

AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA BACTERIANA E FÚNGICA EM FEZES DE JABUTIS (*Geochelone carbonaria*) CRIADOS EM DOMICÍLIO NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.

PESSOA, C. A.¹; BANDINI, L.¹; BENITES, N. R.¹; GUTJAHR, M.¹; SAKATA, S. T.¹; FRANCA, A. P.^{1*}; MINAGAWA, C. Y.¹; MELVILLE, P. A.¹

Resumo. A popularidade de diferentes répteis criados como animais de estimação vem crescendo e tem causado preocupação quanto ao seu impacto na saúde pública, considerando-se o escasso conhecimento sobre os tipos de doenças que estes animais podem transmitir, bem como sobre as medidas profiláticas que devem ser tomadas para prevenir a transmissão destas doenças. Desta forma, o conhecimento dos patógenos que estes animais albergam e que apresentam potencial zoonótico passa a ser importante para a orientação dos proprietários quanto aos cuidados com estes animais e implementação de medidas profiláticas adequadas. Os microrganismos que compõe a microbiota podem se tornar patogênicos para seus hospedeiros quando os mesmos encontram-se debilitados bem como, a eliminação contínua destes microrganismos (pelas fezes, por exemplo) por répteis aparentemente saudáveis ou mesmo doentes, pode representar um importante problema para pessoas que tenham contato com eles. Considerando-se que os répteis participam de forma importante do mercado de animais criados como *pets*, suas características microbiológicas devem ser pesquisadas, visando evitar que eles adoeçam ou venham a óbito devido à ocorrência de doenças infecciosas e não transmitam zoonoses para aqueles que os manipulam ou que com eles convivem. Este trabalho tem como objetivos o estudo da ocorrência de agentes bacterianos e fúngicos em fezes de jabutis (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio no Estado de São Paulo. Procedeu-se à coleta de fezes de 50 jabutis através de “swabs” estéreis introduzidos por via cloacal. Foram realizados exames microbiológicos visando a pesquisa de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas, fungos filamentosos e leveduras. Considerando-se o total de 50 amostras avaliadas, foram isolados os seguintes microrganismos: *Escherichia coli* (76%), *Bacillus* sp. (54%), *Klebsiella* spp. (*K. ozaenae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) (50%), *Candida* spp. (*C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondi*, *C. lusitaniae*) (38%), *Corynebacterium* spp. (24%), *Citrobacter* spp. (*C. amalonaticus*, *C. diversus*, *C. freundii*) (22%), *Streptococcus* spp. (*S. mitior*, *S. zooepidemicus*) (18%), *Micrococcus* spp. (18%), *Pseudomonas aeruginosa* (16%), *Enterococcus* spp. (*E. faecalis*, *E. faecium*) (8%), *Salmonella* spp. (6%), *Acinetobacter lwoffii* (6%), *Edwardsiella tarda* (4%), *Serratia marcescens* (4%), *Enterobacter aerogenes* (4%), *Aeromonas sobria* (4%) e *Rhodotorula* sp. (2%). Não foram isolados fungos filamentosos. A associação entre dois ou mais gêneros e/ou espécies de microrganismos ocorreu em todas as amostras avaliadas. Verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as frequências de

¹ Laboratório de Doenças Infecciosas (Bacteriologia e Micologia) do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-000, São Paulo, SP, Brasil.

* FAPESP-auxílio financeiro

isolamento de bactérias Gram negativas e Gram positivas. Por sua vez a frequência de isolamentos de bactérias foi maior que a de leveduras ($p < 0,05$), assim como a frequência de isolamentos de bactérias tanto Gram positivas como de Gram negativas foi maior que a de leveduras ($p < 0,05$). Deve-se ressaltar que todos os microrganismos isolados neste estudo apresentam potencial patogênico tanto para jabutis como para o ser humano.

Introdução

As elevadas densidades populacionais humanas e de animais domésticos, associadas com o desenvolvimento da agricultura, promovem cada vez mais um maior contato com espécies selvagens. Este contato aproxima agentes infecciosos ou parasitários no sentido de encontrarem novos hospedeiros e novos ambientes nos quais existam condições de manutenção, multiplicação e transmissão dos mesmos (CORRÊA & PASSOS, 2001). Tendo em vista que vários *habitats* naturais vem sendo deteriorados devido à exploração comercial das florestas, recursos agrícolas e minerais nas zonas tropicais e temperadas, existe uma urgência cada vez maior em prover um ambiente apropriado para estes animais selvagens (FRYE, 1991).

A importância da relação homem-animal e seus efeitos positivos é bastante reconhecida. Assim sendo, o conhecimento sobre a epidemiologia das doenças transmissíveis torna-se vital para preservar a saúde humana e animal (CORRÊA & PASSOS, 2001; JOHNSON-DELANEY, 1996).

A medicina humana não está familiarizada com as zoonoses transmitidas por répteis e, raramente, durante uma consulta, procede-se à averiguação sobre informações acerca do contato entre o paciente e um réptil de estimação (JOHNSON-DELANEY, 1996).

Os Médicos Veterinários que trabalham com répteis freqüentemente são indagados pelos proprietários sobre os tipos de doenças que estes animais podem transmitir, bem como sobre as medidas profiláticas que devem ser tomadas para prevenir a transmissão destas doenças. Desta forma, o conhecimento dos patógenos que estes animais albergam e que apresentam potencial zoonótico passa a ser importante para a orientação dos proprietários quanto aos cuidados com estes animais e implementação de medidas profiláticas adequadas (JOHNSON-DELANEY, 1996).

As crianças são bastante susceptíveis às infecções após manipulação de répteis criados como *pets*, devido a sua propensão em colocar a mão e/ou os dedos contaminados na boca, ou mesmo beijar estes animais ou cobrá-los na boca. Deve-se ressaltar ainda que, indivíduos imunossuprimidos ou imunocomprometidos, idosos, bem como pacientes submetidos a terapias imunossupressoras, também apresentam grande risco em contrair estas zoonoses. Os microrganismos que compõe a microbiota podem se tornar patogênicos para seus hospedeiros quando os mesmos encontram-se debilitados bem como, a eliminação contínua destes microrganismos (pelas fezes, por exemplo) por répteis aparentemente saudáveis ou mesmo doentes, pode representar um importante problema para pessoas que tenham contato com eles. Indivíduos que não tenham muitos cuidados quanto à higiene ao se alimentar, pessoas que fumam, crianças que tenham o hábito de chupar os

dedos, podem inadvertidamente, se auto-inocular com estes microrganismos eles (JOHNSON-DELANEY, 1996; FRYE, 1991).

Considerando-se que os répteis participam de forma importante do mercado de animais criados como *pets*, suas características microbiológicas devem ser pesquisadas, visando evitar que eles adoçam ou venham a óbito devido à ocorrência de doenças infecciosas e não transmitam zoonoses para aqueles que os manipulam ou que com eles convivem.

Objetivos

O presente trabalho teve como objetivos analisar as microbiotas bacteriana (bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas) e fúngica presentes no intestino de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*) criados em domicílio

Material e Método

A coleta das fezes foi realizada em domicílios onde eram criados jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*) como animais de estimação no Estado de São Paulo.

Amostras de fezes foram colhidas de 50 jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*), sendo todos animais hígidos ou que apresentavam quadro sugestivo de enterite. A coleta das fezes foi realizada com o auxílio de “swab” estéril introduzido via cloacal. Os “swabs” foram acondicionados em meio de transporte de Stuart e conduzidos sob refrigeração ao laboratório.

Visando a pesquisa de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas, os “swabs” foram inicialmente inoculados em caldo BHI (Brain and heart infusion broth) com incubação a 37°C por 24 horas. As amostras também foram semeadas em ágar sangue de carneiro (5%) e ágar MacConkey, com incubação em aerobiose a 37°C com leituras em 24-96 horas. As amostras cultivadas em caldo BHI foram posteriormente semeadas em ágar sangue de carneiro (5%) e ágar MacConkey, com incubação destas realizada de forma similar à descrita anteriormente para o cultivo inicial.

Visando a pesquisa de *Salmonella* spp. os “swabs” foram inoculados em caldo tetrionato e caldo Rappaport-Vassiliadis, incubados a 37°C por 24 horas. Paralelamente as amostras também foram semeadas em ágar verde brilhante, ágar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT4) e ágar Salmonella-Shigella, com incubação em aerobiose a 37°C com leituras a 24-96 horas. Após a incubação as amostras inoculadas em caldo tetrionato e caldo Rappaport-Vassiliadis foram semeadas em ágar verde brilhante, ágar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT4) e ágar Salmonella-Shigella, com incubação destas realizada de forma similar à descrita anteriormente para o cultivo inicial.

Visando a pesquisa de fungos filamentosos e leveduras, procedeu-se também ao cultivo da amostra em caldo Sabouraud-dextrose e ágar Sabouraud-dextrose com incubação a 25°C por um período de 3 dias para o caldo e de 7 dias para o ágar que foi submetido a avaliações diárias. Após incubação de três dias, as amostras cultivadas em caldo Sabouraud-dextrose foram semeadas em ágar Sabouraud-dextrose, com incubação destas realizada de forma similar à descrita anteriormente para o cultivo inicial.

Os microrganismos isolados (bactérias e fungos) foram identificados de acordo com LENNETTE (1985) e classificados segundo KRIEG & HOLT (1994), MURRAY et al. (1999) e KREEGER-VAN-RIG (1984).

Resultados e Discussão

Considerando-se o total de 50 amostras avaliadas, foram isolados os seguintes microrganismos: *Escherichia coli* (76%), *Bacillus* sp. (54%), *Klebsiella* spp. (*K. ozaenae*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) (50%), *Candida* spp. (*C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitanae*) (38%), *Corynebacterium* spp. (24%), *Citrobacter* spp. (*C. amalonaticus*, *C. diversus*, *C. freundii*) (22%), *Streptococcus* spp. (*S. mitior*, *S. zooepidemicus*) (18%), *Micrococcus* spp. (18%), *Pseudomonas aeruginosa* (16%), *Enterococcus* spp. (*E. faecalis*, *E. faecium*) (8%), *Salmonella* spp. (6%), *Acinetobacter lwoffii* (6%), *Edwardsiella tarda* (4%), *Serratia marcescens* (4%), *Enterobacter aerogenes* (4%), *Aeromonas sobria* (4%), *Rhodotorula* sp. (2%). Não foram isolados fungos filamentosos. A associação entre dois ou mais gêneros e/ou espécies de microrganismos ocorreu em todas as amostras avaliadas. Verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as freqüências de isolamento de bactérias Gram negativas e Gram positivas. Por sua vez a freqüência de isolamentos de bactérias foi maior que a de fungos ($p < 0,05$), assim como a freqüência de isolamentos de bactérias tanto Gram positivas como de Gram negativas foi maior que a de fungos ($p < 0,05$).

A popularidade de diferentes répteis criados como animais de estimação vem crescendo e tem causado preocupação quanto ao seu impacto na saúde pública. Segundo JOHNSON-DELANEY (1996), répteis criados em domicílios podem apresentar risco potencial de transmissão de diferentes microrganismos como *Actinobacillus* sp., *Bacteroides* sp., *Clostridium* sp., *Corynebacterium* sp., *Leptospira* sp., *Mycobacterium* sp., *Neisseria* sp., *Pasteurella* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Campylobacter* sp., *Aeromonas* sp., *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Serratia* sp., *Yersinia* sp., *Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. No presente estudo foram isolados das fezes de jabutis, vários dos microrganismos citados pelo referido autor, tais como: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Corynebacterium* spp., *Citrobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes* e *Aeromonas sobria*.

Por outro lado, uma grande variedade de microrganismos, dentre bactérias, fungos, algas e vírus, pode ser patogênica para os répteis. A primeira linha de defesa contra surtos de doenças nestes animais é representada pela prevenção. Quando um animal apresenta uma doença cuja causa pode ser bacteriana ou fúngica, deve-se procurar identificar o agente etiológico o mais rápido possível. Pode-se citar alguns fatores predisponentes para ocorrência de infecções: má nutrição, alta umidade, super-população e água de baixa qualidade (FRYE, 1991).

Os microrganismos que compõe a microbiota podem se tornar patogênicos para seus hospedeiros quando os mesmos encontram-se debilitados. Além disso, a eliminação contínua destes microrganismos (pelas fezes, por exemplo) por répteis aparentemente saudáveis ou mesmo doentes,

pode representar um importante problema para pessoas que tenham contato com eles. Indivíduos que não tenham muitos cuidados quanto à higiene ao se alimentar, pessoas que fumam, crianças que tenham o hábito de chupar os dedos, podem inadvertidamente, se auto-inocular com estes microrganismos (FRYE, 1991).

Todos os microrganismos isolados neste estudo apresentam potencial patogênico tanto para jabutis como para o ser humano. Considerando-se que os répteis participam de forma importante do mercado de animais criados como *pets*, o presente estudo teve como intuito a pesquisa de características microbiológicas próprias dos jabutis, visando ampliar o conhecimento sobre estes animais e assim procurar evitar que eles adoeçam ou venham a óbito devido à ocorrência de doenças infecciosas e, por outro lado, não transmitam zoonoses para aqueles que os manipulam.

Referências

- CORRÊA, S. H. R.; PASSOS, E. C. Wild animals and public health. In FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, Medicine, and Surgery of South American wild animals**. Iowa State University Press, Iowa, 2001. p. 493 – 499.
- FRYE, F. L. Reptile care. An atlas of diseases and treatments. Vol. I. TFH Publications, USA, 1991.
- JOHNSON-DELANEY, C. A. Reptile zoonoses and threats to public health. In MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**. W. B. Saunders Company, Londres, 1996. p. 20 – 33.
- KREEGER-VAN-RIG, N. J. N. **The yeasts a taxonomic study**. 3. ed. Amsterdam. Elsevier Science Publisher, 1984.
- KRIEG, N. R.; HOLT, J.C. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994. 984 p.
- LENNETE, E. H.; HANSLER JR, W. J.; SHADOMY, H. J. **Manual of Clinical Microbiology**. Washington American Society for Microbiology Press.1985. 4. ed. 1149 p.
- MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. *In: Manual of Clinical Microbiology*. 7 ed. Washington: American Society for Microbiology. 1999. p.442-455.