

YAMÊ MINIERO DAVIES

**Avaliação do efeito da lisozima sobre bactérias Gram-negativas
isoladas de psitacídeos mantidos em cativeiro**

São Paulo

2022

YAMÊ MINIERO DAVIES

**Avaliação do efeito da lisozima sobre bactérias Gram-negativas
isoladas de psitacídeos mantidos em cativeiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Terezinha Knöbl

São Paulo

2022

RESUMO

DAVIES, Y. M. **Avaliação do efeito da lisozima sobre bactérias Gram-negativas isoladas de psitacídeos mantidos em cativeiro**. 2022. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Os psitacídeos estão entre as espécies de aves mais apreendidas e encaminhadas aos centros de triagem animal em São Paulo, e são comumente criados como aves de estimação. A manutenção destas aves em cativeiro favorece a colonização por bactérias Gram-negativas, principalmente enterobactérias. Considerando a emergência de estirpes virulentas multirresistentes, as infecções por bactérias Gram-negativas se tornaram uma ameaça à saúde pública. Dessa forma, a busca por produtos naturais que auxiliam no tratamento e redução da carga bacteriana patogênica, se torna cada vez mais necessária. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* e *in vivo* da lisozima sobre estirpes de bactérias Gram-negativas isoladas de psitacídeos mantidos em cativeiro. A atividade *in vitro* da lisozima foi avaliada pelo teste de microdiluição em caldo, com a determinação da concentração inibitória mínima (MIC). Um total de 40 psitacídeos mantidos em cativeiro e naturalmente infectados por bactérias Gram-negativas foi dividido em três grupos: não tratados, tratados com doses de 1000 ppm e 2000 ppm durante 21 dias. As estirpes Gram-negativas foram identificadas pelo método de MALDI-TOF, e submetidas à caracterização fenotípica dos determinantes de resistência. Os isolados de *E. coli* foram caracterizados em relação aos grupos filogenéticos e perfil de virulência. Os resultados do MIC da lisozima relevam que valores <500 ppm foram capazes de eliminar 83,3% dos isolados *in vitro*. As enterobactérias representaram 82% das estirpes isoladas com predominância de *E. coli* e *Enterobacter* spp. Com a administração da lisozima por gavagem foi possível inibir 98,5% dos isolados de psitacídeos, inclusive as estirpes multirresistentes e os patotipos de EPEC e APEC do filogruppo B2. A lisozima apresenta potencial como uso terapêutico e preventivo e poderá contribuir para substituição do uso de antibióticos em aves mantidas em cativeiro, principalmente em processos de reabilitação e soltura.

Palavras-chave: Enterobactérias. Aves. Enzimas. *Escherichia coli*. Resistência múltipla a antibióticos.

ABSTRACT

DAVIES, Y. M. **Evaluation of the effect of lysozyme on Gram-negative bacteria isolated from parrots kept in captivity.** 2022. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Parrots are among the most seized bird species and sent to animal wildlife centers in São Paulo and are commonly raised as pet birds. Keeping these birds in captivity favors colonization by Gram-negative bacteria, mainly enterobacteria. Considering the emergence of virulent multidrug-resistant strains, infections by Gram-negative bacteria have become a threat to public health. Because of that, the search for natural products that help in the treatment and reduction of the pathogenic bacterial load becomes increasingly necessary. This work aimed to evaluate the *in vitro* and *in vivo* effect of lysozyme on strains of Gram-negative bacteria isolated from parrots kept in captivity. The *in vitro* activity of lysozyme was evaluated by the broth microdilution test, with the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC). A total of 40 parrots kept in captivity and naturally infected by Gram-negative bacteria were divided into three groups: untreated, treated with doses of 1000 ppm and 2000 ppm for 21 days. Gram-negative strains were identified by the MALDI-TOF method and submitted to phenotypic characterization of resistance determinants. *E. coli* isolates were characterized in relation to phylogenetic groups and virulence profile. Lysozyme MIC results show that values <500 ppm were able to eliminate 83.3% of the *in vitro* isolates. Enterobacteriaceae represented 82% of the isolated strains with a predominance of *E. coli* and *Enterobacter* spp. With the administration of lysozyme by gavage, it was possible to inhibit 98.5% of the parrot isolates, including the multidrug-resistant strains and the EPEC and APEC pathotypes of phylogroup B2. Lysozyme has potential as a therapeutic and preventive use and may contribute to replacing the use of antibiotics in birds kept in captivity, especially in rehabilitation and release processes.

Keywords: Enterobacteria. Birds. Enzymes. *Escherichia coli*. Multiple antibiotic resistance.