



## **Avaliação antimicrobiana de microrganismos patogênicos encontrados na carapaça de tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) criadas em cativeiro**

Thaís Souza Farias, Marcela dos Santos Magalhães, Adriana Dantas Gonzaga de Freitas

### **Resumo**

A criação de quelônios em cativeiro pode provocar ou originar patologias devido a diversos fatores que comprometem a sanidade dos animais cativos. Portanto, este estudo objetivou: isolar, purificar, identificar e conservar os microrganismos presentes na carapaça de tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) criadas em cativeiro e verificar possíveis atividades antagonistas dos microrganismos, realizando testes de susceptibilidade aos antimicrobianos. A coleta dos microrganismos foi realizada no Centro de Estudos de Quelônios da Amazônia no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e, em seguida, foram encaminhados para o Laboratório de Pesquisa em Microbiologia – ICB/01 na Universidade Federal do Amazonas, no qual foram inoculados em meio de cultura BDA, sendo estes, 83 fungos e 65 bactérias isolados. Os testes de susceptibilidade aos antimicrobianos e antifúngicos foram realizados por meio da técnica de disco de difusão, com 24 bactérias e 24 fungos que foram escolhidos devido a sua frequência durante o isolamento. Para os testes bacterianos foram utilizados seis antimicrobianos, sendo a Tetraciclina a que mais inibiu o crescimento das bactérias. Os testes com fungos foram realizados através de atividade antagonista diante de três antifúngicos, sendo a Rifocina a que mais inibiu o crescimento dos fungos. Além disso, foi realizada a identificação micro morfológica dos microrganismos (coloração de Gram e micro cultivos) e a macro morfologia (análise feita a olho nu, observando as características de cada colônia).

**Palavras-Chave:** atividade antagonista, antimicrobianos, fungos, bactérias.

Antimicrobial evaluation of microorganisms found in the carapace of amazon turtles (*Podocnemis expansa*) bred in captivity. The breeding of quelonians in captivity can cause or originate pathogenesis due to several factors that compromise the health of captive animals. Therefore, this study aimed: isolate, purify and conserve microorganisms present in the carapace of Amazon Turtle (*Podocnemis expansa*) bred in captivity and verify possible antagonistic activities of microorganisms by performing antimicrobial susceptibility tests. The sample was carried at the Amazonian Chelonian Studies Center at the National Institute of Amazonian Research and then were sent to the Microbiology Research Laboratory at the Federal University of Amazonas, in which they were inoculated in BDA culture medium, 83 fungi and 65 bacteria isolated. The susceptibility tests to antimicrobials and antifungals were performed using the diffusion disc technique, with 24 bacteria and 24 fungi that were chosen due to their frequency during isolation. For bacterial tests, six antimicrobials were used, with Tetracycline being the one that most inhibited the growth of bacteria. The tests with fungi were performed through antagonistic activity in front of three antifungals, with Rifocine being the one that most inhibited the growth of fungi. In addition, micro-morphological identification of microorganisms (Gram stain and



microcultures) and a macro-morphology (analysis done with the naked eye, observing the characteristics of each colony) were performed.

**Keywords:** antagonistic activities, antimicrobials, fungus, bacteria.

## 1. INTRODUÇÃO

Os quelônios amazônicos foram e continuam sendo um importante recurso alimentar e econômico para as populações indígenas em toda Amazônia. Eles têm sido caçados, pescados e seus ovos colhidos há muitas gerações (FACHÍN-TERÁN et al., 1996; VOGT, 2001). No entanto, este hábito associado a um intenso comércio ilegal e a predação natural e humana, levou à drástica diminuição de suas populações naturais (VOGT, 2001). Com o intuito de frear a caça predatória e o comércio ilegal, ocorreu o incentivo aos criadouros legalizados de tartarugas (BRASIL, 2001).

Muitas espécies de quelônios também são criadas em cativeiro para exposição em zoológico e centros de visitação. Porém a falta de higiene nos terrários e aquários e a desnutrição promovem queda da resistência orgânica em quelônios cativos, principalmente em animais jovens, propiciando o aparecimento de infecções bacterianas e fúngicas (MELO et al., 2003). A renovação da água em tanques de criação ou berçários, periodicamente, consiste em uma medida profilática para evitar o acúmulo de sujeira e a proliferação de microrganismo que possam adquirir caráter patogênico (ANDRADE, 2008).

