARDO, K.; CALABRIA, M.; MENNA, L.F.; RAI, P.; PAGNINI, U.; CAPUTO, V.; FIORETTI, A.; DIPINETO, L. Occurrence of Enteropathogenic Bacteria in Urban Pigeons (*Columba livia*) in Italy. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, v.14, p.251–255, 2014. DOI: 10.1089/vbz.2011.0943.

<sup>5</sup> HAESSENDONCK, R.; RASSCHAERT, G.; MARTEL, A.; VERBRUGGHE, E.; HEYNDRIKX, M.; HAESBROUCK, F.; PASMANS, F. Feral pigeons: A reservoir of zoonotic *Salmonella* Enteritidis strains? Veterinary Microbiology, v.195, p.101–103, 2016. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.09.017.

<sup>6</sup> CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI M100 (ISBN 1-56238-804-5 [Print]; ISBN 1-56238-805-3 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2017.

<sup>7</sup> CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 4th ed. CLSI supplement VET08 (ISBN 978-1-68440-010-2 [Print]; ISBN 978-1-68440-011-9 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2018.

<sup>8</sup> MAGIORAKOS, A.P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v.18, p.268–281, 2012. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.

<sup>9</sup> DUTTA, P.; BORAH, M.; SARMAH, R.; GANGIL, R. Isolation of *Salmonella Typhimurium* from pigeons (*Columba livia*) in Greater Guwahati, its histopathological impact and antibiogram. Comparative Clinical Pathology, v.22, p.147–150, 2013. DOI: 10.1007/s00580-012-1614-3

<sup>10</sup> SPENNEMANN, D.H.R.; WATSON, M.J. Dietary habits of urban pigeons (*Columba livia*) and implications of excreta pH – a review. EJE, v.3, n.1, p.27-41, 2017. DOI: 10.1515/eje-2017-0004

<sup>12</sup> KAMATHEWATTA, K.I. et al. Exploration of antibiotic resistance risks in a veterinary teaching hospital with Oxford Nanopore long read sequencing. PLoS ONE, v.14, p.e0217600, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0217600.

<sup>13</sup> SIDHU, M.S.; OPPEGAARD, H.; DEVOR, T.P.; SØRUM, H. Persistence of multidrug-resistant *Staphylococcus haemolyticus* in an animal veterinary teaching hospital clinic. Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.), v.13, p.271–280, 2007. DOI: 10.1089/mdr.2007.756.

APOIO:

