



**MARIA EDUARDA DE SOUZA TEIXEIRA CAMPOS**

**DETECÇÃO DE *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e  
*Staphylococcus* spp. EM ARDEÍDEOS: INVESTIGAÇÃO DE  
POTENCIAIS RESERVATÓRIOS**

**LAVRAS - MG  
2023**

**MARIA EDUARDA DE SOUZA TEIXEIRA CAMPOS**

**DETECÇÃO DE *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. EM  
ARDEÍDEOS: INVESTIGAÇÃO DE POTENCIAIS RESERVATÓRIOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Patologia Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Dra. Angelica Terezinha Barth Wouters

Orientadora

Dra. Elaine Maria Seles Dorneles

Coorientadora

**Protocolo SISBIO: 76075-1**

**Protocolo CEUA/UFLA: 35/20**

**LAVRAS-MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Campos, Maria Eduarda de Souza Teixeira Campos.

Detecção de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus*  
spp. Em ardeídeos: investigação de potenciais reservatórios / Maria  
Eduarda de Souza Teixeira Campos. – 2023.

79 p. : il.

Orientador(a): Angélica Terezinha Barth Wouters.

Coorientador(a): Elaine Maria Seles Dorneles.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Enterobacteriaceas. 2. Aves selvagens. 3. Patógenos  
zoonóticos. 4. Salmonelose. I. Wouters, Angélica Terezinha Barth. II.  
Dorneles, Elaine Maria Seles. T. Título.

**MARIA EDUARDA DE SOUZA TEIXEIRA CAMPOS**

**DETECÇÃO DE *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus spp.* EM ARDEÍDEOS: INVESTIGAÇÃO DE POTENCIAIS RESERVATÓRIOS**

**DETECTION OF *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus spp.* IN ARDEIDES: INVESTIGATION OF POTENTIAL RESERVOIRS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Patologia Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 07/12/2022

Dra. Angelica T. Barth Wouters – UFLA  
Dr. Flademir Wouters – UFLA  
Dra. Bruna Resende Chaves - UNILAVRAS

Dra. Angelica Terezinha Barth Wouters  
Orientadora  
Dra. Elaine Maria Seles Dorneles  
Coorientadora

**LAVRAS-MG  
2023**

## DEDICATÓRIA

“Que se um dia eu pensar em desistir, o Senhor segure a minha mão impedindo minha queda. Que se um dia eu não acreditar em mim, que o senhor acredite e me faça enxergar tudo aquilo que não consigo ver. Que o senhor esteja sempre aqui por mim!” Okê Arô

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por nos oferecer novas chances todos os dias ao amanhecer.

Aos meus guias, que me protegem e iluminam minha caminhada.

À minha família, por me dar amor e suporte, sempre. À minha mãe Andreza e à minha avó Mariza, por não medirem esforços para a realização dos meus sonhos e objetivos.

Ao Matheus, por ser um grande amigo, companheiro, porto seguro e exemplo de disciplina.

À Universidade Federal de Lavras, por todos estes anos de aprendizado. Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Código de financiamento 001.

À professora Angelica, por todos esses anos de parceria e orientação, pela confiança depositada em mim e por ser grande exemplo de pessoa e profissional.

À professora Elaine agradeço pela oportunidade de expandir para novos horizontes de conhecimento, pelos aprendizados e por ter acreditado e investido na execução deste trabalho.

Aos demais professores do Setor de Patologia Veterinária. Agradeço o privilégio de poder aprender durante todos estes anos com vocês. Agradeço em especial ao professor Fladimir, por me auxiliar na leitura das lâminas histopatológicas e também por todo exemplo profissional e pessoal.

À Dircéia, pelo conhecimento compartilhado e grande auxílio na execução do projeto de mestrado. À Maysa, por toda boa vontade e disposição em ajudar.

À Isabella e à Paola, por toda ajuda na execução do experimento e por me permitirem ensinar e aprender.

Às equipes do LEM e do SPV pelo suporte e amizades feitas.

**Muito obrigada!**

## RESUMO

Ardeídeos são aves da Ordem Pelecaniformes, que se deslocam por grandes distâncias e formam densos ninhais em ambientes naturais e urbanos. Seu comportamento sinantrópico pode facilitar a disseminação de patógenos zoonóticos e de microrganismos resistentes a antimicrobianos. A pesquisa visou investigar se os Pelecaniformes de um ninhal localizado na zona urbana de Lavras, dentro do Campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), construído na área de um riacho que atravessa a cidade, são portadores de *Salmonella* spp., *E. coli* e *Staphylococcus* spp. e correlacionar as infecções à ocorrência de lesões macro e microscópicas nas aves examinadas. Na estação reprodutiva de 2021 foram realizadas visitas diárias a um ninhal de Pelecaniformes localizado no campus da UFLA. Filhotes encontrados mortos foram recolhidos e encaminhados ao Setor de Patologia Veterinária (SPV) da UFLA para exames. Filhotes encontrados caídos dos ninhos e moribundos também foram recolhidos, pesados, anestesiados e eutanasiados. Foi realizada avaliação macroscópica dos órgãos e tecidos, com descrição e registro fotográfico das alterações encontradas. Fragmentos de órgãos e tecidos foram colhidos e armazenados em formol a 10%, processados, corados com hematoxilina e eosina para análise histológica e avaliados em microscópio ótico. Foram coletadas excretas intracloacais de todos os cadáveres, bem como suabes de órgãos com lesões macroscópicas sugestivas dos microrganismos de interesse. Um suabe de cada material coletado foi armazenado em tubo contendo água peptonada tamponada e outro em meio de transporte Stuart, com identificação dos tubos de acordo com o registro de necropsia. As amostras foram encaminhadas para o LEM - UFLA para isolamento de *Salmonella* spp., *E. coli* e *Staphylococcus* spp. Até cinco colônias isoladas característica de cada microrganismo de interesse foram submetidas a testes preliminares de avaliação da morfologia microscópica por esfregaços corados por Gram; testes de catalase e coagulase para caracterização de *Staphylococcus* spp. e testes bioquímicos para as amostras sugestivas de *Salmonella* spp. Foram realizados testes de PCR utilizando primers específicos para cada um dos microrganismos. Foram avaliadas 10 garças-brancas-grandes (*Ardea alba*) e cinco garças-vaqueiras (*Bubulcus ibis*), a maioria dessas aves (92,85%) eram filhotes, com prevalência de 42,85% de *Salmonella* spp. e 64,28% de *E. coli*. Nenhuma ave foi detectada com *S. aureus*. A grande maioria dos isolados foi obtida por suabe cloacal, o que significa que os agentes estavam sendo eliminados pelas excretas das aves e representam preocupação significativa para a saúde pública, ademais, os ardeídeos são aves conhecidas por voos longos, o que indica que podem disseminar patógenos em diferentes áreas.

**Palavras chave:** Enterobacteriaceas. Aves selvagens. Patógenos zoonóticos. Salmonelose.

## ABSTRACT

Ardeids are birds of the Order Pelecaniformes, which move over great distances and form dense nests in natural and urban environments. Its synanthropic behavior can facilitate the spread of zoonotic pathogens and antimicrobial-resistant microorganisms. The research aims to investigate whether the Pelecaniformes from a nest located in the urban area of Lavras, within the Campus of the Federal University of Lavras (UFLA), built in the area of a stream that crosses the city, are carriers of *Salmonella* spp., *E. coli* and *Staphylococcus* spp. and to correlate the infections with the occurrence of macro and microscopic lesions in the examined birds. In the 2021 breeding season, daily visits were made to a nest of Pelecaniformes located on the UFLA campus. Puppies found dead were collected and sent to the UFLA SPV for examination. Cubs found fallen from the nests and dying were also collected, weighed, anesthetized and euthanized. A macroscopic evaluation of the organs and tissues was carried out, with a description and photographic record of the alterations found. Organ and tissue fragments were collected and stored in 10% formalin, processed, stained with hematoxylin and eosin for histological analysis and evaluated under an optical microscope. Intraclonal excreta were collected from all cadavers, as well as swabs from organs with macroscopic lesions suggestive of the microorganisms of interest. One swab of each material collected was stored in a tube containing buffered peptone water and another in Stuart transport medium, with identification of the tubes according to the necropsy record. Samples were sent to LEM - UFLA for isolation of *Salmonella* spp., *E. coli* and *Staphylococcus* spp. Up to five isolated colonies characteristic of each microorganism of interest were submitted to preliminary tests of evaluation of the microscopic morphology by Gram-stained smears; catalase and coagulase tests for characterization of *Staphylococcus* spp. and biochemical tests for samples suggestive of *Salmonella* spp. PCR tests were performed using specific primers for each of the microorganisms. Ten Great Egrets (*Ardea alba*) and five Cattle Egrets (*Bubulcus ibis*) were evaluated, most of these birds (92.85%) were young, with a prevalence of 42.85% of *Salmonella* spp. and 64.28% *E. coli*. No birds were detected with *S. aureus*. The vast majority of isolates were obtained by cloacal swab, which means that the agents were being eliminated by the birds' excreta and represent a significant public health concern. pathogens in different areas.

**Keywords:** Enterobacteriaceae; wild birds; Zoonotic pathogens; Salmonellosis.



## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1 – Exemplar de garça-branca-grande ( <i>Ardea alba</i> ) .....	4
Figura 2 – Exemplar de garça-vaqueira ( <i>Bubulcus ibis</i> ) .....	5
Figura 3 – Ardeídeos alimentando-se próximo a lixo doméstico no Rio Pinheiros, na cidade de São Paulo/SP, Brasil .....	6
Figura 4 – Esquema representativo sobre a interação entre aves de vida livre, resíduos urbanos, animais domésticos, humanos e meio ambiente, demonstrando a capacidade das aves como vetores de microrganismos....	8

### SEGUNDA PARTE

Figure 1 – Trash found in the Pelecaniformes nesting area at UFLA during the 2021 breeding season .....	46
Figure 2 – Coelomic cavity of Cattle Egret collected in the breeding season of 2021 in the Pelecaniformes nest of UFLA, liver with pale areas and white dots	48
Figure 3 – Intestine with blackened contents of a Great Egret specimen collected in the 2021 breeding season at the Pelecaniformes nesting site at UFLA....	48
Figure 4 – Liver of great egret collected in the breeding season of 2021 in the Pelecaniformes nest of UFLA, with multifocal lymphohistiocytic inflammatory infiltrate. H&E, obj. 20x.....	49
Figure 5 – Hemorrhagic lesions in the subcutaneous tissue of the head and neck, compatible with traumatic injuries, in Great Egret chicks collected at the UFLA Pelecaniformes nesting site in the 2021 breeding season and necropsied at the UFLA Veterinary Pathology Sector. (A) Dorsal view. (B) Side view.....	49
Figure 6 – Ethidium bromide stained 1% agarose gel (0.5 mg/ mL) of <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> . PCR performed on ardeid samples from Lavras, Minas Gerais, Brazil. A) <i>Salmonella</i> spp. PCR: ATCC (14028) used as positive control and samples tested negative (NS) and positive (PS). B) <i>Escherichia coli</i> PCR: ATCC (25922) used as positive control and sample tested positive (PS). C) <i>Staphylococcus aureus</i> PCR: ATCC sample (25923) used as a positive control, and negative samples (NS). 100 bp DNA Ladder (Ludwig Biotec, Brazil) (L); Negative control (NC).....	54

## LISTA DE TABELAS

### SEGUNDA PARTE

- Table 1 – Ardeids collected in a nest of Pelecaniformes located on the Campus of the Federal University of Lavras, in Lavras, Minas Gerais, Brazil, microorganisms detected and location of detection in each individual, necropsy diagnosis and lesions related to the detected microorganism..... 50
- Table 2 – *E. coli* phylogroups detected in ardeids collected in a Pelecaniformes nest located on the Campus of the Federal University of Lavras, in Lavras, Minas Gerais, Brazil..... 55

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	1
1.Introdução .....	1
2.Referencial Teórico .....	2
2.1 Ardeídeos.....	2
2.2 O potencial dos ardeídeos como reservatório e disseminadores de patógenos .....	6
2.3 <i>Salmonella</i> spp.....	9
2.4 <i>Escherichia coli</i> .....	15
2.5 <i>Staphylococcus</i> spp. ....	19
3.Considerações finais .....	21
4.Referências .....	23
<b>SEGUNDA PARTE</b> .....	39
DETECTION OF <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> IN ARDEIDS: INVESTIGATION OF POTENTIAL RESERVOIRS .....	40
Summary: .....	40
1.Introduction .....	41
2. Materials and methods.....	43
For isolation of <i>Salmonella</i> sp., swabs were cultured in BPW at 37 °C for 18 hours. After incubation, the samples were homogenized and enriched in Rappaport- Vassiliadis (Rp) broth (Kasvi, Madrid, Spain) and in Tetrathionate broth Broth Base (Tt) (Difco, Le Pont de Claix, France) at 42°C under aerobic conditions, for 24 hours, simultaneously. ....	44
3.Results .....	46
4.Discussion.....	55
5.Conclusion.....	58
6.References .....	59

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

Os ardeídeos são aves pertencentes à Ordem Pelecaniformes, adaptados a áreas de águas rasas, onde utilizam o ambiente para captura de alimentos, repouso e reprodução e se deslocam por grandes distâncias em busca desses corpos d'água. Formam densos ninhais em ambientes naturais e urbanos. Seu comportamento sinantrópico pode facilitar a disseminação de patógenos zoonóticos e de microrganismos com resistência antimicrobiana. Diversas bactérias patogênicas já foram isoladas de aves selvagens, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp., além de haver relatos da transmissão indireta desses patógenos para seres humanos.

Esses microrganismos são motivo de grande preocupação para a saúde pública. *Salmonella* spp. são uma das principais causas de diarreia em todos os continentes, com altos índices de morbidade e mortalidade em humanos. *E. coli* possui cepas responsáveis por causar graves doenças gastrointestinais e sistêmicas, além de apresentar alta plasticidade genética, sendo capaz de fornecer genes de patogenicidade, que podem transitar e proporcionar importantes recombinações gênicas entre bactérias. Já *Staphylococcus* sp. possui cepas com ampla resistência a antimicrobianos, responsáveis por importantes infecções nosocomiais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Ardeídeos

Os ardeídeos pertencem à Família Ardeidae, Ordem Pelecaniformes e são aves de ampla distribuição geográfica; elas ocorrem em todos os continentes. Possuem porte pequeno a médio, pernas e dedos compridos, pescoço fino e bico longo e pontudo e geralmente ocorrem em regiões pantanosas ou salobras (KUSHLAN; HANCOCK, 2005). São aves adaptadas a áreas de águas rasas (SILVA, 2011), nas quais utilizam o ambiente para captura de alimentos, repouso e reprodução (SMITH, 1995) e se deslocam por grandes distâncias em busca desses corpos d'água (BERNARDON, 2013). Os ardeídeos ocupam o topo da cadeia trófica, com dieta diversificada e oportunista, alimentam-se de insetos, anfíbios, peixes, répteis e moluscos (BELTON, 2004; KUSHLAN; HANCOCK, 2005).

A Família Ardeidae possui mais de 60 espécies (BERNARDON, 2013), entre elas a garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*), a garça-branca-grande (*Ardea alba*), a garça-branca-pequena (*Egretta thula*) e o savacu (*Nycticorax nycticorax*) (SICK, 1997). A nidificação dos Ardeídeos ocorre comumente em grupos mistos, formados por diversas espécies de aves (SMITH, 1995). Constroem densas colônias em arbustos localizados em áreas úmidas, como manguezais e banhados (BELTON, 2004), que podem ser formadas no mesmo sítio reprodutivo ao longo de várias temporadas, ou variar de local de acordo com a disponibilidade de alimento (FREDERICK, 2002). Os ninhais representam importante papel na ecologia dessas aves, pois o agrupamento favorece a defesa contra predadores e facilita a busca por parceiros e alimentos (SCHLOEMP, 1995), embora possam causar devastação intensa das áreas em que estão assentados, devido ao acúmulo de fezes, cadáveres e ovos em decomposição, com odor fétido e poluição sonora gerada pela vocalização das aves (GRANT; WATSON, 1995).

#### 2.1.1 Garça-branca-grande (*Ardea alba*)

A garça-branca-grande (*Ardea alba*) (FIGURA 1), também conhecida como garça-branca, possui plumagem toda branca, pescoço longo, bico amarelo e pernas e dedos pretos (BELTON, 1994). Mede 90 a 102 cm de comprimento e pesa 700 a 1700g (HANCOCK, 1999; MARTÍNEZ-VILALTA et al., 2016). A longevidade da espécie é de 22 anos (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2019a).

Assim como os demais ardeídeos, as garças-brancas-grandes vivem próximas de ambientes aquáticos. Sua dieta é composta predominantemente por peixes, embora também se alimentem de invertebrados, répteis, anfíbios e roedores (SILVA, 2011). Costumam caminhar lentamente dentro da água, próximas a margens rasas, à procura de alimento (MATARAZZO-NEUBERGER, 1994), onde são vistas alimentando-se solitárias, embora possam formar pequenos ou até mesmo grandes bandos, de acordo com a disponibilidade de alimento (DEL HOYO et al., 1992). Além disso, podem percorrer longas distâncias, voando em bandos pequenos ou numerosos (BELTON, 1994).

A espécie ocorre em diferentes tipos de zonas úmidas, interiores e costeiras (DEL HOYO et al., 1992). Ocorrem em todos os continentes, com exceção da Antártida, com tendência de distribuição populacional desconhecida (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2019b). São aves migratórias (SICK, 1997), embora no Brasil seja considerada pelo CBRO (2021) uma ave residente. Essas garças são comumente vistas em lagos, córregos e rios, inclusive de áreas urbanas de grandes cidades, como nos rios Tietê e Pinheiros, dentro da cidade de São Paulo/SP (MATARAZZO-NEUBERGER, 1994; SCHLOEMP, 1995).

O período reprodutivo das garças-brancas-grandes varia geograficamente (DEL HOYO et al., 1982). Em regiões de clima temperado a nidificação tende a ocorrer de abril a julho, enquanto que em áreas de clima tropical a reprodução tende a ocorrer próxima ao período de chuvas, quando há maior disponibilidade de alimento (KUSHLAN; HANCOCK 2005).

Possuem hábito diurno e crepuscular (BELTON, 1994) e normalmente não continuam a frequentar os ninhais nos períodos noturnos fora da estação reprodutiva (BELLA, 2003). Durante a estação reprodutiva o peito e o dorso das aves assumem cor ferrugem e o bico e o tarso ficam avermelhados (SICK, 1997).

A nidificação pode ocorrer de forma solitária ou em colônias de diferentes tamanhos (ARBALLO; CRAVINO, 1999), por vezes associadas a outras espécies (DEL HOYO et al., 1992). No caso de ninhais mistos, as garças-brancas-grandes tendem a confeccionar seus ninhos em árvores mais altas (BELLA, 2003), nos quais ovipõem dois ou três ovos cinza-azulados, cujo período de incubação é de 25 a 26 dias (SICK, 1997).

Figura 1 – Exemplar de garça-branca-grande (*Ardea alba*).



Fonte: Imagem de Cristiano Voitina.

### 2.1.2 Garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*)

A garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*) (FIGURA 2) é uma espécie originária da África e da Europa, onde ocupava planícies de inundação periódica (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2019b). Ao longo do tempo, a espécie se dispersou por todos os continentes, com registro de visualização até na Antártida (SICK, 1997). Nas Américas a primeira observação da espécie ocorreu na fronteira entre Guiana e Suriname, em 1877 e, posteriormente, em torno de 1948, se tornou abundante em toda a América do Sul (WETMORE, 1963; CROSBY, 1972), inclusive no Brasil, onde o primeiro registro de garça-vaqueira ocorreu na Ilha de Marajó, estado do Pará (SICK, 1979).

As garças-vaqueiras são diurnas (KUSHLAN; HANCOCK, 2005), com hábito de forrageamento ativo e dieta oportunista, composta principalmente por insetos que vivem associados ao gado, como grilos e gafanhotos, além de aranhas, pequenos anfíbios e répteis (TELFAIR, 1993; BELLA, 2003). O forrageamento ocorre comumente em áreas de campo aberto, onde as aves costumam forragear sozinhas ou acompanhando bovinos, aproveitando-se dos insetos levantados no capim pela movimentação dos bovinos (MUKHERJEE, 2013; FAVORETTO, 2019).

A plumagem das garças-vaqueiras é branca e durante as estações reprodutivas ficam alaranjadas no alto da cabeça, no peito e nas costas (HANCOCK; KUSHLAN, 1984). Medem

48 a 53 cm de comprimento e pesam 270 a 510 g (SICK, 1997). Fêmeas e machos são semelhantes, porém os machos são um pouco maiores e apresentam penas ligeiramente mais longas no período reprodutivo (MCKILLIGAN, 2005). A longevidade da espécie é de 23 anos (KOPIJ, 2017).

A temporada reprodutiva das garças-vaqueiras pode ocorrer de forma sazonal, varia de acordo com a região de estabelecimento do ninhal (FAVORETTO, 2019) e com a disponibilidade de alimento (MUKHERJEE, 2013). Formam casais monogâmicos sazonais, mas no início da formação é possível encontrar temporariamente trios compostos por um macho e duas fêmeas (CRAMP; SIMMONS, 1977). A maturidade reprodutiva das garças-vaqueiras é precoce e tem início no fim do primeiro ano de vida (SICK, 1997). As fêmeas ovipõem em média dois a três ovos de casca azul clara (HILALUDDIN et al., 2003) e a incubação ocorre em 21 a 24 dias (WEBER, 1975). Sobrevivem em média um a dois filhotes até o fim do período dos cuidados parentais (KOUR; SAHI, 2013). Em ninhos com eclosão de três ovos, normalmente o terceiro filhote morre de desnutrição em poucos dias (BLAKER, 1969). Além disso, filhotes com diferença de idade tendem a competir por alimento; os filhotes mais velhos se beneficiam mais facilmente, pois agarram o bico dos adultos para receber alimento e bicam a cabeça dos filhotes mais jovens para expulsá-los do ninho (WEBER, 1975). Essas bicadas causam importantes traumas e lesões perfurocontusas, geralmente fatais (FAVORETTO, 2019).

Figura 2 – Exemplar de garça-vaqueira (*Bubulcus ibis*).



Fonte: Imagem de Cristiano Voitina.



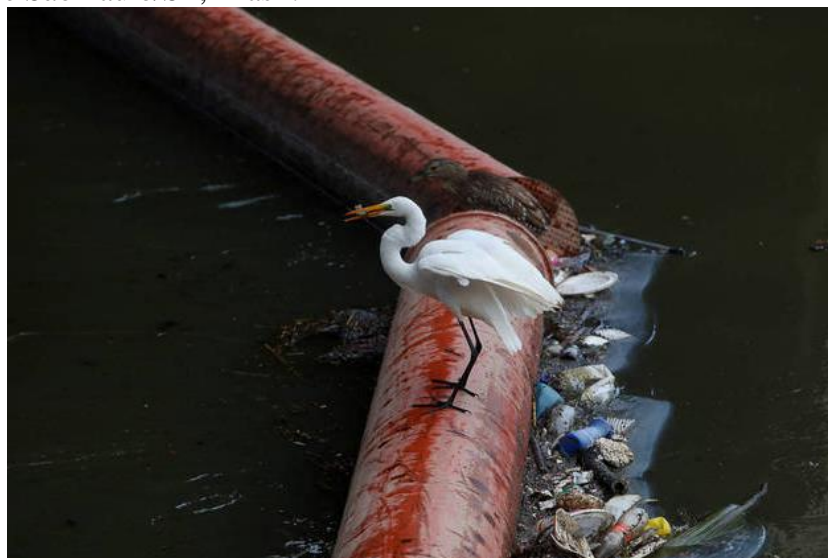
## 2.2 O potencial dos ardeídeos como reservatório e disseminadores de patógenos

Os ardeídeos podem nidificar tanto em ambientes naturais quanto em áreas urbanas ou periurbanas, sendo frequentemente vistos em praças, parques, portos e vilas de pescadores (SCHERER et al., 2006). As áreas urbanas oferecem melhores recursos, incluindo alimento, abrigo e menor pressão de predadores, o que favorece o estabelecimento e a expansão populacional de diversas espécies (MARTÍN-MALDONADO et al., 2020). Alguns ardeídeos são vistos frequentemente também em associação a criações de animais domésticos, como ruminantes e equinos, durante o forrageamento das aves (GOPEE et al., 2000; DELLA BELLA; AZEVEDO-JÚNIOR 2004; FONTENELLE, 2006),

A maior disponibilidade de recursos para as aves nas cidades, atrelada a temperaturas mais amenas no inverno em consequência de mudanças climáticas, permite que muitas espécies de aves selvagens encurtem ou até interrompam suas migrações, formando populações de aves residentes (GALVÁN et al., 2003; GILBERT et al., 2015; MARTÍN-MALDONADO et al., 2020), como ocorre frequentemente com as garças.

Muitas espécies de animais coabitam em áreas urbanas e periurbanas (pardais, pombos, urubus, lagartixas, ratos e até guaxinins e javalis) utilizando os recursos fornecidos pelas atividades humanas para sobreviver, alimentar e reproduzir (MIRANDA, 2017). Locais de depósito de lixo e aterros sanitários são, por exemplo, áreas cada vez mais frequentadas por ardeídeos (FIGURA 3) (SEEDIKKOYA; AZEEZ; SHUKKUR, 2013).

Figura 3 – Ardeídeos alimentando-se próximo a lixo doméstico no Rio Pinheiros, na cidade de São Paulo/SP, Brasil.



Fonte: <https://noticias.r7.com/sao-paulo/animais-vistos-no-rio-pinheiros-sp-criam-expectativa-de-despoluicao-22042021> (2021).

Em contrapartida, as áreas urbanas favorecem também o desenvolvimento de intoxicações, como botulismo; bioacumulação de metais pesados nocivos, como chumbo e pesticidas; ocorrência de lesões, decorrente, por exemplo, da ingestão de plástico e metais (TAGGART et al., 2016; SEIF et al., 2018); acúmulo de substâncias nocivas, como anti-inflamatórios e antimicrobianos; desenvolvimento de doenças nutricionais, por deficiência de vitaminas e outros nutrientes; e, não menos importante, são fonte de cepas multirresistentes de diversos microrganismos (CAMARDA et al., 2007; CAMACHO et al., 2016; MARTÍN-MALDONADO et al., 2020).

O comportamento sinantrópico dos ardeídeos acarreta estreita relação entre seres humanos e aves selvagens, aumentando o risco de disseminação de patógenos zoonóticos e de microrganismos com resistência a antimicrobianos (TSIODRAS et al., 2008; LIAKOPOULOUS et al., 2016; TROXLER et al., 2017; WANG et al., 2017).

Diversas investigações demonstram que aves selvagens podem adquirir bactérias patogênicas de resíduos e eliminá-las via fezes em outras localidades, com a ocorrência de surtos de amplo alcance e disseminação endêmica de cepas multirresistentes (SHARIF et al., 2020; YUAN et al., 2021). A associação direta ou indireta da vida selvagem a humanos e animais de produção pode aumentar as chances de transmissão de microrganismos dentro das populações de aves, como resultado da migração de regiões contaminadas (FIGURA 4) (ELMBERG et al., 2017). Além disso, aves que se agregam para alimentação ou reprodução podem disseminar esses microrganismos mais facilmente entre a população (GROND et al., 2018) resultando em significativa ameaça à avifauna selvagem e à conservação da biodiversidade (CARVALHO, 2006; HERNANDEZ-DIVERS et al., 2006; PENNYCOTT et al. 2006; NEWNAN et al., 2007).

Embora seja pouco investigado, o processo de zoonose reversa ou zooantroponose tem evidências relatadas (ADESOKAN et al., 2019), destacando uma conexão direta existente entre humanos, animais e meio ambiente, dentro de uma perspectiva Global de “One Health” (LEBOV et al., 2017).

Figura 4 – Esquema representativo sobre a interação entre aves de vida livre, resíduos urbanos, animais domésticos, humanos e meio ambiente, demonstrando a capacidade das aves como vetores de microrganismos.



Fonte: Adaptado de ANTILLES et al., 2020.

Tanto aves migratórias quanto aves selvagens residentes são suscetíveis a diversas infecções bacterianas comuns a animais domésticos e humanos (HUBÁLEK, 2004; BENSKIN et al., 2009; STENKAT et al. 2014; DIAS et al., 2019). Essas infecções bacterianas podem ser responsáveis pelo óbito das aves ou, ainda, torná-las reservatórios subclínicos ao longo de suas vidas (HUBÁLEK, 2004; BENSKIN et al., 2009).

Aves selvagens são consideradas, então, importantes vetores na disseminação de bactérias no meio ambiente (COLE et al., 2005) e podem representar risco à saúde humana (YORIO; GIACCARDI, 2002; MILLÁN et al., 2004; SILVA et al., 2010) e à saúde animal (PENNYCOTT et al., 2006; NEWMAN et al., 2007), além de causar grandes perdas econômicas em criações de animais (TESSARI et al., 2008). Aves migratórias podem ainda facilitar a disseminação desses microrganismos por longas distâncias (ELSOHABY et al., 2021) e até mesmo em áreas remotas, como já foi relatado na ocorrência de aves selvagens portadoras de bactérias multirresistentes no Ártico (SJÖLUND et al., 2008). Um estudo feito por SHEH et al. (2022) relata também maior taxa de resistência a antibióticos em aves migratórias.

Já foram isoladas diversas bactérias patogênicas em aves selvagens, como *Salmonella* spp. (REED et al., 2003; PLAZA et al., 2018; MARTÍN-MALDONADO et al., 2020), *Escherichia coli* (BEZERRA et al., 2017; HORN et al., 2018) e *Staphylococcus aureus* (BRITTINGHAM et al., 1988; ELSOHABY et al., 2021). Há relatos de transmissão indireta

desses patógenos para seres humanos (TSIODRAS et al., 2008). Ainda que bactérias como *E. coli* e *Staphylococcus* spp. sejam mais conhecidas como comensais do trato gastrointestinal dos animais, amostras patogênicas podem ter grande importância para a saúde pública, no que diz respeito à ocorrência de doenças e de microrganismos resistentes a antimicrobianos (ELSOHABY et al., 2021).

Estudos mostram ainda que o isolamento de Enterobacteriaceae em populações de aves de vida livre saudáveis é frequente (SAIDENBERG et al., 2012; VILELA et al., 2012; STENKAT et al., 2014; SERAFNI et al., 2015; VAZ et al., 2017; MACHADO et al., 2018) e bactérias Gram-negativas isoladas da cloaca de aves silvestres de vida livre não são um achado incomum (GROND et al., 2018).

A suscetibilidade entre os grupos de aves em relação a infecções por bactérias intestinais é altamente variável (MATIAS et al., 2016), o ambiente é o principal fator correlacionado (HIRD et al., 2014) e a taxonomia do hospedeiro influencia no que diz respeito à microbiota intestinal (HIRD et al., 2015), bem como à linhagem genética de cada bactéria (AFEMA; SISCHO, 2016).

Por fim, aves aquáticas, como é o caso dos ardeídeos, são mais propensas à infecção por Enterobacteriaceae em casos de contaminação ambiental, pois tendem a ter maior contato com fezes no solo e na água (SILVA et al., 2010; STENKAT et al., 2014; SILVA et al., 2018).

### **2.3 *Salmonella* spp.**

Dentre os patógenos entéricos *Salmonella* sp. é o principal agente de origem alimentar causador de doença zoonótica em todo o mundo (COBURN et al., 2007). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2018) a salmonelose é uma das principais causas globais de diarreia, responsável por importantes índices de morbidade e mortalidade em humanos, tanto em países emergentes quanto em países desenvolvidos (MAJOWICZ et al., 2010). Possui distribuição ampla na natureza e seu principal reservatório é o trato gastrointestinal de humanos, animais domésticos e silvestres (JAY, 2005; CARRASCO et al., 2012). Aproximadamente 10% dos surtos em seres humanos são relacionados a aves (KABIR, 2010).

O gênero *Salmonella* foi descrito pela primeira vez em 1886 por Salmon e Smith (MERCHANT et al., 1969) que acreditavam erroneamente que este era o agente da peste

suína (FREITAS NETO et al., 2020). Em 1888 o microrganismo foi cultivado pela primeira vez e neste mesmo ano foi relatado o primeiro caso em humano (BRYAN et al., 1979). Posteriormente, Kauffmann e White propuseram a classificação do gênero *Salmonella* com base na identificação de estruturas presentes na superfície da bactéria. A técnica foi modificada, acrescida de provas bioquímicas e prevalece desde então (ALVES, 2022).

Os agentes pertencem à Família Enterobacteriaceae, são bactérias bacilares Gram negativas (WHO, 2018), anaeróbias facultativas e medem 2 a 3  $\mu$  por 0,4 a 0,6  $\mu$  (YOUSEF; CARLSTROM, 2003; PUI et al., 2011). São organismos oxidase negativos e catalase positivos (JAY, 2005; LERTWORAPREECHA et al., 2013). Não são fermentadoras de lactose, porém são capazes de produzir sulfeto de hidrogênio. Realizam quebra de D-glicose em hidrogênio e dióxido de carbono e reduzem nitratos em nitritos, características estas que auxiliam na identificação laboratorial destas bactérias (PUI et al., 2011; LEVISON et al., 2020).

Na parede celular de *Salmonella* sp. existem lipídeos, monossacarídeos, lipopolissacarídeos, proteínas e lipoproteínas. Lipopolissacarídeos e lipídios da parede celular possuem endotoxina, substância responsável pelos efeitos biológicos da bactéria (YAVARI, 2012), cuja porção de polissacarídeos e monossacarídeos é denominada antígeno “O” somático (REEVES et al., 1989). Além disso, é uma bactéria capaz de se locomover, por ter flagelos peritríquios em sua conformação, conhecidos como antígeno “H” (LERTWORAPREECHA et al., 2013). Junto a esses antígenos existem em média 60 antígenos somáticos, muitos deles interespecíficos e que foram adquiridos por meio de transferência de gene entre bactérias, identificados por números (REEVES et al., 1989).

As principais espécies são *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, a primeira com maior relevância para a saúde pública (POPOFF; LE MINOR, 1997; ACHA; SZYFRES, 2001; DIONE et al., 2011). Outras espécies foram classificadas com base em características bioquímicas e predileção por hospedeiros específicos, como *S. typhi* e *S. paratyphi*, que são adaptadas a humanos, e *S. pollorum* e *S. gallinarum*, adaptadas a aves (RAHMAN; OTHMAN, 2017).

Além das espécies de *Salmonella* nomeadas existem subespécies, as quais são representadas por algarismos romanos e nomes. *Salmonella enterica* compreende as subespécies I, II, IIIa, IIIb, IV e VI, e V, ou *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*

e indica, enquanto que *Salmonella bongori* compreende a subespécie V (BRENNER et al., 2000; OLUDAIRO et al., 2022).

Em termos taxonômicos, a grafia da nomenclatura destes patógenos pode ser feita por extenso (“*Gênero espécie*” “*subespécie*” “Sorovar” “Biovar”) ou a resumida (“*Gênero*” “Sorovar” e/ou “Biovar”) (GRIMONT; WEILL, 2007). Os nomes dos sorotipos geralmente são os nomes geográficos de onde o sorovar foi isolado pela primeira vez, a primeira letra geralmente é maiúscula e a palavra não é itálica, como por exemplo *S. enterica* subsp *enterica* sorovar London ou *Salmonella* London (POPOFF; LE MINOR, 1997; POPOFF et al., 2000).

As doenças causadas por *Salmonella* são classificadas em salmonelose tifoide e salmonelose não tifoide (NGNOGO et al., 2020; AKINYEMI et al., 2021). Salmonelose tifoide está associada às espécies *S. typhi* e *S. paratyphi*, restritas a humanos (AKINYEMI et al., 2021), enquanto que a salmonelose não tifoide é causada principalmente por infecções de grupos de sorovares de *S. enterica*, relacionada à ingestão de alimentos e produtos alimentícios contaminados (THUNG et al., 2018).

Em diversos países do mundo a salmonelose é um dos maiores desafios em termos de saúde pública (PADUNGTOD; KANEENE, 2006; VINDIGNI et al., 2007; LERTWORAPREECHA et al., 2013). A infecção ocorre principalmente pela ingestão de água e alimentos contaminados e acomete predominantemente o trato gastrintestinal de humanos e animais (SANTOS et al., 2020). Embora a doença esteja muito associada a infecções alimentares, com ocorrência de surtos relacionados à ingestão de ovos e aves (LERTWORAPREECHA et al., 2013), carne bovina e suína, leite cru e até chocolate (ERDOĞRUL; ERBILIR, 2005; HEREDIA; GARCÍA, 2018), já foram relatados surtos associados a insetos e animais selvagens (HIDALGO-VILA, 2007; LECIS et al., 2011; PERCIPALLE et al., 2011).

A ocorrência de salmonelose é comum em animais e as manifestações clínicas são variadas. Pode haver infecções gastrintestinais graves, sepses, abortos e doença subclínica, com reservatórios naturais (UZAL et al., 2016). A via de infecção é oral, o microrganismo atinge e invade a mucosa intestinal, adere à superfície apical das células M intestinais, que recobrem estruturas linfoides, como as placas de Peyer e alcançam o tecido linfóide subjacente. Podem atingir a corrente sanguínea causando bacteremia ou septicemia, além de serem capazes de invadir e destruir enterócitos e células caliciformes (UZAL et al., 2016; GUEDES et al., 2016). *Salmonella* é considerada um patógeno intracelular facultativo (UZAL

et al., 2016) e algumas cepas têm a capacidade de sobreviver e replicar dentro de macrófagos intestinais, o que favorece a invasão no organismo e o desenvolvimento de doença sistêmica (GUEDES et al., 2016). O microrganismo frequentemente é encontrado nas mucosas do íleo, ceco e cólon, bem como em linfonodos, fígado, baço e medula óssea (QUINN et al., 2011; UZAL et al., 2016). Alguns sorotipos são altamente adaptados aos hospedeiros e tendem a causar doença sistêmica grave, tanto em animais adultos quanto em jovens, enquanto que outros sorotipos possuem ampla gama de possíveis hospedeiros e tendem a afetar predominantemente animais jovens, causando principalmente enterocolite (UZAL et al., 2016).

A patogenia da salmonelose depende do estado imunológico do animal, de condições de manejo e estresse, além de fatores de virulência da bactéria, como motilidade e capacidade de síntese de proteínas efetoras que causam morte de células hospedeiras (QUINN et al., 2011; UZAL et al., 2016).

As manifestações clínicas da salmonelose, quando presentes, geralmente incluem febre, apatia, desidratação e diarreia amarelada a acinzentada com odor desagradável, podendo haver também sangue e muco (UZAL et al., 2016). Na macroscopia da maioria das espécies é comum haver linfonodos mesentéricos aumentados de tamanho e hemorrágicos, mucosa intestinal hiperêmica, hemorrágica ou amarelo-acinzentada e com ulcerações, principalmente em íleo, jejuno e cólon. Em alguns casos pode haver pneumonia e até mesmo peritonite (UZAL et al., 2016; GUEDES et al., 2016). Além disso, em bovinos há formação de fibrina e exsudato fibrinonecrótico na superfície das vilosidades do intestino delgado e em outros órgãos acometidos (RAKSHA et al., 2021). Na histopatologia é vista necrose de vilosidades intestinais associada a infiltrado inflamatório neutrofílico, folículos linfóides com centros rarefeitos e necrose, além de trombose (UZAL et al., 2016; GUEDES et al., 2016). Na salmonelose septicêmica também são visualizadas alterações características em fígado e baço, embora possam estar ausentes em casos de septicemia hiperaguda. Nestes casos o baço tende a estar aumentado de volume, com focos de necrose e o fígado pálido e com múltiplos nódulos branco-amarelados, que na histopatologia correspondem a múltiplas áreas de necrose (UZAL et al., 2016).

Em frangos de corte naturalmente infectados por *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Gallinarum há maior contagem do microrganismo no fígado, seguido por baço, pulmões, intestinos e ceco. Os animais manifestam febre, diarreia amarela-esverdeada, taquipneia e mucosas pálidas. As alterações macroscópicas são visualizadas em fígado, com aumento de volume, coloração vermelha-amarronzada com focos brancos, rins e baço

aumentados de volume, pulmões com edema e intestinos avermelhados, com múltiplas ulcerações de tamanhos variados. A avaliação histopatológica demonstra congestão hepática, necrose de hepatócitos; degeneração, necrose e congestão intestinais; nefrite e necrose tubular renal (SALEEM et al., 2022). Necrose hepática multifocal associada a infiltrado inflamatório, enterite linfoplasmocítica e congestão pulmonar foram relatadas em uma rolinha-roxa com salmonelose (BEZERRA et al., 2017).

Estudos mostram que *Salmonella* ser. Typhimurium é o sorotipo mais relatado em psitacídeos, além de ser altamente virulento (VIGO et al., 2019). Outros sorotipos de grande importância também têm sido relatados em aves silvestres, como *Salmonella* Saintpaul (RECHE et al., 2003; SOUSA et al., 2010). Um estudo experimental com inoculação de *Salmonella* Saintpaul em periquito-australiano (*Melopsitacus undulatus*) não causou sinais clínicos, nem mortalidade nas aves, porém na necropsia foram observados hemorragia intestinal, enterite leve, fígado pálido, friável e congesto, pericardite, esplenomegalia e necrose multifocal no baço. Além disso, o maior inóculo levou a disseminação do microrganismo nas fezes das aves oito dias após a inoculação, o que demonstrou que essas aves são suscetíveis à invasão bacteriana nos órgãos internos e podem disseminar o patógeno no ambiente, mesmo sem manifestação de sinais clínicos (LOPES et al., 2022).

Já foi relatado o isolamento de cinco sorovares de *Salmonella enterica* em Garças-vaqueiras (*Bubulcus ibis*) do arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. Tratavam-se dos sorovares *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Typhimurium; *Salmonella* sorovar Newport; *Salmonella* sorovar Duisburg; *Salmonella* sorovar Zega e *Salmonella enterica* sorovar O16:y:-, todos isolados a partir de suabe cloacal de animais de vida livre sem manifestações clínicas (SILVA et al., 2018), indicando que a espécie pode ser reservatório e vetor do microrganismo.

Para realizar o diagnóstico de infecção por *Salmonella* spp. é requerida a investigação laboratorial através de cultivo e isolamento dos microrganismos, bem como uso de técnicas moleculares de PCR confirmatórias, sorotipagem e até mesmo sequenciamento genético. Para isso podem ser utilizadas amostras biológicas de fezes e sangue no caso de animais vivos, ou conteúdo intestinal e amostras de lesões teciduais de animais mortos (QUINN et al., 2011).

A detecção de *Salmonella* spp. atualmente é realizada com base no padrão internacional disponibilizado em 2017 por meio do ISO 6579-1 (MOIJAMAN, 2017; ELSOHABY et al., 2021). No caso de aves, para a detecção de *Salmonella* spp. são



comumente realizados a cultura e o isolamento do microrganismo a partir de amostras de fezes coletadas por suabe cloacal ou amostras de lesões teciduais de animais mortos. As amostras coletadas passam por pré-enriquecimento em meio líquido não seletivo, enriquecido em dois meios líquidos seletivos, subcultura em meios sólidos e são feitos exames de colônias sugestivas de *Salmonella* spp.

Maciel et al. (2019) recomendam selecionar aleatoriamente cinco unidades formadoras de colônias, levando em consideração que pode haver diversidade genética entre as cepas de uma mesma amostra. As colônias típicas selecionadas devem passar por teste de Gram e catalase e, dessa forma, colônias bacilares positivas para os respectivos testes podem ser submetidas a identificação bioquímica. Para a realização de testes bioquímicos podem ser utilizados kits comerciais, como o kit bioquímico API 20e, ou por meio da inoculação das unidades formadoras de colônias em combinações de meios específicos, como Ágar Citrato de Simmons (Citrato), Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA). O Ágar Citrato Simmons é utilizado para a diferenciação de Enterobacteriaceae através da utilização do citrato, quando positivo fica azul; o Ágar TSI baseia-se na fermentação dos carboidratos e produção de sulfeto de hidrogênio, adquire cor púrpura-amarela quando há apenas fermentação de glicose, coloração amarela quando há fermentação de glicose, lactose e/ou sacarose, além da ocorrência de fissuras, rupturas ou bolhas quando há liberação de CO<sub>2</sub> e precipitado preto quando se mostram H<sub>2</sub>S positivas; o Ágar LIA permite a avaliação quanto à fermentação de glicose, quando há descarboxilação da lisina o meio adquire coloração púrpura, principalmente em sua base, na prova negativa o meio fica amarelo e, quando há produção de H<sub>2</sub>S, a prova positiva se caracteriza pelo surgimento de coloração preta no meio. Dessa forma, espera-se que amostras de *Salmonella* sp. se apresentem azuis em Ágar Citrato, púrpura-amarelo com centro preto em Ágar TSI e púrpura com centro preto em Ágar LIA.

A confirmação das amostras como pertencentes ao gênero *Salmonella* deve ser feita ainda por PCR, para isso são realizadas extrações de DNA genômico das amostras e teste PCR utilizando *primers* específicos para a identificação de determinados genes. A identificação dos sorotipos de *Salmonella* também é importante e pode ser feita por tipagem de fagos (RANKIN; PLATT, 1995), polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD) (CASTIGLIONI; BOCUDO, 2003), eletroforese em campo pulsado (PFGE) (KOTTWITZ; OLIVEIRA, 2011) e sequenciamento de DNA (LIM et al., 2005).

O surgimento de cepas de *Salmonella* com resistência antimicrobiana é um grave problema de saúde pública em todo o mundo (CHIU et al., 2002), embora *Salmonella* sp. seja

conhecida como bactéria que apresenta menor capacidade de adquirir resistência a agentes antimicrobianos, menos suscetível à pressão de seleção antimicrobiana do que outras bactérias (LECLERCQ et al., 2013). O primeiro relato de resistência de *Salmonella* a um único antibiótico, o cloranfenicol, ocorreu em 1960 (ENG et al., 2015) e, desde então, a ocorrência de cepas de *Salmonella* com resistência a um ou mais antimicrobianos tem aumentado em muitos países (YOKE-KQUEEN et al., 2008). Os principais agentes antimicrobianos utilizados para tratamentos tradicionais de salmonelose são principalmente ampicilina, cloranfenicol, sulfametoxazol-trimetoprima, fluoroquinolonas e cefalosporinas de amplo espectro. Cepas de *Salmonella* spp. resistentes a estes e outros antimicrobianos são denominadas multirresistentes (ENG et al., 2015).

Martin-Maldonado et al. (2020) detectaram cepas de *Salmonella* spp. resistentes a ciprofloxacina (36,4%), ácido nalidíxico (36,4%) e colistina (27%) em um estudo feito com aves selvagens em meio urbano. Os três são antibióticos utilizados como último recurso para o tratamento de doenças infecciosas em humanos causadas por bactérias multirresistentes (EFSA, 2019; KERN, 2018). Resistência a eritromicina, neomicina, ciprofloxacina e estreptomicina também foram relatadas em cepas de *Salmonella* spp. isoladas de aves aquáticas de vida livre na Argentina (RODRÍGUEZ et al., 2018).

## **2.4 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* é uma bactéria bacilar da Família Enterobacteriaceae, que coloniza o trato gastrointestinal de mamíferos e aves. Tem dimensões de 1,1 a 1,5 x 6 µm, é Gram negativa, catalase positiva, anaeróbia facultativa e móvel, com flagelos peritríquios (NATARO et al., 2011). Tem capacidade de fermentar glicose e lactose, produzir ácido e gás (HOLT, 1994; LEVISON et al., 2020). O desenvolvimento em substratos com pH de 4,4 a 9,0 favorece a sobrevivência em ambientes ácidos, como o trato intestinal e urinário (SAINZ et al., 2005; LEVISON et al., 2020). A temperatura ótima de crescimento é 37 °C, embora tenha capacidade de desenvolver em temperaturas de 7 a 48 °C (VARNAM; EVANS, 1991).

É uma bactéria comensal do trato gastrointestinal de animais e humanos e acredita-se que *E. coli* não patogênica possa desempenhar funções benéficas ao hospedeiro, como síntese de vitaminas e combate a microrganismos patogênicos, impedindo o estabelecimento de linhagens até mesmo da própria espécie (QADRI et al., 2005; RYU et al., 2012; LÓPEZ-BANDA et al., 2013; TANGI et al., 2015). No entanto, algumas linhagens são capazes de

causar doenças graves (RASKO et al., 2008), como doenças gastrintestinais e sistêmicas, com quadros de diarreia e colissepticemia em diversas espécies (BEZERRA et al., 2017), além de haver isolados de *E. coli* com efeito patogênico extraintestinal e significativa morbidade e mortalidade (RUSSO; JHNSON, 2006). É um patógeno importante para a saúde pública e frequentemente é utilizado como agente indicador de resistência antimicrobiana (PLATTSMILLS et al., 2015).

*Escherichia coli* é um dos agentes patogênicos dos quais as aves podem ser reservatórios e disseminadoras, inclusive aves silvestres (RAPPOLE; HUBALEK, 2000; HUBÁLEK, 2004). É considerado um coliforme fecal, de forma que *E. coli* em alimentos é um indicador de contaminação direta ou indireta de origem fecal e pode indicar a possível presença de *E. coli* patogênicas (QADRI et al., 2005; RYU et al., 2012; LÓPEZ-BANDA et al., 2013;; TANGI et al., 2015), além de provável falta de higiene e falhas no processamento de alimentos (YUCCEL; ULUSOY, 2006).

Geralmente a colonização intestinal por *E. coli* ocorre após o nascimento e o microrganismo se mantém como comensal por toda a vida do hospedeiro (CLERMONT et al., 2000). No entanto, embora muitas linhagens de *E. coli* apresentem baixa virulência, podem causar relevantes infecções oportunistas extra-intestinais, como em sistema geniturinário e glândulas mamárias em mamíferos (QUINN et al., 2011). Algumas cepas podem adquirir fatores de virulência que permitem sua adaptação e capacidade de causar diversos tipos de doença (KAPER et al., 2004; RODRIGUEZ-SIEK et al., 2005). O mecanismo associado à transição de um microrganismo comensal para patogênico ainda não é totalmente elucidado, embora já se saiba que vários genes relacionados à patogenicidade sejam encontrados em elementos genéticos móveis capazes de transitar entre bactérias, proporcionando a combinação de fatores que permitem a sobrevivência, a permanência da bactéria no hospedeiro e o desenvolvimento de doenças (NYANGA et al., 2017). A aquisição e a perda destes elementos genéticos móveis, como plasmídios e transposons, são fundamentais para a formação do genoma das bactérias patogênicas e por meio da transferência horizontal de genes, novas características de disseminação para os microrganismos receptores, sendo capazes de se adaptar a diferentes hospedeiros e de colonizar, multiplicar e causar danos diversos (KAPER et al., 2004; SHAMES et al., 2009). Bactérias patogênicas possuem as chamadas ilhas de patogenicidade, que consistem em grandes aglomerados de genes de virulência localizados em plasmídios ou integrados ao cromossomo bacteriano (KAPER et al., 2004).

Os fatores de virulência são estruturas ou produtos que auxiliam a bactéria a se instalar e causar doenças no hospedeiro. São capazes de modificar a superfície celular, liberar toxinas, invasinas e translocar proteínas (KYAW et al., 2003; BRUM; LEITNER, 2013). São codificados geneticamente e podem ser transmitidos entre diferentes linhagens, de forma que combinações eficazes destes fatores de virulência são os responsáveis pelo desenvolvimento de doenças em animais saudáveis (KAPER et al., 2004).

A translocação de elementos genéticos ao longo da escala evolutiva permitiu a formação de variados grupos genéticos de *E. coli* descendentes de grupos filogenéticos distintos. Atualmente, de acordo com o que foi proposto por Clermont e colaboradores (2012) estes grupos filogenéticos são classificados como filogrupos A, B1, B2, C, D, E e F, de acordo com a presença ou não dos genes *arpA*, *chuA*, *yjaA* e *TspE4.C2*. Além disso, ainda há uma pequena fração de cepas de *E. coli* que não podem ser atribuídas a um filogrupo. Os filogrupos B1 e A são os principais filogrupos de *E. coli* isolados de animais domésticos, respectivamente, sendo normalmente relacionados a bactérias comensais. O filogrupo A tem sido isolado de mamíferos onívoros, enquanto que o filogrupo B1 é prevalente em herbívoros (BALDY-CHUDZIK et al., 2008; TENAILLON et al., 2010; COURA et al., 2015). Cepas de *E. coli* patogênicas extraintestinais fazem parte principalmente dos filogrupos B2 e D, e cepas relacionadas a infecções intestinais ocorrem nos filogrupos B1 e E, o que permite uma correlação entre filogenia e virulência (ESCOBAR-PÁRAMO et al., 2004; CLERMONT et al., 2011). Em aves, os principais filogrupos já isolados foram A e F, enquanto que o filogrupo C é pouco elucidado (COURA et al., 2015). Os filogrupos genéticos de *E. coli* não são dispersos aleatoriamente, podem ser correlacionados ao nicho ecológico do hospedeiro, tipo de doença causada pelo isolado e seus fatores de virulência (CLERMONT et al., 2013).

*E. coli* pode, ainda, ser classificada em sorotipos determinados pelos antígenos somático (O), capsular (k), flagelar (H) e pili (BARNES et al., 2004) e em patotipos, como *E. coli* enteropatogênica (ECEP), *E. coli* enteroagregativa (ECEAgg), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* entero-hemorrágica (ECEH), *E. coli* enterotoxigênica (ECET), *E. coli* difusamente aderente (CEDA), *E. coli* aderente invasiva (ECAI), *E. coli* patogênica aviária (ECPA) e *E. coli* patogênica extraintestinal (ECPI), conforme há combinações de vários fatores de virulência em diferentes espécies de animais (TURNER et al., 2006; FERREIRA; KNÖBL, 2015). De acordo com critérios genéticos e clínicos, as linhagens de *E. coli* são classificadas em estirpes comensais, patogênicas intestinais ou diarreicogênicas (ECD) e patogênicas extraintestinais (ECPE<sub>x</sub>) (RUSSO; JOHNSON, 2000).

Em humanos, ECEx é causa mais comum de infecção do trato urinário, além de ser frequentemente associada a ocorrência de sepse, meningite neonatal, infecções intra-abdominais, pneumonias e osteomielite (RILEY, 2014). Em animais também são responsáveis por infecções do sistema geniturinário, bem como por desenvolvimento de piometra, pneumonia e doenças sistêmicas em aves (JOHNSON et al., 2001; MOULIN-SCHOULER et al., 2007; SURA et al., 2007).

Em animais infectados com *E. coli* é comum a ocorrência de enterite fibrinosa ou fibrinonecrótica, com congestão intestinal e material necrótico aderido à superfície mucosa, principalmente em reto e cólon, bem como em ceco e íleo, e linfonodos mesentéricos aumentados de volume e congestos. No exame histopatológico pode ser observada atrofia de vilosidades, mucosa intestinal com epitélio delgado, áreas de microerosões e colônias cocobacilares em contato com enterócitos (GUEDES et al., 2016).

A colibacilose é um dos maiores problemas na avicultura industrial, caracterizada por infecções sistêmicas ou locais por *E. coli* patogênicas, associadas ou não a infecções secundárias, responsável por grandes perdas econômicas (DHO-MOULIN; FAIRBROTHER, 1999; SAINDNBERG; KNÖBEL, 2005; FERREIRA; KNOBL, 2015). Aves acometidas por *E. coli* podem apresentar alterações anatomopatológicas em diversos órgãos, sendo frequentes pneumonia, pleuropneumonia, pneumonia fibrinosa, celomite, aerossaculite, peri-hepatite, pericardite, onfalite, ooforite, salpingite, meningoencefalite, sinusite, artrite caseosa e celutite, esta caracterizada por acúmulo de material caseoso em tecido subcutâneo. Ao exame histopatológico destes órgãos pode ser visualizado infiltrado inflamatório linfocítico e heterofílico associado a colônias bacterianas bacilares (FERREIRA; KNOBL, 2015).

A detecção de *E. coli* é feita através de cultivo e isolamento microbiológico de suabes de excretas ou órgãos acometidos. Colônias suspeitas devem passar por testes preliminares com a avaliação morfológica microscópica por meio de esfregaços corados pela técnica de Gram e teste de catalase (QUINN, 1994).

Para a confirmação genética dos isolados deve ser feita a extração de DNA de cada colônia, seguida por PCR. As amostras confirmadas como pertencentes a *E. coli* podem ainda ser submetidas a PCR para a classificação quanto aos filogrupos, conforme proposto por Clermont e colaboradores (2012). A avaliação da suscetibilidade das cepas isoladas a antimicrobianos também é recomendada.

Já foi relatado em aves saudáveis o isolamento de diversas cepas de *E. coli* identificadas como potencialmente patogênicas, muitas delas com resistência a antimicrobianos,

tais como fluoroquinolonas,  $\beta$ -lactâmicos e cotrimoxazol (MORISHITA et al., 1999; MATLES et al., 2005; GIUFRE et al., 2012; SOUZA et al., 2016). *E. coli* comensal de animais também tem sido observada com resistência a agentes antimicrobianos comumente utilizados, como sulfametoxazol, ampicilina e tetraciclina (KANG et al., 2005) Microrganismos resistentes a antimicrobianos são um dos principais assuntos abordados em questões de Saúde Única e têm gerado grande preocupação mundial em saúde coletiva (QUEENAN et al., 2016). A caracterização do padrão de resistência a antimicrobianos, bem como o padrão de virulência dos isolados de *E. coli* são dados valiosos que permitem avaliar o potencial patogênico do agente e de clones emergentes (IKUNO et al., 2008). Neste contexto, aves silvestres são sugeridas como sentinelas para a propagação e a transmissão de cepas multirresistentes de *E. coli* (MOHSIN et al., 2017).

## **2.5 *Staphylococcus* spp.**

O gênero *Staphylococcus* pertence à Família Staphylococcaceae e inclui bactérias comensais e patogênicas. São bactérias cocoides de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$ , Gram positivas, imóveis. Tendem a se apresentar em forma de cachos de uva, embora possam também ser vistas isoladas, em pares ou formando cadeias curtas (CUNHA NETO et al., 2002; CASSETTARI et al., 2005). Possuem metabolismo respiratório e fermentativo, são catalase positivas, anaeróbicas facultativas, capazes de atuar sobre carboidratos com produção de ácidos. Sua temperatura ótima para crescimento é de 30 a 37 °C, embora possam crescer em temperaturas que variam de 7 a 48 °C (CUNHA NETO et al., 2002). Algumas espécies podem ainda produzir enterotoxinas quando submetidas a temperaturas de 10 a 46 °C (JAY, 2005). Além disso, são microrganismos tolerantes a nitratos e a NaCl quando nas concentrações de 10 a 20% (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O gênero compreende numerosas espécies e subespécies, com ampla distribuição na natureza. São capazes de estabelecer relação comensal com a pele e cavidade oronasal de aves e mamíferos (JAY, 2005). Porém, de forma oportunista, o microrganismo pode causar desde pequenas infecções de pele a doenças fatais (WALSH; FANNING, 2008).

São mais de 40 espécies pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, distribuídas em duas classes: *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) e *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN), a grande maioria pertencente ao segundo grupo (EUZÉBY, 1997; SOUSA et al., 2014). A produção de coagulase é correlacionada a patogenicidade, de forma que *S. aureus* é a principal espécie capaz de produzir a enzima coagulase. A espécie é motivo de preocupação

em todo o mundo por ser responsável por graves infecções nosocomiais, sendo a maioria das suas estirpes produtora de enterotoxinas (GRUNDMANN et al., 2006). No entanto, embora sejam pouco virulentos, alguns SCN também podem ser associados a produção de toxinas e, ocasionalmente, causam doenças em humanos e animais (LAMAITA et al., 2005), como é o caso de *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*, que atuam como patógenos especialmente em hospedeiros imunossuprimidos (STEPÁN et al., 2004).

Diversos fatores de virulência são produzidos por *Staphylococcus*, os quais interferem no sistema de defesa do hospedeiro, ocasionam lesão tecidual, fornecem nutrientes que podem ser utilizados para o crescimento bacteriano e liberam substâncias capazes de causar quadros de intoxicação (DINGES et al., 2000). Estes fatores de virulência englobam citotoxinas e enzimas, reguladas e recombinadas por elementos genéticos, como plasmídios, transposons e profagos, presentes nas diferentes cepas de *Staphylococcus* (NOVICK et al., 2001). Entre os principais exemplos estão hemolisinas, nucleases, termonuclease, proteases, hialuronidases, colagenases, catalase, fibrinolizina, coagulase e  $\beta$ -lactase, muitos deles envolvidos na patogênese de *S. aureus* (NOVICK et al., 2001; LAMAITA et al., 2005; KÉROUANTON et al., 2007; KUMAR et al., 2009; PELISSER et al., 2009).

A transferência horizontal de genes resulta em uma diversidade de estirpes de *Staphylococcus* e difusão de genes de virulência (NOVICK et al., 2001). Além disso, a combinação de alguns fatores de virulência pode gerar acúmulo de resistência a grande variedade de antimicrobianos, bem como a ocorrência de surtos de infecções e intoxicações estafilocócicas (KUMAR et al., 2009).

Outra característica que faz com que *Staphylococcus* spp. representem problema para saúde pública é a capacidade desse microrganismo formar biofilmes (DONLAN, 2001). Os biofilmes são comunidades bacterianas que aderem irreversivelmente a um substrato, apresentam comportamento variado quanto a taxas de crescimento, transição de genes e resistência antimicrobiana, sendo capazes de resistir a concentrações até mil vezes superiores do que populações isoladas (CERCA et al., 2005).

*Staphylococcus* spp. tendem a manter uma relação simbiótica com o hospedeiro até que haja o rompimento da barreira cutânea por trauma, corpos estranhos ou imunossupressão, e, desta forma, o microrganismo pode afetar outros tecidos e apresentar comportamento patogênico (KONEMAN, 1997; QUINN et al., 2005). Podem causar doenças tanto por indução de inflamações piogênicas como por produção de toxinas (LEVISON et al., 2020). As infecções por *Staphylococcus* frequentemente causam lesões agudas e supurativas (QUINN et al., 2005) e incluem infecções em feridas cirúrgicas, furunculose, celulite,

impetigo e até infecções mais graves por bacteremias, como pneumonias, osteomielite, endocardite aguda, miocardite, meningite e abscessos em músculos ou órgãos intra-abdominais (BERGDOLL, 1991; BANNERMAN et al., 2003; QUINN et al., 2005). *Staphylococcus* spp. têm sido descritos como causa importante e frequente de infecções hospitalares em humanos, além de serem citados como agentes mais comuns de bacteremias nosocomiais (LEVISON et al., 2020). Em animais, *Staphylococcus aureus* é relacionado a uma ampla variedade de infecções, é considerado o principal agente associado a mastite bovina (ROLLON et al., 2015; BOBBO et al., 2017) além de ser relacionado a infecções hospitalares com altos índices de morbidade e mortalidade (AGVALD-ÖHMAN et al., 2003).

Para diagnóstico é indicada a realização de cultura e isolamento microbiológicos através de suabe ou fragmento de órgãos com lesão. Recomenda-se que sejam isoladas cinco unidades formadoras de colônias de forma aleatória (MACIEL et al., 2019), compatíveis com *Staphylococcus*, e identificadas fenotipicamente através da avaliação morfológica microscópica por técnica de Gram e feitos testes de oxidase, catalase e coagulase (QUINN et al., 2005). A identificação das espécies de *Staphylococcus* pode ser feita por técnica de espectrometria de Massa (MALDI-TOF) (ZHU et al., 2015). Além disso, colônias coagulase positivas podem ser submetidas a PCR para confirmação genotípica de estirpes de *S. aureus*. Para isso as amostras precisam passar primeiro por extração de DNA.

*Staphylococcus* spp. são responsáveis por vários casos de infecções multirresistentes associados a animais de produção, animais de companhia e produtos alimentares (KERN; PERRETEN, 2013; SOUSA et al., 2014). Este microrganismo tem resistência antimicrobiana facilmente adquirida devido à transferência de genes de resistência relacionados principalmente a alta transmissibilidade de plasmídios e uso abusivo de antimicrobianos (DA CUNHA; USTULIN, 2011). Em aves selvagens já foi relatada a ocorrência de cepas de *Staphylococcus* spp. com resistência a diferentes antimicrobianos, como  $\beta$ -lactâmicos, aminoglicosídeos e macrolíticos (HERMANS et al., 2000; SOUZA et al., 2014). No entanto, ainda são escassas as informações sobre a prevalência das infecções em animais selvagens (PORRERO et al., 2013), o que torna necessário conhecer mais sobre a ocorrência de estafilococos multirresistentes nesses animais (SOUSA et al., 2014).

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**



Populações de aves selvagens são frequentemente atraídas para áreas urbanas e podem ser colonizadas por microrganismos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus* sp., podendo atuar como reservatórios e disseminadores destes agentes. Esses microrganismos podem ainda ser carregados por aves migratórias para áreas distantes de sua origem antropogênica. Atrelado a isso, a administração desregrada de antimicrobianos em animais e humanos gera pressão seletiva e aumenta o risco potencial de seleção de bactérias resistentes a antimicrobianos e, conseqüentemente, a contaminação do meio ambiente por estas cepas.

Neste contexto, o contato próximo de ardeídeos com humanos em áreas urbanas e periurbanas, bem como com animais de produção, faz com que estas aves representem potenciais reservatórios de patógenos. Dessa forma, o presente estudo buscou detectar *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. em ardeídeos habitantes de um ninhal localizado no Campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais, Região Sudeste do Brasil.

## REFERÊNCIAS

- ADESOKAN, H. K.; AKINSEYE, V. O.; STREICHER, E. M., VAN HELDEN, P.; WARREN, R. M.; CADMUS, S. I. Reverse zoonotic tuberculosis transmission from an emerging Uganda I strain between pastoralists and cattle in South-Eastern Nigeria. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 1-7, 2019.
- AFEMA, J. A.; SISCHO, W. M. *Salmonella* em aves selvagens utilizando habitats protegidos e impactados pelo homem, Uganda. **EcoHealth**, v. 13, n. 3, p. 558-569, 2016.
- AGVALD-ÖHMAN, C.; LUND, B.; EDLUND, C. Multiresistant coagulase-negative staphylococci disseminate frequently between intubated patients in a multidisciplinary intensive care unit. **Critical Care**, v. 8, n. 1, p. 1-6, 2003.
- ALVES, L. B. R. **Efeito da deleção do gene *mgtC* sobre a patogenicidade de *Salmonella gallinarum* em aves susceptíveis**. 2022. 33 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2022.
- AKINYEMI, K. O.; AJOSEH, S. O.; FAKOREDE, C. O. A systemic review of literatures on human *Salmonella enterica* serovars in Nigeria (1999-2018). **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 15, n. 09, p. 1222-1235, 2021.
- Animais vistos no rio Pinheiros (SP) criam expectativa de despoluição. R7 São Paulo. 22 de abril de 2021. Disponível em <https://noticias.r7.com/sao-paulo/animais-vistos-no-rio-pinheiros-sp-criam-expectativa-de-despoluicao-29062022>. Acesso em 14 de dezembro de 2022.
- ARBALLO, E.; CRAVINO, J. **Aves del Uruguay: Manual ornitológico**. Tomo I. Montevideo, Editorial Hemisferio Sur, 1999. p. 466.
- BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacillosis. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J. R.; FADLY, A. M.; MCDUGALD; SWAYNE, L. R. D. E. **Diseases of Poultry**. Ames: , Iowa State University, 2004. p. 631-656.
- BALDY-CHUDZIK, K.; MACKIEWICZ, P.; STOSIK, M. Phylogenetic background, virulence gene profiles, and genomic diversity in commensal *Escherichia coli* isolated from ten mammal species living in one zoo. **Veterinary Microbiology**, v. 131, n. 1-2, p. 173-184, 2008.
- BELLA, S. **Biologia reprodutiva e alimentar de *Bubulcus ibis* (Linnaeus, 1758) (Ciconiiforme, Ardeidae) e sua ocorrência em Pernambuco, Brasil**. 2003. 156 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.
- BELTON, W. **Aves do Rio Grande do Sul: distribuição e biologia**. São Leopoldo: Unisinos, 1994. p. 584.
- BELTON, W. **Aves silvestres do Rio Grande do Sul**. 4. ed. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2004. p. 175.
- BENSKIN, C. M. H.; WILSON, K.; JONES, K.; HARTLEY, I. R. Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. **Biological Reviews**, v. 84, n. 3, p. 349-373, 2009.
- BERGDOLL, M. S. *Staphylococcus aureus*. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 74, n. 4, p. 706-710, 1991.

BERNARDON, F. F. **Helminths of waterfowl (Pelecaniformes: Ardeidae) from southern Brazil**. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 84f, 2013.

BEZERRA, W. G. A.; HORN, R. V.; SILVA, I. N. G.; SIQUEIRA, R. A. S.; LUCENA, R. B.; HAVT, A.; MEDEIROS, P. H. Q. S.; MACIEL, W. C. *Escherichia coli* and *Salmonella* ser. Saintpaul natural co-infection in a free-living ruddy ground dove (*Columbina talpacoti*): a case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 5, p. 1236-1242, 2017.

BIRDLIFE INTERNATIONAL 2022. *Ardea alba* (amended version of 2016 assessment). **The IUCN Red List of Threatened Species 2019a**: e.T22697043A155465940. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20193.RLTS.T22697043A155465940.en>. Acesso em: Maio de 2022.

BIRDLIFE INTERNATIONAL 2022. *Bubulcus ibis* (amended version of 2016 assessment). **The IUCN Red List of Threatened Species 2019b**: e.T227109A155477521. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20193.RLTS.T22697109A155477521.en>. Acesso em: Maio de 2022.

BLAKER, D. Behavior of the cattle egret (*Ardeola ibis*). **Ostrich**, v. 40, n. 3, p. 75-129, 1969.

BLANCO, G.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, I.; MORINHA, F.; LÓPEZ-CERERO, L. Intensive farming as a source of bacterial resistance to antimicrobial agents in sedentary and migratory vultures: implications for local and transboundary spread. **Science of the Total Environment**, v. 739, p. 140356, 2020.

BRENNER, F. W.; VILLAR, R. G.; ANGULO, F. J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. *Salmonella* nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 7, p. 2465-2467, 2000.

BRITTINGHAM, M.C.; TEMPLE, S.A.; DUNCAN, R. M. A survey of the prevalence of selected bacteria in wild birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, n. 2, p. 299-307, 1988.

BRYAN, F. L.; FANELLI, M. J.; REIMANN, H. *Salmonella* infections. In: REIMANN, H.; BRYAN, F. L. **Food borne infections and intoxications**. New York,: Academic Press, 1979. p. 73-130.

BOBBO, T.; RUEGG, P. L.; STOCCO, G.; FIORE, E.; GIANESELLA, M.; MORGANTE, M.; PASOTTO, D.; BRITTANTE, G.; CECCHINATO, A. Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4868-4883, 2017.

CAMACHO, M.; HERNÁNDEZ, J. M.; LIMA-BARBERO, J. F.; HÖFLE, U. Use of wildlife rehabilitation centres in pathogen surveillance: A case study in white storks (*Ciconia ciconia*). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 130, p. 106-111, 2016.

CAMARDA, A.; CIRCELLA, E.; GIOVANARDI, D.; PENNELLI, D.; BATTISTA, P.; CAMPAGNARI, E.; BRUNI, G.; TAGLIABUEA, S. Avian pathogenic *Escherichia coli* in Audouin gulls (*Larus audouinii*): Could they affect the surviving of the bird colonies? **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2007.

CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, p. 70-76, 2005.

CASTIGLIONI, L.; BICUDO, H. A Técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e suas aplicações para estudos em genética molecular. **Revista UNORP**, v. 3, n. 2, p. 63-77, 2003.

CBRO - Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (2021) **Lista de aves do Brasil**. 13. ed. Disponível em <http://www.cbro.org.br>. Acesso em: 29 de maio de 2022.

CERCA, N.; MARTINS, S.; CERCA, F.; JEFFERSON, K. K.; PIER, G. B.; OLIVEIRA, R.; AZEREDO, J. Comparative assessment of antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci in biofilm versus planktonic culture as assessed by bacterial enumeration or rapid XTT colorimetry. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, n. 2, p. 331-336, 2005.

CHIU, C. H.; WU, T. L.; SU, L. H.; CHU, C.; CHIA, J. H.; KUO, A. J.; CHIEN, M. S.; LIN, T. Y. The emergence in Taiwan of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 6, p. 413-419, 2002.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 10, p. 4555-4558, 2000.

CLERMONT, O.; OLIER, M.; HOEDE, C.; DIANCOURT, L.; BRISSE, S.; KEROUDEAN, M.; GLODT, J.; PICARD, B.; OSWALD, E.; DENAMUR, E. Animal and human pathogenic *Escherichia coli* strains share common genetic backgrounds. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, n. 3, p. 654-662, 2011.

CLERMONT, O.; CHRISTENSON, J. K.; DENAMUR, E.; GORDON, D. M. The Clermont *Escherichia coli* phylotyping method revisited: improvement of specificity and detection of new phylogroups. **Environmental Microbiology Reports**, v. 5, n. 1, p. 58-65, 2013.

COBURN, B.; GRASSL, G. A.; FINLAY, B. B. Salmonella, the host and disease: a brief review. **Immunology and Cell Biology**, v. 85, n. 2, p. 112-118, 2007.

COLE, D.; DRUM D. J. V.; STALKNECHT S. E.; WHITE D. G.; LEE M. D.; AYERS S.; SOBSEY M.; MAURERT J. Free-living Canada geese and antimicrobial resistance. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 6, p. 935-938, 2005.

COURA, F. M.; DE ARAÚJO DINIZ, S.; SILVA, M. X., MUSSI, J. M. S.; BARBOSA, S. M., LAGE; A. P.; HEINEMANN, M. B. Phylogenetic group determination of *Escherichia coli* isolated from animals samples. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 258424, 2015.

CRAMP, S.; SIMMONS, K.E.L (eds.) **Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa: The Birds of the Western Palearctic, (Ostrich to Ducks)**. Oxford: Oxford University Press, 1977. Vol. I.

CREMONESI, P.; LUZZANA, M.; BRASCA, M.; MORANDI, S.; LODI, R.; VIMERCATI, C.; AGNELLINI, D.; CARAMENTI, G.; MORONI, P.; CASTIGLIONI, B. Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, n. 5, p. 299-305, 2005.

CROSBY, G. T. Propagação da garça-vaqueira no Hemisfério Ocidental. **Anilhamento de Pássaros**, v. 43, n. 3, p. 205-212, 1972.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M.; *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos *in natura* e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 263-27, 2002.

DA CUNHA, M.L.; USTULIN, D.R. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus* spp. In: **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**. Badajoz: Formatex, 2011. v. 2, p. 714-721.

DELLA BELLA, S.; AZEVEDO-JUNIOR, S. M. Considerações sobre a ocorrência da garça-vaqueira, *Bubulcus ibis* (Linnaeus) (Aves, Ardeidae), em Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, p. 57-63, 2004.

DEL HOYO, J.; ELLIOT, A.; SARGATAL, J. **Handbook of the Birds of the World**. Barcelona: Lynx Editions, 1992. v. 1, n. 8.

DHO-MOULIN, M.; FAIRBROTHER, J. M. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). **Veterinary Research**, v. 30, n. 2-3, p. 299-316, 1999.

DIAS, P. A.; MORAES, T. P.; WILSMANN, D. E.; FERRASSO, M. M.; MARINHEIRO, M. F.; HEINEN, J. G.; CALABUIG, C. I. P.; TIMM, C.D. Ocorrência de *Campylobacter* e Enterobacteriaceae em aves silvestres e frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, p. 225-231, 2019.

DINGES, M.M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M.; Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, p. 16-34, 2000.

DIONE, M. M.; IKUMAPAYI, U. N.; SAHA, D.; MOHAMMED, N. I.; GEERTS, S.; IEVEN, M. Clonal differences between non-typhoidal *Salmonella* (NTS) recovered from children and animals living in close contact in the Gambia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 5, p. e.1148, 2011.

DOLEJSKA, M.; LITERAK, I. Wildlife is overlooked in the epidemiology of medically important antibiotic-resistant bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 8, p. e01167-19, 2019.

EFSA, ECDC. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control: The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. **EFSA Journal**, v. 17, n. 2, p. 5598, 2019.

ELMBERG, J.; BERG, C.; LERNER, H.; WALDENSTRÖM, J.; HESSEL, R. Potential disease transmission from wild geese and swans to livestock, poultry and humans: a review of the scientific literature from a One Health perspective. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 7, n. 1, p. 1300450, 2017.

ELSOHABY, I.; SAMY A.; ELMOSLEMANY A.; ALORABI, M.; ALKAFIFY, M.; ALDOWERIEJ A.; AL-MARRI T.; ELBEHIRY A.; FAYEZ, M. Migratory wild birds as a potential disseminator of antimicrobial-resistant bacteria around Al-Asfar Lake, Eastern Saudi Arabia. **Antibiotics**, v. 10, n. 3, p. 260, 2021.

ENG, S. K.; PUSPARAJAH, P.; AB MUTALIB, N. S.; SER, H. L.; CHAN, K. G.; LEE, L. H. *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284-293, 2015.

ERDOĞRUL, Ö.; ERBILIR, F. Microorganisms in kitchen sponges. **Internet Journal of Food Safety**, v. 6, p. 17-22, 2005.

ESCOBAR-PÁRAMO, P.; CLERMONT, O.; BLANC-POTARD, A. B.; BUI, H., LE BOUGUÉNEC, C.; DENAMUR, E. A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 6, p. 1085-1094, 2004.

EUZÉBY, J. P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the internet. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 590-592, 1997.

FAVORETTO, S. M. **Aspectos morfológicos, ultrassonográficos e radiográficos ósseos e oculares de ninhegos de garças vaqueiras (*Bubulcus ibis*)**. 2019. 127 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Colibacilose aviária. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. 2. Ed. Campinas : Facta, 2015. p. 668-692.

FREDERICK, P. C. Wading birds in the marine environment. In: SCHREIBER, E. A.; BURGER, J. (eds.) **Biology of Marine Birds**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2002.

FONTENELLE, J. H. Ciconiiformes. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO, D. J. L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina veterinária**. São Paulo : Roca, 2006. v. 2, p. 290-300.

GALVÁN, I.; MARCHAMALO, J.; BAKKEN, V.; TRAVERSO, J. M. The origin of Lesser Black-backed Gulls *Larus fuscus* wintering in central Iberia. **Ringing & Migration**, v. 21, n. 4, p. 209-214, 2003.

GILBERT, N. I.; CORREIA, R. A.; SILVA, J. P.; PACHECO, C.; CATRY, I.; ATKINSON, P. W.; GILL, J.; FRANCO, A. M. A. Are white storks addicted to junk food? Impacts of landfill use on the movement and behavior of resident white storks (*Ciconia ciconia*) from a partially migratory population. **Movement Ecology**, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2016.

GIUFRÈ, M.; GRAZIANI, C.; ACCOGLI, M.; LUZZI, I.; BUSANI, L.; CERQUETTI, M. *Escherichia coli* of human and avian origin: detection of clonal groups associated with fluoroquinolone and multidrug resistance in Italy. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 4, p. 860-867, 2012.

GOPEE, N. V.; ADESIYUN, A. A.; CAESAR, K. Retrospective and longitudinal study of salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. **Journal of Wildlife diseases**, v. 36, n. 2, p. 284-293, 2000.

GRANT, K. R.; WATSON, J. Controlling nuisance egret and heron rookeries in Oklahoma. **Great Plains Wildlife Damage Control Workshop Proceedings**. p. 3, 1995.

GROND, K.; SANDERCOCK, B. K.; JUMPPONEN, A.; ZEGLIN, L. H. The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds. **Journal of Avian Biology**, v. 49, n. 11, p. e01788, 2018.

GRUNDMANN, H.; SOUSA, M. A.; BOYCE, J.; TIEMERSMA, E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. **The Lancet**, v. 368, n. 9538, p. 874-885, 2006.

GUEDES, R. M., C.; BROWN, C. C.; SEQUEIRA, J. L.; REIS JR., J. L. Sistema Digestório. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro : Roca, 2016. p. 278-281.

HANCOCK, J.; KUSHLAN, J.A. **The herons handbook**. Harper and Row, New York, 1984. 288 p.

HANCOCK, J. **Herons and egrets of the world: a photographic journey**. London : Academic Press, 1999. 300 p.

HASSELL, J. M.; WARD, M. J.; MULOI, D.; BETTRIDGE, J. M.; PHAN, H.; ROBINSON, T. P.; OGENDO, A.; IMBOMA, T.; KIIRU, J.; KARIUKI, S.; BEGON, M.; KANG'ETHE,

- E. K.; WOOLHOUSE, E. K.; FÈVRE, E. M. Deterministic processes structure bacterial genetic communities across an urban landscape. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2019.
- HEREDIA, N.; GARCÍA, S. Animals as sources of food-borne pathogens: A review. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 3, p. 250-255, 2018.
- HERMANS, K.; DEVRIESE, L. A.; HERDT, P.; GODARD, C.; HAESEBROUCK, F. *Staphylococcus aureus* infections in psittacine birds. **Avian Pathology**, v. 29, n. 5, p. 411-415, 2000.
- HIDALGO-VILA, J.; DIAZ-PANIAGUA, C.; DE FRUTOSESCOBAR, C.; JIMENEZ-MARTINEZ, C.; PEREZSANTIGOSA, N. *Salmonella* in free living terrestrial and aquatic turtles. **Veterinary Microbiology**, v. 119, n. 2-4, p. 311-315, 2007.
- HILALUDDIN; SHAH, J. N.; SHAWL, T. A. Nest site selection and breeding success by cattle egret and little egret in Amroha, Uttar Pradesh, India. **Waterbirds**, v. 26, n. 4, p. 444-448, 2003.
- HIRD, S.M.; CARSTENS, B.C.; CARDIF, S.W.; DITTMANN, D.L.; BRUMFELD, R.T. Sampling locality is more detectable than taxonomy or ecology in the gut microbiota of the brood-parasitic Brown-headed Cowbird (*Molothrus ater*). **Peer Journal**, v. 2, p. e321, 2014.
- HIRD, S.M.; SÁNCHEZ, C.; CARSTENS, B.C.; BRUMFELD, R.T. Comparative gut microbiota of 59 neotropical bird species. **Frontiers in Microbiology**, p. 1403, 2015.
- HOLT, J. G. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1994. 787 p.
- HORN, R. V.; BEZERRA, W. G.; LOPES, E. S.; TEIXEIRA, R. S.; SILVA, I. N.; BONA, M. D.; HAVT, A.; CARDOSO, W. M. Antimicrobial susceptibility and diarrheagenic diagnosis of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from feral pigeons (*Columba livia*) captured in Fortaleza, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 11, p. 2150-2154, 2018.
- HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.
- 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 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (CONBRAVET)**, Gramado, RS. 2008.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 771 p.
- JOHNSON, J. R.; STELL, A. L.; DELAVARI, P.; MURRAY, A. C.; KUSKOWSKI, M.; GAASTRA, W. Phylogenetic and pathotypic similarities between *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infections in humans. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 183, n. 6, p. 897-906, 2001.
- KANG, H. Y.; JEONG, Y. S.; OH, J. Y.; TAE, S. H.; CHOI, C. H.; MOON, D. C.; LEE, W. K.; LEE, Y. C.; SEOL, 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, n. 5, p. 639-644, 2005.
- KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews of Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004.

KERN, A.; PERRETEN, V. Clinical and molecular features of methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci of pets and horses. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 6, p. 1256-1266, 2013.

KERN, W. V. Multiresistant bacteria-antibiotic prescription and antibiotics of last resort. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 143, n. 9, p. 643-650, 2018.

KÉROUANTON, A.; HENNEKINNE, J. A.; LETERTRE, C.; PETIT, L.; CHESNEAU, O.; BRISABOIS, A.; DE BUYSER, M. L. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, n. 3, p. 369-375, 2007.

KOPIJ, G. Mortality in South African cattle egrets *Bubulcus ibis* from 1951 to 1987. **The Ring**, v. 38, n. 1, p. 57-62, 2017.

KOUR, D. N.; SAHI, D. N. Aspects of breeding biology of cattle egret, *Bubulcus ibis* coromandus (boddaert) in Jammu, India. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 3, n. 5, p. 1547-1561, 2013.

KOTTWITZ, L. B. M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Métodos de caracterização fenotípica e genotípica de *Salmonella* Enteritidis e a utilidade da técnica PFGE em estudos epidemiológicos. **Biosaúde**, v. 13, n. 1/2, p. 38-50, 2011.

KUMAR, J. D.; NEGI, Y. K.; GAUR, A.; KHANNA, D. Detection of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from paper currency. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 13, n. 6, p. e450-e455, 2009.

KUSHLAN, J. A.; HANCOCK, J. A. **The herons**. Oxford: Oxford Academic Press, 2005. 433 p.

KYAW, C. M.; DE ARAUJO, C. R.; LIMA, M. R.; GONDIM, E. G. S.; BRIGIDO, M. M.; GIUGLIANO, L. G. Evidence for the presence of a type III secretion system in diffusely adhering *Escherichia coli* (DAEC). **Infection, Genetics and Evolution**, v. 3, n. 2, p. 111-117, 2003.

LAMAITA, H. C.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO, L. S.; SANTOS, D. A.; PENNA, C. F. A. M.; SOUZA, M. R. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 702-709, 2005.

LARSSON, D. J.; ANDREMONT, A.; BENGTSSON-PALME, J.; BRANDT, K. K.; DE RODA HUSMAN, A. M.; FAGERSTEDT, P.; FICK, J.; FLACH, C. F.; GAZE, W. H.; KURODA, M.; KVINT, K.; LAXMINARAYAN, R.; MANAIA, C. M.; NIELSEN, K. M.; PLANT, L.; PLOY, M. C.; SEGOVIA, C.; SIMONET, P.; WERNERSSON, A. S. Critical knowledge gaps and research needs related to the environmental dimensions of antibiotic resistance. **Environment International**, v. 117, p. 132-138, 2018.

LEBOV, J.; GRIEGER, K.; WOMACK, D.; ZACCARO, D.; WHITEHEAD, N.; KOWALCYK, B.; MACDONALD, P.D. A framework for One Health research. **One Health**, v. 3, p. 44-50, 2017.

LECIS, R.; PAGLIETTI, B.; RUBINO, S.; ARE, B. M.; MUZZEDDU, M.; BERLINGUER, F.; CHESSA, B. AND PITTAU, M. Detection and characterization of *Mycoplasma* spp. and *Salmonella* spp. in free-living European tortoises (*Testudo hermanni*, *Testudo graeca*, and *Testudo marginata*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 47, n. 3, p. 717-724, 2011.



LECLERCQ, R.; CANTÓN, R.; BROWN, D. F.; GISKE, C. G.; HEISIG, P.; MACGOWAN, A. P.; MOUTON, J. W.; NORDMANN, P.; RODLOFF, A. C.; ROSSOLINI; SOUSSY, C. J.; STEINBAK, M.; WINSTANLEY, T. G.; KAHLMETER, G. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 2, p. 141-160, 2013.

LERTWORAPREECHA, M.; SUTTHIMUSIK, S.; TONTIKAPONG, K. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* isolated from pork, chicken, and vegetables in Southern Thailand. **Jundishapur Journal Microbiol.**, v.6, p. 36-41, 2013.

LEVINSON, W.; CHIN-HONG, P.; JOYCE, E. A.; NUSSBAUM, J.; NUSSBAUM, J.; SCHWARTZ, B. Intestinal Tract-Related Gram-Negative Bacilli. In: LEVINSON, W.; CHIN-HONG, P.; JOYCE, E. A.; NUSSBAUM, J.; NUSSBAUM, J.; SCHWARTZ, B. **Review of Medical Microbiology and Immunology : A Guide to Clinical Infectious Diseases**. 16. ed. McGraw Hill, 2020. v.16, p. 153-155.

LIAKOPOULOS, A.; MEVIUS, D.; CECCARELLI, D. A review of SHV extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: neglected yet ubiquitous. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1374, 2016.

LIM, H.; LEE, K. H.; HONG, C. H.; BAHK, G. J.; CHOI, W. S. Comparison of four molecular typing methods for the differentiation of *Salmonella* sp. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, n. 3, p. 411 – 418, 2005.

LITERAK, I.; VANKO, R.; DOLEJSKA, M.; ČÍŽEK, A.; KARPÍŠKOVÁ, R. Antibiotic resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* in Russian rooks (*Corvus frugilegus*) wintering in the Czech Republic. **Letters in Applied Microbiology**, v. 45, n. 6, p. 616-621, 2007.

LOPES, E. S.; DE SOUSA, A. R.; DE QUEIROZ CAMPOS, E. M. S.; LIMA, B. P.; MARQUES, A. R.; MACIEL, W. C. Infecção experimental de *Salmonella* Saintpaul em Periquito-australiano (*Mellopsitacus undulatus*). **Conjecturas**, v. 22, n. 1, p. 1824-1830, 2022.

LÓPEZ-BANDA, D. A.; CARRILLO-CASAS, E. M.; LEYVA-LEYVA, M.; OROZCO-HOYUELA, G.; MANJARREZ-HERNÁNDEZ, Á. H.; ARROYO-ESCALANTE, S.; MONCADA-BARRÓN, D.; VILLANUECA-RECILLAS, S.; XICOHTENCATL-CORTES, J.; HERNÁNDEZ-CASTRO, R. Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from women with urinary tract infection in Mexico. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

MACHADO, D. N.; LOPES, E. S.; ALBUQUERQUE, A. H.; HORN, R. V.; BEZERRA, W. G. A.; SIQUEIRA, R. A. S.; LOPES, I. T.; NUNES, F. P.; TEIXEIRA, R. S. C.; CARDOSO, W. M. Isolation and antimicrobial resistance profiles of Enterobacteria from nestling grey-breasted parakeets (*Pyrrhura griseipectus*). **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 20, p. 103-110, 2018.

MAJOWICZ, E.C.; MUSTO, J. SCALLAN, E.; ANGULO, F.J.; KIRK, M. O'BRIEN, S.J.; JONES, T.F.; FAZIL, A.; HOEKSTRA, R.M. The global burden of non-typhoidal *Salmonella* gastroenteritis. **Food Safety**, v.50, n. 6, p.882- 889, 2010.

MARTÍN-MALDONADO, B.; VEJA, S.; MENCÍA-GUTIÉRREZ, A.; LORENZO-REBENAQUE, L.; DE FRUTOS, C.; GONZÁLEZ, F.; RUVUELTA, L.; MARIN, C. Urban birds: An important source of antimicrobial resistant *Salmonella* strains in Central Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 72, p. 101519, 2020.

MARTÍNEZ-VILALTA, A.; MOTIS, A.; KIRWAN, G.M. Great white egret (*Ardea alba*). In: DEL HOYO, J.; ELLIOTT, A.; SARGATAL, J.; CHRISTIE, D.A.; DE JUANA, E. **Handbook of the Birds of the World Alive**. Barcelona: Lynx Edicions, 2016.

MATARAZZO-NEUBERGER, W.M. **Guildas, organização e estrutura da comunidade: análise da avifauna da represa Billings**, São Paulo. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994. 174 p.

MATIAS, C.A.R.; PEREIRA, I.A.; REIS, E.M.F.D.; RODRIGUES, D.D.P.; SICILIANO, S. Frequency of zoonotic bacteria among illegally traded wild birds in Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 882-888, 2016.

MATTES, B. R.; CONSIGLIO, S. A. S.; DE ALMEIDA, B. Z.; GUIDO, M. C.; ORSI, R. B.; DA SILVA, R. M.; COSTA, A.; FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Influência da biossegurança na colonização intestinal por *Escherichia coli* em Psitacídeos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 13-16, 2021.

McDANIELS, A.E.; RICE, E.W.; REYES, A. L.; JOHNSON, C. H.; HAUGLAND, R. A.; STELMA JR, G. N. Confirmational identification of *Escherichia coli*, a comparison of genotypic and phenotypic assays for glutamate decarboxylase and beta-D-glucuronidase. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 9, p. 3350-3354, 1996.

MCIEL, J. F.; GRESSLER, L. T.; DA SILVEIRA, B. P.; BALZAN, C.; MATTER, L. B.; SIQUEIRA, F. M.; DE VARGAS, A. P. C. Caution at choosing a particular colony-forming unit from faecal *Escherichia coli*: it may not represent the sample profile. **Letters in Applied Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 130-136, 2019.

McKILLIGAN, N. Herons, Egrets and Bitterns: Their Biology and Conservation in Australia (PDF extract). **CSIRO Publishing**, p. 88-93. ISBN 0-643-09133-5, 2005.

MERCHANT, I. A.; PACKER, R. A. Veterinary bacteriology and virology. **Veterinary Bacteriology and Virology**, v.7, p. 211-305, 1950.

MILLÁN, J.; ADURIZ, G.; MORENO, B.; JUSTE, R. A.; BARRAL, M. *Salmonella* isolates from wild birds and mammals in the Basque Country (Spain). **Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties**, v. 23, n. 3, p. 905-912, 2004.

MORISHITA, T. Y.; LEY, E. C.; HARR, B. S. Survey of pathogens and blood parasites in free-living passerines. **Avian Diseases**, p. 549-552, 1999.

MOOIJMAN, K. A. The new ISO 6579-1: A real horizontal standard for detection of *Salmonella*, at last! **Food Microbiology**, v. 71, p. 2-7, 2017.

MOULIN-SCHOULEUR, M.; RÉPÉRANT, M.; LAURENT, S.; BREE, A.; MIGNON-GRASTEAU, S.; GERMON, P.; RASSCHAERT, D.; SCHOULER, C. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p. 3366-3376, 2007.

MUKHERJEE, A. Adaptiveness of cattle egret's (*Bubulcus ibis*) foraging. **Zoos' Print Journal**, v. 15, n. 10, p. 331-333, 2013.

NATARO, J.P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

NATARO, J.P.; BOPP, C.A.; FIELDS, P.I., KAPER, J.B.; STROCKBINE, N. A. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. **Manual of Clinical Microbiology**, 2011. p. 603-626.

- NEWMAN, S. H.; CHMURA, A.; CONVERSE, K.; KILPATRICK, A. M.; PATEL, N.; LAMMERS, E.; DASZAK, P. Aquatic bird disease and mortality as an indicator of changing ecosystem health. **Marine Ecology Progress Series**, v. 352, p. 299-309, 2007.
- NGOGO, F. A.; JOACHIM, A.; ABADE, A. M.; RUMISHA, S. F.; MIZINDUKO, M. M.; MAJIGO, M. V. Factors associated with *Salmonella* infection in patients with gastrointestinal complaints seeking health care at Regional Hospital in Southern Highland of Tanzania. **BMC Infectious Diseases**, v. 20, n. 1, p. 1-8, 2020.
- NOVICK, R. P.; SCHLIEVERT, P.; RUZIN, A. Pathogenicity and resistance islands of Staphylococci. **Microbes and Infection**, v. 3, p. 585-94, 2001.
- NYANGA, P. L.; ONYUKA, J.; WEBALE, M. K.; WERE, T.; BUDAMBULA, V. *Escherichia coli* pathotypes and *Shigella* serogroups in diarrheic children in Nairobi city, Kenya. **Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench**, v. 10, n. 3, p. 220, 2017.
- OLUDAIRO, O. O.; KWAGA, J. K.; KABIR, J.; ABDU, P. A.; GITANJALI, A.; PERRETS, A.; CIBIN, V.; LETTINI, A.; AIYEDUN, J. A Review on *Salmonella* Characteristics, Taxonomy, Nomenclature with Special Reference to Non-Typhoidal and Typhoidal Salmonellosis. **Zagazig Veterinary Journal**, v. 50, n. 2, p. 161-176, 2022.
- PADUNGTOD, P.; KANEENE, J. B. *Salmonella* in food animals and humans in northern Thailand. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, n. 3, p. 346-354, 2006.
- PELISSER, M. R.; KLEIN, C. S.; ASCOLI, K. R.; ZOTTI, T. R.; ARISI, A. C. M. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and multiplex PCR detection of classic enterotoxin genes in cheese and meat products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 145-148, 2009.
- PENNYCOTT, T. W.; PARK, A.; MATHER, H. A. Isolation of different serovars of *Salmonella enterica* from wild birds in Great Britain between 1995 and 2003. **Veterinary Record**, v. 158, n. 24, p. 817-820, 2006.
- PÉREZ, V. K. C.; CUSTÓDIO, D. A. C.; SILVA, E. M. M.; OLIVEIRA, J.; GUIMARÃES, A. S.; BRITO, M. A. V. P.; SOUZA-FILHO, A. F.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A.P.; DORNELES, E. M. S. et al. Virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 2111-2122, 2020.
- PERCIPALLE, M.; GIARDINA, G.; LIPARI, L.; PIRAINO, C.; MACRI, C. AND FERRANTELLI, V. *Salmonella* infection in illegally imported spur-thighed tortoises (*Testudo graeca*). **Zoonoses and Public Health**, v. 58, n. 4, p. 262-269, 2011.
- PLATTS-MILLS, J. A.; BABJI, S.; BODHIDATTA, L.; GRATZ, J.; HAQUE, R.; HAVT, A.; MCCORMICK, B. J. J.; MACGRATH, M.; OLORTEGUI, M. P.; SAMIE, A.; SHAKOOR, S.; MANDAL, D.; LIMA, I.F.N.; HARIRAJU, D.; RAYAMAJHI, B. B.; QURESHI, S.; KABIR, F.; YORI, P. P.; MUFAMADI, B.; AMOUR, C.; CARREON, J. D.; RICHARD, S.A.; LANG, D.; BESSONG, P.; MDUMA, E.; AHMED, T.; LIMA, A. A. A. M.; MASON, C. J.; ZAID, A. K. M.; BHUTTA, Z. A.; KOSEK, M.; GUERRANT, R. L.; GOTTLIEB, M.; MILLER, M.; KANG, G.; HOUP, E. Cargas específicas de patógenos de diarreia comunitária em países em desenvolvimento: um estudo de coorte de nascimento em vários locais (MAL-ED). **The Lancet Global Health**, v. 3, n. 9, p. e564-e575, 2015.
- PLAZA, P. I.; BLANCO, G.; MADARIAGA, M. J.; BOERI, E.; TEJEIRO, M. L.; BIANCO, G.; LAMBERTUCCI, S. A. Scavenger birds exploiting rubbish dumps: Pathogens at the gates. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 66, n. 2, p. 873-881, 2018.

POPOFF, M.Y.; LE MINOR, L. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. **WHO collaborating Center for Reference and Research on Salmonella**, Pasteur Institute, Paris, 1997.

PORRERO, M. C.; MENTABERRE, G.; SANCHEZ, S.; FERNANDEZ-LLARIO, P.; GÓMEZ-BERRO, S.; NAVARRO-GONZALEZ, N.; SERRANO, E.; CASAS-DÍAZ; MARCO, I.; FERNÁNDEZ-GORAYZABAL, J.F.; MATEOS, A.; VIDAL, D.; LAVÍN, S.; DOMÍNGUEZ, L. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage in different free-living wild animal species in Spain. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 1, p. 127-130, 2013.

PUI, C. F.; WONG, W. C.; CHAI, I. C.; TUNUNG, R.; JEYELETCHUMI, P.; NOOR HIDAYA, M. S.; UBONG A.; FRARINAZLEEN, M. G.; CHEAH, Y. K. AND SON, R. Salmonella: A foodborne pathogen. **International Food Research Journal**, v.18. n. 2, p. 465-473, 2011.

QADRI, F.; SVENNERHOLM, A. M.; FARUQUE, A. S. G.; SACK, R. B. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 3, p. 465-483, 2005.

QUEENAN, K.; HÄSLER, B.; RUSHTON, J. A One Health approach to antimicrobial resistance surveillance: is there a business case for it? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 48, n. 4, p. 422-427, 2016.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S. Enterobacteriaceae family. In QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. 2. ed. Wiley-Blackwell, v. 1, 2011. p. 55-127.

RAHMAN, H. S.; OTHMAN, H. H. *Salmonella* infection: the common cause of human food poisoning. **Progress in Bioscience and Bioengineering**, v. 1, n. 1, p. 5-10, 2017.

RANKIN, A. M.; PLATT, D. J. Phage conversion in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis: implications for epidemiology. **Epidemiology & Infection**, v. 114, n. 2, p. 227-236, 1995.

RAKSHA, S.; BRAR, A. P. S.; SOOD, N. K.; LEISHANGTHEM, G. D.; JAISWAL, V. Alterações histopatológicas associadas à imunolocalização de *Clostridium perfringens* e *Salmonella* spp. em bezerros neonatos que morreram de diarreia. **Ciência Rural**, v. 51, n. 3, p.13-19, 2021.

RAPPOLE, J. H.; DERRICKSON, S. R.; HUBALEK, Z. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. **Emerging Infectious Diseases**, v. 6, n. 4, p. 319, 2000.

RASKO, D. A.; ROSOVITZ, M.J.; MYERS, G.S.A.; MONGODIN, E.F.; FRICKE, W. F.; GAJER, P.; CRABTREE, J.; SEBAIHIA, M.; THOMSON, N. R.; CHAUDHURI, R.; HENDERSON, I.; SPERANDIO, V.; RAVEL, J. The pangenome structure of *Escherichia coli*: Comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 20, p. 6881-6893, 2008.

RECHE, M.P., JIMÉNEZ, P.A., ALVAREZ, F., RÍOS, J.E.G., ROJAS, A.M., PEDRO, P. Incidence of Salmonellae in captive and wild free-living raptorial birds in Central Spain. **Journal Veterinary Medical Science**, v.50, n.1, p. 42-44, 2003.

REED, K. D.; MEECE, J. K.; HENKEL, J. S.; SHUKLA, S. K. Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, influenza A and enteropathogens. **Clinical Medicine & Research**, v. 1, n. 1, p. 5-12, 2003.

- REEVES, M. W.; EVINS, G. M.; HEIBA, A. A.; PLIKAYTIS, B. D. AND FARMER, J. J. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other Salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 2, p. 313-320, 1989.
- RILEY, L. W. Pandemic lineages of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 5, p. 380-390, 2014.
- RODRIGUEZ-SIEK, K. E.; GIDDINGS, C. W.; DOETKOTT, C.; JOHNSON, T. J.; NOLAN, L. K. Characterizing the APEC pathotype. **Veterinary Research**, v. 36, n. 2, p. 241-256, 2005.
- RODRÍGUEZ, F. I.; OSINALDE, J. M.; GÓMEZ, S. C.; PULIDO, D. G.; CAFFER, M. I.; NICOLAU, F. C.; BUENO, D. J. Prevalence, antimicrobial resistance profile and comparison of selective plating media for the isolation of *Salmonella* spp. in free-ranging waterfowl from Entre Rios, Argentina. **Poultry Science**, v. 97, n. 9, p. 3043-3049, 2018.
- ROLLIN, E.; DHUYVETTER, K.; OVERTON, M. The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 122, n. 3, p. 257-264, 2015.
- RUSSO, T. A.; JOHNSON, J. R. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 5, p. 1753-1754, 2000.
- RUSSO, T.A.; JOHNSON, J. R. Extraintestinal isolates of *Escherichia coli*: identification and prospects for vaccine development. **Expert Review of Vaccines**, v. 5, n. 1, p. 45-54, 2006.
- RYU, S. H.; LEE, J. H.; PARK, S. H.; SONG, M. O.; PARK, S. H.; JUNG, H. W.; PARK, G. Y.; CHOI, S. M.; KIM, M. S.; CHAE, Y. Z.; PARK, S. G.; LEE, Y. K. Antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from commercial and cooked foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 159, n. 3, p. 263-266, 2012.
- SAIDENBERG, A. B. S.; KNOBL, T. Colibacilose em aves silvestres. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 8, p. 16-28, 2005.
- SAIDENBERG, A. B.; TEIXEIRA, R. H. F.; GUEDES, N. M. R.; ALLGAYER, M. D. C.; MELVILLE, P. A.; BENITES, N. R. Molecular detection of enteropathogenic *Escherichia coli* in asymptomatic captive psittacines. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 922-926, 2012.
- SAINZ, T.; PÉREZ, J.; VILLASECA, J.; HERNÁNDEZ, U.; ESLAVA, C.; MENDOZA, G.; WACHER, C. Survival to different acid challenges and outer membrane protein profiles of pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from pozol, a Mexican typical maize fermented food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 105, n. 3, p. 357-367, 2005.
- SALEEM, G.; FAROOQ, U.; NASEER, R.; ASLAM, H. B.; MUSTAFA, G.; OMAR, M. O.; LIAQAT, I. Pathobiological and immunohistochemical findings in broiler chickens naturally infected with *Salmonella enterica* serotype Gallinarum biotype Gallinarum. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 42, n. 1, p. 88-95, 2022.
- SCHERER, F. J. D. M. et al. Estudo da avifauna associada à área úmida situada no Parque 65 Mascarenhas de Moraes, zona urbana de Porto Alegre (RS). **Biotemas**, v. 19, n. 1, p. 107-110, 2006.
- SCHLOEMP, E. L. **Estudo da dinâmica de um ninhal de garças (Ardeidae) e Biguás (Phalacrocoracidae) na Reserva do Instituto de Botânica, São Paulo-SP.** Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. 1995. 85 p.

SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Veterinary Research**, v. 32, n. 3-4, p. 201-225, 2001.

SEEDIKKOYA, K.; AZEEZ, P. A.; SHUKKUR, E. A. A. Cattle egret as a biocontrol agent. **Zoos' Print Journal**, v. 22, n. 10, p. 2864-2866, 2013.

SEIF, S.; PROVENCHER, J. F.; AVERY-GOMM, S.; DAOUST, P. Y.; MALLORY, M. L.; SMITH, P. A. Plastic and non-plastic debris ingestion in three gull species feeding in an urban landfill environment. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, n. 3, p. 349-360, 2018.

SERAFNI, P. P.; MEURER, R.; DIESDORF, S. M.; SIPINSKI, E. A. B. O uso da microbiologia como ferramenta para a conservação de aves ameaçadas: dados preliminares para o papagaio-de-cara-roxa, *Amazona brasiliensis* (Aves: Psittacidae) no Paraná. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR.**, v. 18, p. 65-69, 2015.

SHAH, A.; ALAM, S.; KABIR, M.; FAZAL, S.; KHURSHID, A.; IQBAL, A.; KHAN, M. M.; KHAN, W.; QAYYUM, A.; HUSSAIN, M.; ASKARY, A.; GHARIB, A. F.; ELESAWY B. H.; BIBI, Y. Migratory birds as the vehicle of transmission of multi drug resistant extended spectrum  $\beta$  lactamase producing *Escherichia fergusonii*, an emerging zoonotic pathogen. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 5, p. 3167-3176, 2022.

SHAMES, S. R.; AUWETER, S. D.; FINLAY, B. B. Co-evolution and exploitation of host cell signaling pathways by bacterial pathogens. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, n. 2, p. 380-389, 2009.

SHARIF, M.; ALAM, S.; FAZAL, S.; KABIR, M.; SHAH, A.; KHAN, W.; KHAN, M. M.; KHURSHID, A. Isolation and characterization of multidrug resistant beta-lactamase producing *Salmonella enterica* from wild migratory birds. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 18, n. 1, p. 1407-1418, 2020.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 862.

SILVA, D. **Considerações taxonômicas em Ardeidae (Aves), com base na osteologia**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Zoologia. São Paulo, 2011. 47 p.

SILVA, M. A.; MARVULO, M. F.; MOTA, R. A.; SILVA, J. C. A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 573-580, 2010.

SILVA, M. A.; FERNANDES, E. F.; SANTANA, S. C.; MARVULO, M. F. V.; BARROS, M. R.; VILELA, S. M.; REIS, R. M. F.; MOTA, R. A.; SILVA, J. C. Isolation of *Salmonella* spp. in cattle egrets (*Bubulcus ibis*) from Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 559-563, 2018.

SILVA, N.; IGREJAS, G.; RODRIGUES, P.; RODRIGUES, T.; GONÇALVES, A.; FELGAR, A. C.; PACHECO, R.; GONÇALVES, D.; CUNHA, R.; POETA, P. Molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates in wild birds from the Azores Archipelago. **Avian Pathology**, v. 40, n. 5, p. 473-479, 2011.

SJÖLUND, M.; BONNEDAHL, J.; HERNANDEZ, J.; BENGTSSON, S.; CEDERBRANT, G.; JARONE PINHASSI, J.; KAHLMETER, G.; OLSEN, B. Dissemination of multidrug-resistant bacteria into the Arctic. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 70, 2008.

SMITH, J. P. Foraging flights and habitat use of nesting wading birds (Ciconiiformes) at lake Okeechobee, Florida. **Colonial Waterbirds**, v. 18, p. 139-158, 1995.

SOUSA, E., WERTHER, K., BERCHIERI JUNIOR, A. Assessment of Newcastle and infectious bronchitis pathogens, and *Salmonella* spp. in wild birds captured near poultry facilities. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 219- 223, 2010.

SOUSA, M.; SILVA, N.; IGREJAS, G.; SILVA, F.; SARGO, R.; ALEGRIA, N; BONITO, D.; GÓMEZ, P.; LOZANO, C.; GÓMEZ-SANZ, E.; TORRES, C.; CANIÇA, M.; POETA, P. Antimicrobial resistance determinants in *Staphylococcus* spp. recovered from birds of prey in Portugal. **Veterinary Microbiology**, v. 171, n. 3-4, p. 436-440, 2014.

SOUZA, C.O. et al. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 79-91, 2016.

STENKAT, J.; KRAUTWALD-JUNGHANNS, M. E.; SCHMITZ ORNÉS, A.; EILERS, A.; SCHMIDT, V. Aerobic cloacal and pharyngeal bacterial flora in six species of free-living birds. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, n. 6, p. 1564-1571, 2014.

STEPÁN, J.; PANTÚCEK, R.; DOSKAR, J. Molecular diagnostics of clinically important *Staphylococci*. **Folia Microbiologica**, v. 49, p. 353–386, 2004.

SURA, R.; VAN KRUININGEN, H. J.; DEBROY, C.; HINCKLEY, L. S.; GREENBERG, K. J.; GORDON, Z.; FRENCH, R. A. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*-induced acute necrotizing pneumonia in cats. **Zoonoses and Public Health**, v. 54, n. 8, p. 307-313, 2007.

SWIFT, B. M.; BENNETT, M.; WALLER, K.; DODD, C.; MURRAY, A.; GOMES, R. L.; HUMPHREYS, B.; HOBMAN, J. L.; JONES, M. A.; WHITLOCK, S. E.; MITCHELL, L. J.; LENNON, R. J.; ARNOLD, K. E. Anthropogenic environmental drivers of antimicrobial resistance in wildlife. **Science of the Total Environment**, v. 649, p. 12-20, 2019.

TAGGART, M. A.; RICHARDS, N.; KINNEY, C. A. Impacts of pharmaceuticals on terrestrial wildlife. **Issues in Environmental Science and Technology**, n. 41, p. 216-254, 2016.

TANGI, S. C.; TAJBAKSH, E.; SOLEIMANI, N. A.; SHAHRAKI, M. M. Prevalence of pathogenicity island markers genes in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infections. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, n. 8, p. 662-666, 2015.

TELFAR, R. C. **The Cattle Egret: a Texas focus and world view**. Texas A&M Univ., College Station. 1993.

TENAILLON, O.; SKURNIK, D.; PICARD, B.; DENAMUR, E. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 207-217, 2010.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M. D. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2557-2560, 2008.

THUNG, T. Y.; RADU, S.; MAHYUDIN, N. A.; RUKAYADI, Y.; ZAKARIA, Z.; MAZLAN, N. Prevalence, virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serovars from retail beef in Selangor, Malaysia. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2697, 2018.

- TROXLER, S.; HESS, C.; KONICEK, C.; KNOTEK, Z.; BARTÁK, P.; HESS, M. Microdilution testing reveals considerable and diverse antimicrobial resistance of *Escherichia coli*, thermophilic *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. isolated from wild birds present in urban areas. **European Journal of Wildlife Research**, v. 63, n. 4, p. 1-11, 2017.
- TSIODRAS, S.; KELESIDIS, T.; KELESIDIS, I.; BAUCHINGER, U.; FALAGAS, M.E. Sotirios et al. Human infections associated with wild birds. **Journal of Infection**, v. 56, n. 2, p. 83-98, 2008.
- TURNER, S. M.; SCOTT-TUCKER, A.; COOPER, L. M.; HENDERSON, I. R. Weapons of mass destruction: virulence factors of the global killer enterotoxigenic *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 263, n. 1, p. 10-20, 2006.
- UZAL., F. A.; PLATTNER, B. L.; HOSTETTER, J. M. Alimentary System. In: MAXIE, M. G. (ed) **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2016. v. 2, p. 167-177.
- VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. **Food borne pathogens**. London: Wolfe, 1991. p. 557.
- VAZ, F. F.; SERAFINI, P. P.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; MEURER, R.; DURIGON, R. L.; ARAÚJO, J.; THOMAZELLI, L. M.; OMETTO, T.; SININSKI, E. A. B.; SEZARBAN, R. M.; ABBUD, M. C., RASO, T. F. Survey of pathogens in threatened wild red-tailed Amazon parrot (*Amazona brasiliensis*) nestlings in Rasa Island, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, p. 747-753, 2017.
- VIGO, G.B.; ORIGLIA, J.; GORNATTI, D.; PISCOPO, M.; SALVE, A.; CAFFER, M.I.; PICHEL, M.; BINSZTEIN, N.; LEOTTA, G.A. Isolation of *Salmonella* Typhimurium from dead blue and gold macaws (*Ara ararauna*). **Avian Disease**, v. 53, n. 1, p.135-138, 2009.
- VILELA, S. M. O.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; SILVA, J. S. A.; PACE, F.; SILVEIRA, W. D.; SAUKAS, T. N.; REIS, W. M. F.; MOTA, R. A. Research of *Salmonella* spp. and evaluation of pathogenicity, cytotoxicity of *Escherichia coli* isolates proceeding from sparrows (*Passer domesticus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 931-935, 2012.
- VINDIGNI, S. M.; SRIJAN, A.; WONGSTITWILAIROONG, B.; MARCUS, R.; MEEK, J. AND RILEY, P. L. Prevalence of foodborne microorganisms in retail foods in Thailand. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 4, n. 2, p. 208-215, 2007.
- VLAHOVIĆ, K.; MATICA, B.; BATA, I.; PAVLAK, M.; PAVIČIĆ, Ž.; POPOVIĆ, M.; NEJEDLI, S. DOVČ, A. Campylobacter, Salmonella and Chlamydia in free-living birds of Croatia. **European Journal of Wildlife Research**, v. 50, n. 3, p. 127-132, 2004.
- WANG, J.; MA, C.B.; ZENG, Z.L.; YANG, Z.W., HUANG, Y.; LIU, J.H. The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes. **Zoological Research**, v. 38, n. 2, p. 55, 2017.
- WALSH, C.; FANNING, S. Antimicrobial resistance in foodborne pathogens - A cause for concern? **Current Drug Targets**, v. 9, n. 9, p. 808-815, 2008.
- WEBER, W. J. Notes on cattle egret breeding. **The Auk**, v. 92, n. 1, p. 111-117, 1975.
- WETMORE, A. An early record of the cattle egret in Colombia. **The Auk**, p. 547, 1963.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO. **Salmonella (non-typhoidal)**, 2018. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)). Acesso em 23 de setembro de 2022.
- YAVARI, L. **Antibiotic resistance in Salmonella enterica and the role of animal food control: A literature review of Europe and USA**, 2012. Disponível em:



www.phmed.umu.se/digitalAssets/104/10\_4569\_leila-yavaripdf Acesso em 25 de setembro de 2022.

YOKE-KQUEEN, C.; LEARN-HAN, L.; NOORZALEHA, A.S.; SON, R.; SABRINA, S.; JIUN-HORNG, S.; CHAI-HOON, K. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* Subsp. *enterica* isolated from indigenous vegetables and poultry in Malaysia. **Letters in Applied Microbiology**, v. 46, p. 318–324, 2008.

YORIO, P. M.; GIACCARDI, M. Urban and fishery waste tips as food sources for birds in northern coastal Patagonia, Argentina. **Neotropical Ornithological**, v.13, p.283-292 2002.

YUAN, Y.; LIANG, B.; JIANG, B.; ZHU, L.; WANG, T.; LI, Y.; LIU, J.; GUO, X.; JI, X.; SUN, Y. Migratory wild birds carrying multidrug-resistant *Escherichia coli* as potential transmitters of antimicrobial resistance in China. **Plos One**, v. 16, n. 12, p. e0261444, 2021.

YOUSEF, A. E. AND CARLSTROM, C. Salmonella. In: YOUSEF, A. E.; CARLSTROM, C. **Food Microbiology: A laboratory manual**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2003. p. 167-205.

YUCEL, N.; ULUSOY, H. A Turkey survey of hygiene indicator bacteria and *Yersinia enterocolitica* in raw milk and cheese samples. **Food Control**, v. 17, n. 5, p. 383-388, 2006.

ZHU, W.; SIERADZKI, K.; ALBRECHT, V.; MCALLISTER, S.; LIN, W.; STUCHLIK, O.; LIMBAGO, B.; POHL, J.; RASHEED, J. K. Evaluation of the Biotyper MALDI-TOF MS system for identification of *Staphylococcus* species. **Journal of Microbiological Methods**, v. 117, p. 14-17, 2015.

## **SEGUNDA PARTE**

Artigo redigido segundo as normas da Revista Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases

**DETECTION OF *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* IN  
ARDEIDS: INVESTIGATION OF POTENTIAL RESERVOIRS**

Maria Eduarda de Souza Teixeira Campos <sup>a</sup>; Dircéia Aparecida da Costa Custódio <sup>a</sup>; Isabella Guimarães Gonçalves <sup>a</sup>; Maysa Serpa Gonçalves <sup>a</sup>; Flademir Wouters <sup>a</sup>; Fernanda Morcatti Coura <sup>b</sup>; Elaine Maria Seles Dorneles <sup>a</sup>; Angelica Terezinha Barth Wouters <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Veterinary Medicine, Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Federal University of Lavras, University Campus, PO Box 3037, CEP 37200-900, Lavras/MG, Brazil.

<sup>b</sup> Federal Institute of Minas Gerais, Bambuí Campus, Varginha Farm, Bambuí/Medeiros Highway – km 05, PO Box 05, CEP 38900-000, Bambuí, MG, Brazil.

\* Corresponding author: ATB Wouters. Email address: angelica.wouters@ufla.br

**Summary:**

Ardeids are wild birds well adapted to urban and periurban environments. However, the association of wildlife with humans and livestock increases the chances of transmission of microorganisms between wild animals, domestic animals and humans. The present study aimed to investigate the occurrence of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in ardeids living in a nest located on the Campus of the Federal University of Lavras (UFLA), in Lavras, Minas Gerais, Southeast Region of Brazil. Ten Great Egrets (*Ardea alba*) and five Cattle Egrets (*Bubulcus ibis*) were examined. Most of these birds (92.85%) were chicks, with a prevalence of 42.85% of *Salmonella* spp. and 64.28% *E. coli*. No birds were detected with *S. aureus*. The vast majority of isolates were obtained by cloacal swab, which means that the agents were being eliminated by the birds' excreta and represent a significant public health concern.

**Keywords:** Enterobacteriaceae; wild birds; Zoonotic pathogens; Salmonellosis.

## 1. Introduction

Ardeids are birds of the Order Pelecaniformes. They have a wide geographic distribution, occurring in all continents (KUSHLAN; HANCOCK, 2005). These birds are adapted to shallow water areas (SILVA, 2011) and travel long distances in search of these water bodies (BERNARDON, 2013), where they use the environment to capture food, rest and reproduce (SMITH, 1995).

Ardeids form populous mixed nests in natural, urban and peri-urban environments, being commonly seen in squares, parks, ports and fishing villages (SCHERER et al., 2006). Garbage deposits and sanitary landfills are also increasingly frequented by ardeids (SEEDIKKOYA et al., 2007). In addition, some ardeid species, such as cattle herons (*Bubulcus ibis*), are often seen in association with the rearing of domestic animals, such as ruminants and horses, during foraging by birds (GOPEE et al., 2000; BELLA, AZEVEDO JUNIOR, 2004; FONTENELLE, 2006).

Urban areas offer greater availability of resources, such as food, shelter and less pressure from predators on several species of wild animals, which favors the establishment and population expansion (MARTÍN-MALDONADO et al., 2020). Greater availability of resources in cities and milder temperatures in winter, as a result of climate change, allow many species of wild birds to shorten or even interrupt their migrations, forming populations of resident birds (GALVÁN et al., 2003; GILBERT et al., 2016; MARTÍN-MALDONADO et al., 2020). As a consequence, many species of animals cohabit in urban and peri-urban areas, using the resources provided by human activities to survive, feed and reproduce (MIRANDA, 2017).

The association of wildlife with humans and livestock increases the chances of transmission of microorganisms by bird populations (ELMBERG et al., 2017). Wild birds are susceptible to several bacterial pathogens common to domestic animals and humans (HUBÁLEK, 2004; STENKAT et al., 2014; DIAS et al., 2019). They can manifest acute or chronic diseases, die due to the agent, heal or they can become subclinical reservoirs and important vectors in the dissemination of bacteria in the environment (HÚBALEK, 2004; COLE et al., 2005; BENSKIN et al., 2009; HASLE, 2013; LUGARINI et al., 2015). In this way, they can represent an important risk to human health (YORIO; GIACCARDI, 2002; MILLÁN et al., 2004; SILVA et al., 2010) and animal health (PENNYCOTT et al., 2006; NEWMAN et al., 2007). Migratory birds can also facilitate the dissemination of these

microorganisms over long distances (ELSOHABY et al., 2021) and even in remote areas, as has already been reported by the occurrence of wild birds carrying multiresistant bacteria in the Arctic (SJÖLUND et al., 2008).

*Salmonella* spp. (REED et al., 2003; PLAZA et al., 2018; MARTÍN-MALDONADO et al., 2020), *E. coli* (BEZERRA et al., 2017; HORN et al., 2018), *Staphylococcus* spp. (BRITTINGHAM et al., 1988; ELSOHABY et al., 2021) are microorganisms responsible for great concerns in public health, as these have been isolated from wild birds, in addition to reports of indirect transmission of these pathogens to humans (TSIODRAS et al., 2008).

Salmonellosis, caused by the bacteria *Salmonella* spp., is a major cause of diarrhea on all continents, with high rates of morbidity and mortality in humans (COBURN et al., 2007; MAJOWICZ et al., 2010). It causes severe gastrointestinal infections, sepsis and abortions, in addition to the occurrence of subclinical disease, with natural reservoirs (UZAL et al., 2016). The microorganism frequently affects the mucosa of the ileum, cecum and colon, as well as lymph nodes, liver, spleen and bone marrow (QUINN et al., 2011; UZAL et al., 2016).

As for *E. coli*, it is a genetically highly plastic bacterium, can cause serious gastrointestinal and systemic diseases, with diarrhea and colisepticemia in several species (BEZERRA et al., 2017). The agent is able to provide pathogenicity genes that can transit between bacteria, providing worrisome genetic recombinations (NYANGA et al., 2017).

In turn, *Staphylococcus* sp. tends to maintain a symbiotic relationship with the host until the skin barrier is broken and, thus, the microorganism can affect other tissues and play a pathogenic role (QUINN et al., 2005). It is important to emphasize that it presents strains with broad resistance to antimicrobials, responsible for important nosocomial infections (LAMAITA et al., 2005; GRUNDMANN et al., 2006).

In view of the importance of these microorganisms and the high potential of wild birds as disseminators of pathogenic agents, the objective of this study was to investigate the occurrence of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in ardeids living in a nest located within the Campus of the Federal University of Lavras (UFLA), in Lavras, Minas Gerais, southeastern Brazil, as well as characterizing lesions that may be related to infection by these microorganisms.

## **2. Materials and methods**

### **2.1. Ethics statement**

The study was authorized by the Ministry of the Environment of Brazil (Protocol 76075-1), and by the Ethics Committee on Animal Use of the Federal University of Lavras (UFLA) (Protocol 35/20).

### **2.2. Study population**

Within the UFLA Campus, located in the urban area of Lavras, state of Minas Gerais, Brazil, there is a nest of Pelecaniformes built in the area surrounding the course of a stream that crosses the city (Latitude: 21° 14' 43" S and longitude: 44° 59' 59" W), where daily visits were carried out during the 2021 ardeids' breeding season (September 2021 to February 2022).

Nestlings found during the visits to the Pelecaniformes nest that had fallen from the nest and were moribund or with little chance of survival were collected, weighed and anesthetized with a combination of ketamine (30mg/kg) and xylazine (4mg/kg) in the chest musculature and euthanized using intravenous thiopental in the ulnar or jugular vein (FAVORETTO, 2019).

Ardheid chicks found dead and euthanized chicks were collected and sent to the Veterinary Pathology Sector of the Department of Veterinary Medicine of UFLA, where they were identified, examined and sampled for microbiological, molecular and histopathological analyses.

### **2.3. Macroscopic analysis**

Macroscopic evaluation of organs and tissues of all animals was carried out, with description and photographic records of the alterations found.

### **2.4. Histopathological analysis**

Samples of organs and tissues were collected, fixed in 10% buffered formalin (pH 7.3), cleaved, submitted to routine histopathological processing and embedded in paraffin. Sections of 3-5µm were made, the slides stained with Hematoxylin and Eosin and evaluated by optical microscopy.

## 2.5. Microbiological analysis

### 2.5.1 Sampling

With the use of two sterile swabs, intracloacal excreta were collected from each cadaver, as well as two swabs from each organ with macroscopic lesions suggestive of *Salmonella* spp., *E. coli* or *Staphylococcus* spp. infection. One swab from each collection site was stored in a tube containing Buffered Peptone Water (BPW, Acumedia, Lansing, Michigan, USA) and the other in Stuart transport medium (Synth Ltda., Diadema, São Paulo, Brazil).

### 2.5.2. Cultivation, isolation and phenotypic characterization of *Salmonella* spp., *Escherichia Coli* and *Staphylococcus aureus* isolates

For isolation of *Salmonella* sp., swabs were cultured in BPW at 37 °C for 18 hours. After incubation, the samples were homogenized and enriched in Rappaport- Vassiliadis (Rp) broth (Kasvi, Madrid, Spain) and in Tetrathionate broth Broth Base (Tt) (Difco, Le Pont de Claix, France) at 42°C under aerobic conditions, for 24 hours, simultaneously.

After the enrichment period, the broths were homogenized at room temperature and plated on Xylose Lysine Tergitol-4 Agar (XLT4) plates (Difco, Le Pont de Claix, France), and incubated at 37°C for 24 hours. Colonies underwent biochemical testing on Simmons Citrate Agar (Himedia, Mumbai, India), Triple Sugar Iron Agar (Himedia, Mumbai, India) and Lysine Iron Agar (Himedia, Mumbai, India) as directed by ISO 6579-1 (MOOIJMAN, 2017).

For the isolation of *E. coli*, 100 µL of the homogenized broth of swabs were seeded in BPW in MacConkey medium (Oxoid Ltd., United Kingdom) and incubated at 37°C for 24 hours. Then isolated colonies were replated on Methylene Blue Eosin Agar (EMB) (Kasvi, Madrid, Spain) and incubated at 37° C for 24 hours.

For the isolation of *Staphylococcus* spp., the samples were seeded on Hypertonic Mannitol Agar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), incubated at 37°C for 18-24 hours and colonies suggestive of *Staphylococcus* spiked in BHI broth (Himedia, Mumbai, India) and subsequently submitted to the coagulase test in hydrophilized rabbit plasma (Coagulplasma, Laborclin Ltda., Pinhais, Paraná, Brazil).

From the cultivation of the microorganisms, up to five colony-forming units (CFU) were isolated from each culture, considering the possibility of genetic variability among the isolates (MACIEL et al., 2020). All colonies isolated underwent preliminary tests, and

characterization of microscopic morphology through smears stained by the Gram technique, and catalase, according to Quinn et al. (2011).

### **2.5.3. Molecular detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus***

Extractions of genomic DNA in strains isolated from herons were performed using the guanidine method, according to Pitcher et al. (1989). The extracted DNA pellet was resuspended and diluted in 50 µL of ultrapure water. The integrity of the extracted DNA was verified by 1% agarose gel electrophoresis in tris-borate-EDTA (TBE) buffer (89 mM Tris Base, 89 mM boric acid and 2 mM EDTA; pH 8.0; all from Sigma Aldrich, USA) and stained with ethidium bromide (0.5 mg/ mL) (Ludwig Biotecnologia Ltda., Brazil). After electrophoresis, the gels were visualized under ultraviolet light and photographed (L-PIX EX, Loccus Biotechnology, Brazil). The 100 bp DNA ladder (Ludwig Biotec, Brazil) was used in all electrophoresis assays.

#### **2.5.3.1. Molecular detection of *Salmonella* spp.**

The amplification of genes S18 and S19 were carried out to detect *Salmonella* spp., using the primers proposed by Kwang et al. (1996). As a positive control, DNA of *Salmonella* Typhimurium was used in all assays (ATCC 14028). The expected size of the amplicon was 159 bp.

#### **2.5.3.1. Molecular detection of *Escherichia coli***

For the detection of *E. coli*, amplification of the uidA gene was performed using the uidA primers, with an amplicon measuring 100 bp (McDANIELS et al., 1996). DNA from *E. coli* ATCC (25922) was used as a positive control.

In addition, the methodology and primers proposed by Clermont et al. (2012) were used for the classification of positive strains of *E. coli* according to phylogroups. The arpa, chuA, yjaA, and TspE4.c2 genes were amplified by PCR, with the characterization of phylogenetic groups A, B1, B2, C, D, E and F, with expected size amplicons of 400 bp, 288 bp, 211 bp, and 152 bp, respectively. The DNA of pathogenic strains of *E. coli* belonging to the Laboratory of Molecular Epidemiology of the Federal University of Lavras was used as positive control, samples codes 57-LEM, 161-LEM, 282-LEM and 424-LEM (COURA et al., 2017).

#### **2.5.3.1. Molecular detection of *Staphylococcus aureus***

For the genetic identification of *S. aureus*, amplification of the conserved thermonuclease gene (*nuc*) was carried out, using primers NUC-F166 and NUC-R565, with an amplicon size



of 400 pb, described by Cremonesi et al. (2005), including small modifications suggested by Pérez et al. (2020). The positive control used was the DNA of a strain of *S. aureus* (ATCC 25923).

### 3. Results

In visits to the Pelecaniformes nest we observed that the area was frequently visited by people living in the surroundings and domestic dogs. In addition, a large amount of garbage and human waste was observed, including in the creek that runs through the nest (Fig. 1; complementary file 1).



Fig. 1. Trash found in the Pelecaniformes nesting area at UFLA during the 2021 breeding season.

The nest is formed by the cowheron species (*Bubulcus ibis*), Great Egret (*Ardea alba*), Lesser Egret (*Egretta thula*) and sleeper eagle (*Nycticorax nycticorax*), the first two being the most abundant species in the area. Great egrets, although they inhabit the same area, build their nests a few meters away from other species and on top of taller trees.

Fifteen birds were collected; 10 Great Egrets and five Cattle Egrets. The birds were young, with the exception of an adult Cattle Egret. Six birds were found dead and nine were dying and then euthanized. A great egret had advanced postmortem alterations, therefore was only submitted to macroscopic evaluation. Cloacal swabs were collected from 14 birds, liver swabs from five birds with macroscopic changes, and intestinal swabs from two birds that presented macroscopic changes.

In the macroscopic evaluation, white foci and areas were observed in the liver of five herons (3 Great Egrets and 2 Cattle Egrets) (Fig. 2; complementary file 2) and blackened content in the intestine of two Great Egrets (Fig. 3; complementary file 3). At histopathologic exam the liver showed diffuse congestion (3 Great Egrets and 3 Cattle Egrets), necrosis (1 Great Egret and 1 Cattle Egret), multifocal lymphohistiocytic inflammatory infiltrate (1 Great Egret) (Fig. 4; complementary file 4), moderate lymphoplasmacytic periportal infiltrate (1 Great Egret) and hemorrhage (1 Great Egret). One Cattle Egret was diagnosed with necrotizing hepatitis, while the other birds had injuries from trauma (Fig. 5; complementary file 5) and parasitism by nematodes (Table 1; Complementary Table 1).

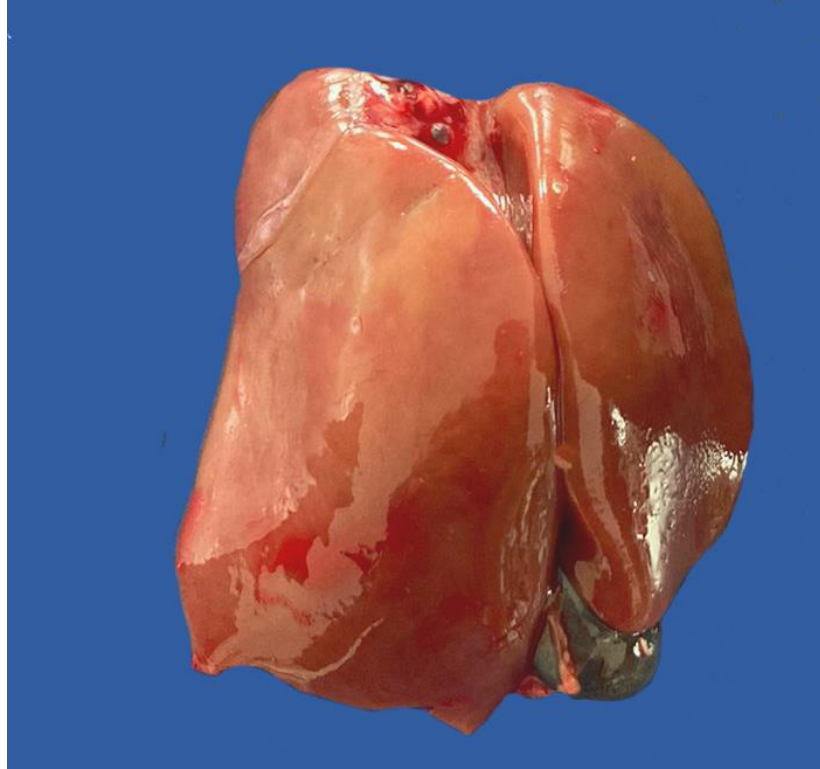


Fig. 2. Liver from a cattle Egret with pale areas and dots, bird collected in the 2021 breeding season at the UFLA Pelecaniformes nest.



Fig. 3. Intestine of a Great Egret with blackened contents, specimen collected in the 2021 breeding season at the Pelecaniformes nesting site at UFLA.

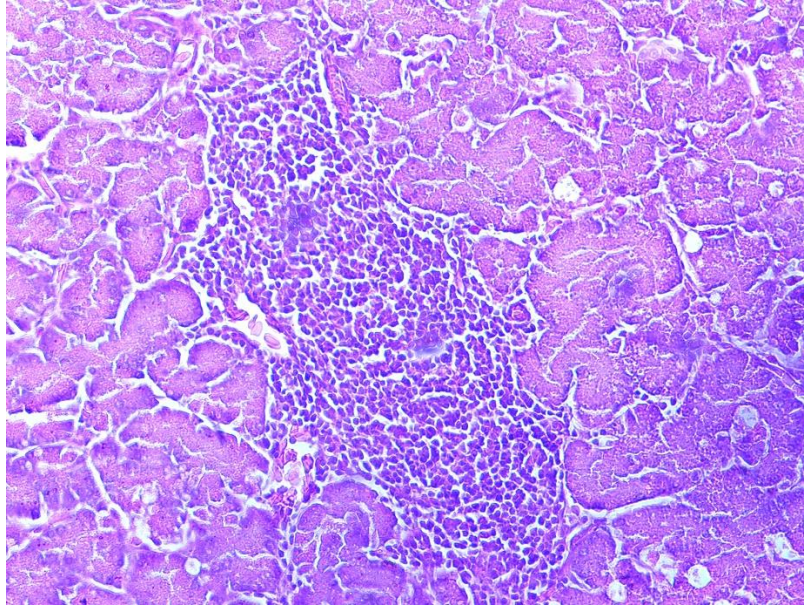


Fig. 4. Liver of Great Egret collected in the breeding season of 2021 in the Pelecaniformes nest of UFLA, with multifocal lymphohistiocytic inflammatory infiltrate. H&E, obj. 20x.



Fig. 5. Hemorrhages in the subcutaneous tissue of the head and neck, compatible with traumatic injuries, in Great Egret chicks collected at the UFLA Pelecaniformes nesting site in the 2021 breeding season and necropsied at the UFLA Veterinary Pathology Sector. (A) Dorsal view. (B) Side view.

Table 1. Ardeids collected in a nest of Pelecaniformes located on the Campus of the Federal University of Lavras, in Lavras, Minas Gerais, Brazil, microorganisms detected and location of detection in each bird, necropsy diagnosis and lesions related to the detected microorganism.

<b>Bird</b>	<b>Species</b>	<b>Age range</b>	<b>Diagnosis of necropsy</b>	<b>Material used for detection</b>	<b>Detected microorganisms</b>	<b>Lesions compatible with detected microorganisms</b>
1	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Traumatic brain injury and nematode parasitism	Excreta*	<i>E coli</i>	
2	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Traumatic brain injury and nematode parasitism	-	-	M: Blackened intestinal content. H: Liver congestion.
3	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Multifocal necrotizing hepatitis, polytrauma and nematode parasitism	-	-	M: Liver with pale areas. H: Liver with extensive areas and foci of necrosis associated with heterophilic and lymphocytic infiltration.
4	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Traumatic brain injury	Excreta	<i>E coli</i>	M: Liver with pale areas.
5	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Traumatic brain injury and nematode parasitism	Excreta and intestinal	<i>E coli</i>	M: Intestine with reddish mucosa and blackened contents H: Hepatic periportal

				content		lymphoplasmacytic ion
6	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Polytrauma	Excreta and liver	<i>E coli</i>	M: Liver with pale areas.
7	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Traumatic brain injury and nematode parasitism	Excreta	<i>E coli</i>	
8	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Traumatic brain injury	Excreta	<i>E coli</i>	H: Mild diffuse hepatic congestion.
9	Cattle Egret ( <i>Bubulcus ibis</i> )	Adult	Polytrauma and malnutrition	Excreta and Liver	<i>Salmonella</i> spp.	M: Liver with multiple white foci.  H: Marked diffuse hepatic congestion
10	Great Egret ( <i>Ardea alba</i> )	Chick	Esophageal impaction and necrotizing esophagitis	Excreta	<i>Salmonella</i> spp.	H: Moderate diffuse hepatic congestion.
11	Cattle Egret ( <i>Bubulcus ibis</i> )	Chick	Polytrauma	Excreta and Liver	<i>Salmonella</i> spp.  <i>E coli</i>	M: Liver with multiple areas and white foci.  H: focally extensive hepatic necrosis and hemorrhage.
				Excreta		

12	Cattle Egret ( <i>Bubulcus ibis</i> )	Chick	Polytrauma	Excreta	<i>Salmonella</i> spp. <i>E coli</i>	H: Moderate diffuse hepatic congestion
13	Cattle Egret ( <i>Bubulcus ibis</i> )	Chick	Polytrauma and nematode parasitism	Excreta	<i>Salmonella</i> spp.	H: Marked diffuse hepatic congestion.
14	Cattle Egret ( <i>Bubulcus ibis</i> )	Chick	Polytrauma and nematode parasitism	Excreta  Excreta	<i>Salmonella</i> spp. <i>E coli</i>	

\* collected by cloacal swab of birds. M: Macroscopy. H: Histopathology.

Through PCR (Fig. 6; complementary file 6) 27 colonies (27/187) positive for *Salmonella* spp. were isolated from six birds (6/14), 20 colonies from excreta and seven from liver; 35 colonies (35/60) positive for *E. coli* from nine (9/14) birds, 30 colonies isolated from excreta, three colonies from liver and two from intestinal contents; no colonies was positive for *S. aureus* (0/49). Among the colonies of *E. coli*, 25 belonged to phylogroup B1, eight to phylogroup B2, one to phylogroup A and one to phylogroup F (Table 2; Complementary Table 1).



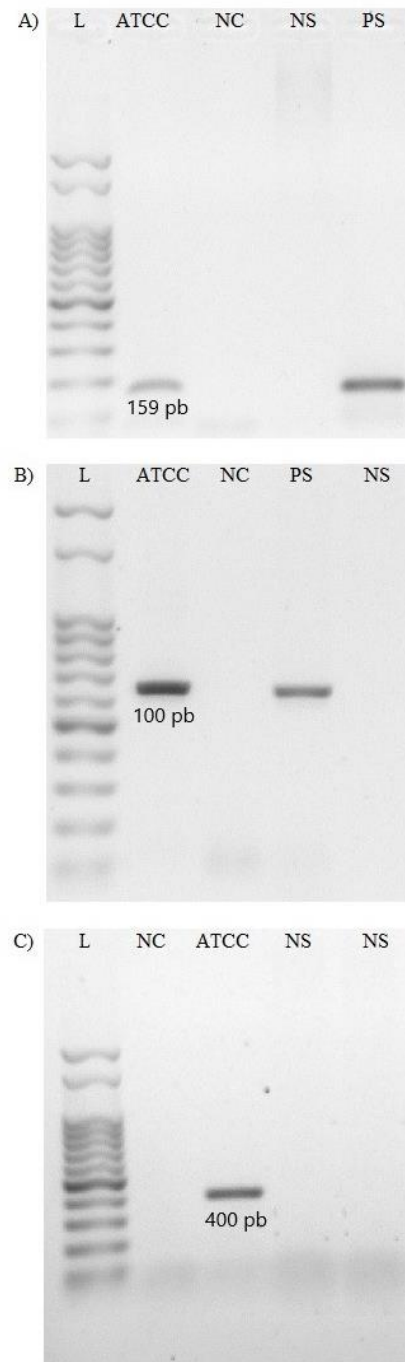


Fig. 6. Ethidium bromide stained 1% agarose gel (0.5 mg/ mL) of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. PCR performed on ardeid samples from Lavras, Minas Gerais, Brazil. A) *Salmonella* spp. PCR: ATCC (14028) used as positive control and samples tested negative (NS) and positive (PS). B) *Escherichia coli* PCR: ATCC (25922) used as positive control and sample tested positive (PS). C) *Staphylococcus aureus* PCR: ATCC sample (25923) used as a positive control, and negative samples (NS). 100 bp DNA Ladder (Ludwig Biotec, Brazil) (L); Negative control (NC).

Table 2. *Escherichia coli* phylogroups detected in ardeids collected in a Pelecaniformes nest located on the Campus of the Federal University of Lavras, in Lavras, Minas Gerais, Brazil.

Bird	Sample origin	Number of colonies	Phylogroup
1	Excreta	1	F
4	Excreta	2	B2
5	Excreta	2	B2
	Intestinal content	1	B2
	Intestinal content	1	B1
6	Excreta	3	B1
	Liver	3	B1
	Excreta	1	B2
	Excreta	1	A
7	Excreta	3	B1
	Excreta	1	B2
8	Excreta	5	B1
11	Excreta	4	B1
12	Excreta	3	B1
	Excreta	1	B2
14	Excreta	3	B1

#### 4. Discussion

The present study showed a prevalence of 42.85% of *Salmonella* spp. and 64.28% of *E. coli* in the ardeids analyzed. The vast majority of isolates were obtained by cloacal swab, which means that the agents were being eliminated by the birds through their excreta, and could be disseminated to different locations. These indices deserve attention, as they demonstrate the high potential of ardeids as vectors of zoonotic pathogens and represent a significant public health concern (GARGIULO et al., 2014; HAESSENDONCK et al., 2016).

The large volume of garbage and human waste found in the nesting area during the collection period drew attention, as this may be a factor that predisposes ardeids to infections by pathogenic agents, as it is known that infections by zoonotic pathogens tend to be more

common in birds that inhabit garbage dump areas when compared to birds from natural environments (PLAZA et al., 2018). In addition, the sharing of urban and periurban environments between wild birds, humans and domestic animals has been described as a facilitator for the spread of pathogens, including microorganisms resistant to antimicrobials (TROXLER et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; MARTIN-MALDONADO et al., 2020). In this context, synanthropic birds can act as sentinels for the identification of pathogens present in these environments (SACRISTÁN et al., 2014).

A risk factor for the spread of pathogens is the water from the creek that passes through the nesting area and crosses the city, which can infect people and animals through contact with the water. In the nest there is a large amount of organic matter formed by the excreta of birds and dead chicks. This organic matter is probably heavily contaminated by pathogens (PHALEN et al., 2010) with a risk of infection for animals and humans that frequent areas close to the nest.

In addition, ardeids pose a risk to livestock (SOUSA et al., 2010) since species such as the Cattle Egret maintain close contact with livestock during foraging. A report of Phalen et al. (2010) in Texas, demonstrated that horses infected with *Salmonella* sp. could have acquired the agent from the same sources as cattle herons, or that feces of infected horses could have been the source of *Salmonella* spp. in the herons. Although the aforementioned report did not demonstrate the occurrence of infections originating from herons in horses and cattle, they cannot be ruled out, requiring further investigations considering the origin of the pathogens detected in the herons in the present work, as well as the investigation of the origin of the pathogens. In other animals from the same region, seeking to map the spread of agents.

The detection of microorganisms such as *Salmonella* and *E. coli* in ardeids also indicates a significant threat to wild avifauna and biodiversity conservation (HERNANDEZ-DIVERS et al., 2006; NEWNAN et al., 2007). The fact that these are birds with habit of aggregating with several species forming dense nests for reproduction and feeding (SMITH, 1995) facilitates the dissemination of microorganisms in these populations (GROND et al., 2018).

Among the sampled animals, 92.85% were chicks, with only one adult bird. Of these chicks, 38.46% were detected with *Salmonella* spp. and 69.23% with *E. coli*. Studies show that younger birds tend to carry more *Salmonella* than adults (TEYSSIER et al., 2018) and it is likely that this same principle can be applied to other microorganisms, due to the high

prevalence of *E. coli* detected in chicks. Young birds typically undergo multiple changes in their gut microbiota over a short period of time, as a result of replacement and establishment of a more stable microbiota (TEYSSIER et al., 2018; KOHL et al., 2019). One of the effects on the intestinal microbiota of the chicks, responsible for variations in the bacterial communities, is the place where the nests are placed, so that for birds that build their nests close to sanitary landfills, the chicks are affected in the nest already (MARTÍN-MALDONADO et al., 2020). In addition, offspring can be infected via feeding and contact with parental excreta (ANDRÉS et al., 2013, TEYSSIER et al., 2018). Therefore, an important risk factor for the transmission of pathogens and microorganisms resistant to antimicrobials is the environment, as well as agricultural fields or even other animals (GREIG et al., 2015; WANG et al., 2017; TEYSSIER et al., 2018).

Two of the evaluated birds had multifocal hepatic necrosis, but in one of them none of the evaluated microorganisms was detected, while the other bird was positive for both *Salmonella* sp. and *E. coli*. This alteration was not severe enough to cause death, but it may have caused weakness and debility in the birds, facilitating the occurrence of trauma and subsequent death. Liver congestion was a frequent histopathological finding in the evaluated birds (6/14), four of them positive for *Salmonella* spp. Five of the birds with hepatic congestion had also severe injuries from pecking, receiving the diagnosis of trauma, indicating peripheral vasoconstriction due to the extensive injury or the stress caused by pecking. Furthermore, findings such as hepatomegaly, changes in liver color and multifocal necrosis associated with a heterophilic infiltrate seen in evaluated birds have also been reported in laying hens experimentally infected with *Salmonella* sp. (GARCIA et al., 2010).

Most of the diagnoses of the appraised ardeids were associated with traumatic injuries and the occurrence of parasitism. Cattle egret chicks have aggressive and competitive behavior in the nests. The more developed chicks benefit more easily, as they grab the beak of the parents to receive food, thus pecking the head of weaker chicks to expel them from the nest (WEBER, 1975). These pecks cause significant trauma and puncture-blunt injuries, usually fatal (FAVORETTO, 2019), a fact that normally causes many nestlings that have fallen from the nests to be found with injuries due to trauma in ardeid nests. Although this behavior is known in Cattle Egrets, during collections it was observed that it also happens in Great Egrets.

Two birds had blackened intestinal contents and in one of them *E. coli* was detected. Among the birds detected with *E. coli*, mainly phylogroups B1 and B2 were observed, although there was also an animal with detection of phylogroup F and another of phylogroup

A. Unlike our achieves, other reports demonstrate phylogroups A and F as the main phylogroups isolated from birds, that may be related to commensal microbiota (COURA et al., 2015). Phylogroup B1 is related to commensal bacteria of herbivores and strains that cause intestinal infections in other animals, while phylogroup B2 has been related to extraintestinal infections (ESCOBAR-PÁRAMO et al., 2004; CLERMONT et al., 2011). Enteropathogenic *E. coli* has also been isolated from free-living synanthropic birds, including cattle herons (OLIVEIRA et al., 2017).

The number of ardeids diagnosed with *Salmonella* spp. deserves attention, since this microorganism is the main agent of food origin that causes zoonotic disease worldwide, among enteric pathogens (COBURN et al., 2007), whose main reservoir is the gastrointestinal tract of humans, domestic and wild animals (JAY, 2005; CARRASCO et al., 2012). As described in this report, other studies have also shown a high prevalence of *Salmonella* spp. in wild birds, as well as the occurrence of strains with antimicrobial resistance (KERN, 2018; RODRÍGUEZ et al., 2018; MARTIN-MALDONATO et al., 2020; WEI et al., 2020). Cattle egrets carrying *Salmonella* sp. have already been reported on the island of Fernando de Noronha/PE (SILVA et al., 2018) and in Texas (PHALEN et al., 2010). Great egrets have also been reported as reservoirs of *Salmonella* spp. in Sorocaba, Brazil (OLIVEIRA et al., 2017).

Although the occurrence of *Staphylococcus aureus* was not detected in the ardeids in this study, the isolated colonies may belong to other species of the genus. *Staphylococcus* spp. are responsible for several cases of infection by multidrug-resistant microorganisms (SOUSA et al., 2014), and the genus has been reported in Cattle Egrets and other bird species (AWAD-ALLA et al., 2010; YASMEEN et al., 2019), however, information on the prevalence of infection in wild animals is still scarce (PORRERO et al., 2013), which makes it necessary to investigate the occurrence of multidrug-resistant staphylococci in these animals (SOUSA et al., 2014).

## 5. Conclusion

The study of two synanthropic ardeid species living in a nest located on the campus of the Federal University of Lavras showed a high prevalence of *Salmonella* spp. and *E. coli*. The collection of samples by cloacal swabs proved to be efficient for detecting the researched agents and demonstrated a high elimination of pathogens in the excreta of these birds. The results indicate that ardeids may represent important sources of zoonotic pathogens. More

studies are needed to elucidate the importance of ardeids as transmitters of zoonotic pathogens in Brazil.

### **Declaration of conflict of interest**

The authors declare no conflicts of interest.

### **Acknowledgments**

MESTC and DACC would like to thank CAPES for their grants. MSG is grateful to the Research Support Foundation of the State of Minas Gerais and IGG to the National Council for Scientific and Technological Development.

### **6. References**

- [1] J. A. Kushlan, J. A., Hancock, *The Herons (Ardeidae)*. Oxford Academic Press (2005) 433.
- [2] D. Silva, *Considerações taxonômicas em Ardeidae (Aves), com base na osteologia*, Diss. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (2011) 47.
- [3] F. F. Bernardon, *Helminths of waterfowl (Pelecaniformes: Ardeidae) from southern Brazil*, Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas (2013) 84.
- [4] J. P. Smith, *Foraging flights and habitat use of nesting wading birds (Ciconiiformes) at lake Okeechobee, Florida*, *Colonial Waterbirds* 18 (1995) 139-158.
- [5] J. F. M. Scherer, A. L. Scherer, M. V. Petry, E. C. Teixeira, *Estudo da avifauna associada à área úmida situada no Parque Mascarenhas de Moraes, zona urbana de Porto Alegre (RS)*, *Biotemas* 19 (2006) 107-110.
- [6] K. Seedikkoya, P. A. Azeez, E. A. A. Shukkur, *Cattle egret as a biocontrol agent*, *Zoos' Print Journal* 22 (2007) 2864-2866, <https://doi.org/10.11609/JoTT.ZPJ.1731.2864-6> .

- [7] N. V. Gopee, A. A. Adesiyun, K. Caesar, Retrospective and longitudinal study of salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. *Journal of Wildlife Diseases* 36 (2000) 284-293, <https://doi.org/10.7589/0090-3558-36.2.284>.
- [8] S. Della Bella, S. M. D. Azevedo-Junior, Considerações sobre a ocorrência da garça-vaqueira, *Bubulcus ibis* (Linnaeus) (Aves, Ardeidae), em Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 21 (2004) 507-63, <https://doi.org/10.1590/S0101-81752004000100011>.
- [9] F. H. Fontenelle, Ciconiiformes. In Z. S. Cubas, J. C. R. Silva, D. J. L. Catão, *Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária*. Roca, São Paulo 2 (2006) 290-300.
- [10] B. Martín-Maldonado, S. Veja, A. Mencía-Gutiérrez, L. Lorenzo-Rebenaque, C. De Frutos, F. González, L. Ruvuelta, C. Marin, Urban birds: An important source of antimicrobial resistant *Salmonella* strains in Central Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 72 (2020) 101519, <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101519>.
- [11] I. Galván, J. Marchamalo, V. Bakken, J. M. Traverso, The origin of Lesser Black-backed Gulls *Larus fuscus* wintering in central Iberia, *Ringling & Migration* 21 (2003) 209-214, <https://doi.org/10.1080/03078698.2003.9674295>.
- [12] N. I. Gilbert, R. A. Correia, J. P. Silva, C. Pacheco, I. Catry, P. W. Atkinson, J. Gill, A. M. A. Franco, Are white storks addicted to junk food? Impacts of landfill use on the movement and behaviour of resident white storks (*Ciconia ciconia*) from a partially migratory population, *Movement Ecology* 4 (2016) 1-13, <https://doi.org/10.1186/s40462-016-0070-0>.
- [13] A. C. Miranda, Mechanisms of behavioural change in urban animals: the role of microevolution and phenotypic plasticity. In: *Ecology and Conservation of Birds in urban Environments*, Springer, Cham (2017) 113-132.
- [14] J. Elmberg, C. Berg, H. Lerner, J. Waldenström, R. Hessel, Potential disease transmission from wild geese and swans to livestock, poultry and humans: a review of the scientific literature from a One Health perspective, *Infection Ecology & Epidemiology* 7 (2017), 1300450, <https://doi.org/10.1080/20008686.2017.1300450>.
- [15] Hubálek, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *Journal of Wildlife Diseases* 40 (2004) 639-659, <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.4.639>.

- [16] J. Stenkat, M. E. Krautwald-Junghanns, A. Schmitz Ornés, A. Eilers, V. Schmidt, Aerobic cloacal and pharyngeal bacterial flora in six species of free-living birds. *Journal of Applied Microbiology* 117 (2014) 1564-1571, <https://doi.org/10.1111/jam.12636>.
- [17] P. A. Dias, T. P. Moraes, D. E. Wilsmann, M. M. Ferrasso, M. F. Marinheiro, J. G. Heinen, C. I. P. Calabuig, C. D. Timm, Ocorrência de *Campylobacter* e *Enterobacteriaceae* em aves silvestres e frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet.* 71 (2019) 225-231, <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10289>.
- [18] D. Cole, D. J. V. Drum, S. E. Stalknecht, D. G. White, M. D. Lee, S. Ayers M. Sobsey, J. Maurert, Free-living Canada geese and antimicrobial resistance. *Emerging Infectious Diseases* 11 (2005) 935-938.
- [19] C. M. H. Benskin, K. Wilson, K. Jones, I. R. Hartley, Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. *Biological Reviews* 84 (2009) 349-373, <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00076.x>.
- [20] G. Hasle, Transport of ixodid ticks and tick-borne pathogens by migratory birds. *Front Cell Infect Microbiol.* 3 (2013) 48, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00048>.
- [21] C. Lugarini, T. F. Martins, M. Ogrzewalska, N. C. Vasconcelos, V. A. Ellis, J. B. Oliveira, A. Pinter, M. B. Labruna, J. C. Silva, Rickettsial agents in avian ixodid ticks in northeast Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases* 6 (2015) 364-375, 2015, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.02.011>.
- [22] P. M. Yorio, M. Giaccardi, Urban and fishery waste tips as food sources for birds in northern coastal Patagonia, Argentina. *Ornithol. Neotrop.* 13 (2002)283-292.
- [23] J. Millán, G. Aduriz, B. Moreno, R. A. Juste, M. Barral, M. Salmonella isolates from wild birds and mammals in the Basque Country (Spain), *Rev. Sci. Tech. Oie.* 23 (2004) 905-912. <https://doi.org/10.20506/rst.23.3.1529>.
- [24] M. A. Silva, M. F. Marvulo, R. A. Mota, J. C. Silva, A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. *Pesq. Vet. Bras.* 30 (2010) 573-580, <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000700011>.



- [25] T. W. Pennycott, A. Park, A., H. A. Mather, Isolation of different serovars of *Salmonella enterica* from wild birds in Great Britain between 1995 and 2003. *Vet. Rec.* 158 (2006) 817-820, <https://doi.org/10.1136/vr.158.24.817>.
- [26] S. H. Newman, A. Chmura, K. Converse, A. M. Kilpatrick, N. Patel, E. Lammers, P. Daszak, P. Aquatic bird disease and mortality as an indicator of changing ecosystem health, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 352 (2007) 299-309, <https://doi.org/10.3354/meps07076>.
- [27] I. Elsohaby, A. Samy, A. Elmoslemany, M. Alorabi, M. Alkafafy, A. Aldoweriej, T. Al-Marri, A. Elbehiry, M. Fayez, Migratory wild birds as a potential disseminator of antimicrobial-resistant bacteria around Al-Asfar Lake, Eastern Saudi Arabia, *J. Antibiot.* 10 (2021) 260, <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030260>.
- [28] M. Sjölund, J. Bonnedahl, J. Hernandez, S. Bengtsson, G. Cederbrant, J. Pinhassi, G. Kahlmeter, B. Olsen, Dissemination of multidrug-resistant bacteria into the Arctic, *Emerg. Infect. Dis.* 14 (2008) 70, <https://doi.org/10.3201/eid1401.070704>.
- [29] K. D. Reed, J. K. Meece, J. S. Henke, S. K. Shukla, Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, influenza A and enteropathogens, *Clin. Med. Res.* 1 (2003) 5-12.
- [30] P. I. Plaza, G. Blanco, M. J. Madariaga, E. Boeri, M. L. Teijeiro, G. Bianco, S. A. Lambertucci, Scavenger birds exploiting rubbish dumps: Pathogens at the gates. *Transbound Emerg. Dis.* 66 (2018) 873-881, <https://doi.org/10.1111/tbed.13097>.
- [31] W. G. A. Bezerra, R. V. Horn, I. N. G. Silva, R. A. S. Siqueira, R. B. Lucena, A. Havt, A., P. H. Q. S. Medeiros, W. C. Maciel, *Escherichia coli* and *Salmonella* ser. Saintpaul natural co-infection in a free-living ruddy ground dove (*Columbina talpacoti*): a case report. *Arq. Bras. Med. Vet.* 69 (2017) 1236-1242, <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9454>.
- [32] R. V., Horn, W. G. Bezerra, E. S. Lopes, R. S. Teixeira, I. N. Silva, M. D. Bona, A. Havt, W. M. Cardoso, Antimicrobial susceptibility and diarrheagenic diagnosis of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from feral pigeons (*Columba livia*) captured in Fortaleza, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 38 (2018) 2150-2154, <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5633>.
- [33] M. C. Brittingham, S. A. Temple, R. M. A. Duncan, A survey of the prevalence of selected bacteria in wild birds. *J. Wildlife Dis.*, 24 (1988) 299-307, <https://doi.org/10.7589/0090-3558-24.2.299>.

- [34] S. Tsiodras, T. Kelesidis, I. Kelesidis, U. Bauchinger, M. E. Falagas, Human infections associated with wild birds. *Int. J. Infect.* 56 (2008) 83-98, <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2007.11.001>.
- [35] B. Coburn, G. A. Grassl, B. B. Finlay, Salmonella, the host and disease: a brief review. *Immunol. Cell Biol.*, 85 (2007) 112-118, <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100007>.
- [36] E. C. Majowicz, J. Musto, E. Scallan, F. J. Angulo, M. Kirk, S.J. O'Brien, T.F. Jones, A. Fazil, R.M Hoekstra, The global burden of non-typhoidal *Salmonella* gastroenteritis, *J. Food Saf.*, 50 (2010) 882- 889, <https://doi.org/10.1086/650733>.
- [37] F. A. Uzal., B. L. Plattner, J. M. Hostetter, Alimentary System. In M. Maxie Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals, 6 (2016) 167-177.
- [38] P. J. Quinn, B. K. Markey, F. C. Leonard, E. S. Fitzpatrick, Enterobacteriaceae family. In P. J. Quinn, B. K. Markey, F. C. Leonard, E. S. Fitzpatrick, *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Wiley-Blackwell, 2 (2011) 55-127.
- [39] P. L. Nyanga, J. Onyuka, M. K. Webale, T. Were, V. Budambula, *Escherichia coli* pathotypes and Shigella sero-groups in diarrheic children in Nairobi city, Kenya. *Gastroenterol. Hepatol. Bed. Ben.*, 10 (2017) 220.
- [40] H. C. Lamaita, M. M. O. P. Cerqueira, L. S. Carmo, D. A. Santos, C. F. A. M. Penna, M. R. Souza, Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. *Arq. Bras. Med. Vet.* 57 (2005) 702-709, <https://doi.org/10.1590/S0102-09352005000500017>.
- [41] H. Grundmann, M. Aires-de-Sousa, J. Boyce, E. Tiemersma, Emergence and resurgence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *The Lancet*, 368 (2006)874-885, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68853-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68853-3).
- [42] S. M. Favoretto, Aspectos morfológicos, ultrassonográficos e radiográficos ósseos e oculares de ninhegos de garças vaqueiras (*Bubulcus ibis*). Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal de Lavras, Lavras, (2019) 127.
- [43] K. A. Mooijman, The new ISO 6579-1: A real horizontal standard for detection of Salmonella, at last! *Food Microbiology*, 71 (2017) 2-7, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.03.001>.

- [44] J. F. Maciel, L. T. Gressler, B. P. Silveira, E. Dotto, C. Balzan, L. B. Matter, F. M. Siqueira, A. P. C. de Vargas, Caution at choosing a particular colony-forming unit from faecal *Escherichia coli*: it may not represent the sample profile. *Appl. Microbiol.*, 70 (2020) 130-136, <https://doi.org/10.1111/lam.13252>.
- [45] D. G. Pitcher, N. A. Saunders, R. J. Owen, Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate, *Appl. Microbiol.* 8 (1989) 151-156, <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1989.tb00262.x>.
- [46] J. Kwang, E. T. Littledike, J. E. Keen, Use of the polymerase chain reaction for Salmonella detection., *Appl. Microbiol.* 22 (1996) 46-51, <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1996.tb01106.x>.
- [47] A. E. McDaniels, E. W. Rice, A. L. Reyes, C. H. Johnson, R. A. Haugland, G. N. Stelma Jr, Confirmational identification of *Escherichia coli*, a comparison of genotypic and phenotypic assays for glutamate decarboxylase and beta-D-glucuronidase. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (1996) 3350-3354, <https://doi.org/10.1128/aem.62.9.3350-3354.1996>.
- [48] O. Clermont, J. K. Christenson, E. Denamur, D. M. Gordon, The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ. Microbiol. Rep.* 5 (2012) 58-65, <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>.
- [49] F. M. Coura, S. de Araújo Diniz, J. M S. Mussi, M. X. Silva, A. P. Lage, M. B. Heinemann, M. B. Characterization of virulence factors and phylogenetic group determination of *Escherichia coli* isolated from diarrheic and non-diarrheic calves from Brazil. *Folia microbiol.* 62 (2017) 139-144, <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0480-9>.
- [50] P. Cremonesi, M. Luzzana, M. Brasca, S. Morandi, R. Lodi, C. Vimercati, D. Agnellini, G. Caramenti, P. Moroni, B. Castiglioni, Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products, *Mol. Cell. Probes* 19 (2005) 299-305, <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.03.002>.
- [51] V. K. Pérez, D. A. Custódio, E. M. Silva, J. de Oliveira, A. S. Guimarães, M. A. Brito, A. F. Souza-Filho, M. B. Heinemann, A. P. Lage, E. M. S. Dorneles, Virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil, *Braz. J. Microbiol.* 51 (2020) 2111-2122, <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00363-5>.

- [52] A. Gargiulo, T. P. Russo, R. Schettini, K. Mallardo, M. Calabria, L. F. Menna, P. Raia, U. Pagnini, V. Caputo, A. Fioretti, L. Dipineto, Occurrence of enteropathogenic bacteria in urban pigeons (*Columba livia*) in Italy, *Vector Borne Zoonotic Dis.* 14 (2014) 251–255, <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0943>.
- [53] R. Haesendonck, G. Rasschaert, A. Martel, E. Verbrugghe, M. Heyndrickx, F. Haesebrouck, F. Pasmans, Feral pigeons: A reservoir of zoonotic *Salmonella* Enteritidis strains?, *Vet. Microbiol.* 195 (2016) 101-103, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.09.017>.
- [54] S. Troxler, C. Hess, C. Konicek, Z. Knotek, P. Barták, M. Hess, Microdilution testing reveals considerable and diverse antimicrobial resistance of *Escherichia coli*, thermophilic *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. isolated from wild birds present in urban areas, *Eur. J. Wildl. Res.* 63 (2017) 68, <https://doi.org/10.1007/s10344-017-1125-2>.
- [55] M.C. De Oliveira, B.Q. Camargo, M.P. Cunha, A.B. Saidenberg, R.H. Teixeira, C.E. Matajira, L.Z. Moreno, V.T. Gomes, A.P. Christ, M.R. Barbosa, M.I. Sato, A.M. Moreno, T. Knöbl, Free-ranging synanthropic birds (*Ardea alba* and *Columba livia domestica*) as carriers of *Salmonella* spp. and Diarrheagenic *Escherichia coli* in the vicinity of an urban zoo, *Vector Borne Zoonotic Dis.* 18 (2018) 65–69, <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2174>.
- [56] C. Sacristán, F. Esperón, S. Herrera-León, I. Iglesias, E. Neves, V. Nogal, M. J. Muñoz, A. de la Torre, Virulence genes, antibiotic resistance and integrons in *Escherichia coli* strains isolated from synanthropic birds from Spain. *Avian Pathol.* 43 (2014) 172-175, <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.897683>.
- [57] D. N. Phalen, M. L. Drew, B. Simpson, K. Roset, K. Dubose, M. Mora, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in cattle egret (*Bubulcus ibis*) chicks from central Texas: prevalence, serotypes, pathogenicity, and epizootic potential, *J. Wild. Dis.* 46 (2010) 379-389, <http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-46.2.379>.
- [58] E. Sousa, K. Werther, A. Berchieri Junior, Assessment of Newcastle and infectious bronchitis pathogens, and *Salmonella* spp. in wild birds captured near poultry facilities. *Arq. Bras. Med. Vet.* 62 (2010) 219- 223, <https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000100031>.
- [59] S. M. Hernandez-Divers, P. Villegas, F. Prieto, J. C. Unda, N. Stedman, B. Ritchie, R. Carroll, S. J. Hernandez-Divers, A survey of selected avian pathogens of backyard poultry in northwestern Ecuador, *J. Avian Med. Surg.* 20 (2006) 147-158, <https://doi.org/10.1647/2005-015R.1>.

- [60] K. Grond, B. K. Sandercock, A. Jumpponen, L. H. Zeglin, The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds. *J. Avian Biol.* 49 (2018) e01788, <https://doi.org/10.1111/jav.01788>.
- [61] A. Teyssier, L. Lens, E. Matthysen, J. White, Dynamics of gut microbiota diversity during the early development of an avian host: evidence from a cross-foster experiment, *Front. Microbiol.* 9 (2018) 1524, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01524>.
- [64] K.D. Kohl, A. Brun, E. Caviedes-Vidal, W.H. Karasov, Age-related changes in the gut microbiota of wild House Sparrow nestlings, *IBIS* 161 (2019) 184–191, <https://doi.org/10.1111/ibi.12618>.
- [62] S. Andrés, J.P. Vico, V. Garrido, M.J. Grilló, S. Samper, P. Gavín, S. Herrera-León, R.C. Mainar-Jaime, Epidemiology of subclinical salmonellosis in wild birds from an area of high prevalence of pig salmonellosis: phenotypic and genetic profiles of *Salmonella* isolates, *Zoonoses Public. Health* 60 (2013) 355–365, <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01542.x>.
- [63] J. Greig, A. Rajić, I. Young, M. Mascarenhas, L. Waddell, J. Lejeune, A scoping review of the role of wildlife in the transmission of bacterial pathogens and antimicrobial resistance to the food chain, *Zoonoses Public. Health* 62 (2015) 269–284, <https://doi.org/10.1111/zph.12147>.
- [64] J. Wang, Z.B. Ma, Z.L. Zeng, X.W. Yang, Y. Huang, J.H. Liu, The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes, *Zool. Res.* 38 (2017) 55–80, <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2017.003>.
- [65] K. O. Garcia, A. M. Santana, O. C. Freitas Neto, K. M. M. G. Simplício, A. C. Alessi, A. Berchieri Júnior, J. J. Fagliari, Experimental infection of commercial layers using a *Salmonella enterica* sorovar Gallinarum strain: blood serum components and histopathological changes. *Braz. J. Vet. Pathol.* 3 (2010) 111-117.
- [66] W. J. Weber, Notes on cattle egret breeding, *The Auk* 92 (1975) 111-117.
- [67] F. M. Coura, S. Araújo Diniz, M. X. Silva, J. M. S. Mussi, S. Barbosa, A. P. Lage, M. B. Heinemann, Phylogenetic group determination of *Escherichia coli* isolated from animals samples, *Sci. World J.* 2015 (2015), <https://doi.org/10.1155/2015/258424>.

- [67] P. Escobar-Páramo, O. Clermont, A. B. Blanc-Potard, H. Bui, C. Le Bouguéneq, E. Denamur, A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol. Biol. Evol.* 21 (2004) 1085-1094, <https://doi.org/10.1093/molbev/msh118>.
- [68] O. Clermont, M. Olier, C. Hoede, L. Diancourt, S. Brisse, M. Keroudean, J. Glodt, B. Picard, E. Oswald, E. Denamur, Animal and human pathogenic *Escherichia coli* strains share common genetic backgrounds. *Infect. Genet. Evol.* 11 (2011) 654-662, <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.02.005>.
- [69] M. J. Jay, *Microbiologia de Alimentos*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, (2005) 66, 771.
- [70] E. Carrasco, A. Morales-Rueda, R. M. García-Gimeno, Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review, *Food Res. Int.* 45 (2012) 545-556, <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100007>.
- [71] W. V. Kern, Multiresistant bacteria-antibiotic prescription and antibiotics of last resort. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 143 (2018) 643-650, <https://doi.org/10.1055/s-0043-119958>.
- [72] F. I. Rodríguez, J. M. Osinalde, S. C. Gómez, D. G. Pulido, M. I. Caffer, F. Nicolau, D. J. Bueno, Prevalence, antimicrobial resistance profile and comparison of selective plating media for the isolation of *Salmonella* spp. in free-ranging waterfowl from Entre Rios, Argentina, *Poult. Sci.* 97 (2018) 3043-3049, <https://doi.org/10.1111/zph.12415>.
- [73] B. Wei, K. Shang, S. Y. Cha, J. F. Zhang, M. Kang, H. K. Jang, Prevalence and potential risk of *Salmonella enterica* in migratory birds from South Korea. *Veterinary Microbiology*, 249 (2020) 108829, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108829>.
- [74] M. A. Silva, É. F. Fernandes, S. C. Santana, M. F. V. Marvulo, M. R. Barros, S. M. Vilela, R. M. F. Reis, R. A. Mota, J. C. Silva, Isolation of *Salmonella* spp. in cattle egrets (*Bubulcus ibis*) from Fernando de Noronha Archipelago, Brazil, *Braz. J. Microbiol.* 49 (2018) 559-563, <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.01.004>.
- [75] M. Sousa, N. Silva, G. Igrejas, F. Silva, R. Sargo, N. Alegria, D. Bonito, P. Gómez, C. Lozano, E. Gómez-Sanz, C. Torres, M. Caniça, P. Poeta, Antimicrobial resistance determinants in *Staphylococcus* spp. recovered from birds of prey in Portugal, *Vet. Microbiol.*, 171 (2014) 436-440, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.034>.

- [76] M. E. Awad-Alla, H. M. Abdien, A. A. Dessouki, Prevalence of bacteria and parasites in White Ibis in Egypt. *Vet Ital*, 46 (2010) 277-86.
- [77] R. Yasmeen, H. A. Muhammad, B. N. K. B. N. Khan, S. S. Bokhari, U. Rafi, A. Qurashi, A. Microbial Diversity in Gut of Cattle Egrets (*Bubulcus Ibis*) On Exposure to Different Environment. Lahore Garrison University, *J. Life Sci.* 3 (2019) 23-30, <https://doi.org/10.54692/lgujls.2019.030152>.
- [78] M. C. Porrero, G. Mentaberre, S. Sanchez, P. Fernandez-Llario, S. Gómez-Berro, N. Navarro-Gonzalez, E. Serrano, I. Casas-Díaz, I. Marco, J. F. Fernández-Gorayzabal, A. Mateos, D. Vidal, S. Lavín, L. Domínguez, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage in different free-living wild animal species in Spain. *Vet. J.*, 198 (2013) 127-130, 2013, <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.06.004>.