Patologias de pele são comuns em répteis, especialmente quando mantidos em ambiente cativo. Essas dermatopatias podem ter origem infecciosa (fúngica, bacteriana, viral e parasitária) ou física (COOPER, 2006). As doenças infecciosas em animais em cativeiro são causadas geralmente por imunossupressão, que muitas vezes estão associadas ao estresse do cativeiro e acomodações inadequadas (GREGO,

2001). No qual as doenças mais comuns em répteis são causadas por bactérias piogranulomas, pneumonias, dermatites, estomatites e abscessos, sendo as bactérias Gram-negativas, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* as mais relatadas (FRYE, 1991). Em tartarugas jovens criadas em cativeiro foram identificadas infecções bacterianas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp. e *Salmonella* sp. (ANDRADE, 2008). Em *Graptemys* spp. pequenos conglomerados filamentosos unicelulares e multicelulares fúngicos foram observados em lesões de casco (HERNANDEZ-DIVERS et al., 2009). Em outros estudos, foram identificados fungos *Geotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Scolecobasidium* sp., *Fusarium* sp., *Drechslera* sp., e outros fungos não identificados foram cultivados em lesões superficiais de quelônios (WILES & RAND, 1987; SISON et al., 1990). Em *Podocnemis expansa* de criadouro foi identificado na carapaça a presença do fungo *Aspergillus niger* (ANDRADE, 2008).

A interação entre o ser humano e o meio ambiente exige maiores informações e conhecimento, particularmente no que diz respeito aos diferentes ecossistemas e biodiversidade. Quando a relação humana com a natureza não é conduzida de forma adequada, pode promover alterações ecológicas com consequências desastrosas para o meio ambiente, os seres humanos e a biodiversidade (CORREA & PASSOS, 2001).

Portanto, faz-se necessário a pesquisa de microrganismos patogênicos presentes em quelônios, pois os microrganismos são os representantes mais ricos em diversidade química e



## Ciências Biológicas

molecular na natureza. Considerando a escassa literatura acerca do assunto, fica evidente a importância do conhecimento da microbiota dos quelônios para auxiliar na preservação da saúde humana e animal.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivos isolar, purificar, identificar e, conservar os microrganismos patogênicos presentes na carapaça de tartaruga-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) e verificar possíveis atividades antagonistas dos microrganismos realizando testes de susceptibilidade aos antimicrobianos.

## 2. MATERIAL E MÉTODO

### 2.1. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

A coleta foi realizada no Centro de Estudos dos Quelônios da Amazônia – CEQUA, localizado nas dependências do Bosque da Ciência em frente ao lago Amazônico no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

Dez filhotes de *P. expansa* que apresentaram infecção aparente (presença de descamação da pele, regiões esbranquiçadas dos cascos que demonstravam alteração na carapaça e feridas) foram retirados do aquário e colocados em uma bacia de plástico, limpa com álcool 70% e hipoclorito de sódio. Com o auxílio do Swab foram retiradas amostras da carapaça dos filhotes, e armazenadas em tubos de ensaio hermeticamente fechados e autoclavados. Todos os materiais coletados foram encaminhados para o Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da Universidade Federal do Amazonas, localizado no Instituto de Ciências Biológicas - ICB, prédio 01, Departamento de Morfologia, para a realização dos experimentos.

Os microrganismos foram isolados utilizando estrias com o Swab em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA

(Batata Dextrose Ágar). As culturas foram transferidas para estufa do tipo B.O.D (Biological Oxygen Demand) a 26°C. Após 7 dias, foi realizado o isolamento, transferindo-se fragmentos de ágar contendo hifas, para novas placas contendo meio de cultura BDA.

Para a identificação morfológicas dos microrganismos foram realizados micro cultivos para observar as estruturas vegetativas (hifas) e observações a olho nu para observar as características macroscópicas da colônia (crescimento, coloração, textura e pigmento difuso) com os fungos. Para as bactérias foi utilizada a técnica de purificação por semeadura de esgotamento com estrias cruzadas e submetidas à coloração de Gram para observação da morfologia.

### 2.2. PURIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

Foi realizada cultura de colônias monospóricas com os fungos, a fim de se obter uma nova colônia a partir de um único conídio. Para tal, foi utilizada a técnica de diluição seriada seguida de plaqueamento de acordo com o protocolo de AZEVEDO & COSTA (1973). Após as diluições, 50 µL das suspensões 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup> foram plaqueadas em triplicata em meio BDA e, após dois dias, foi selecionada uma colônia oriunda de um único conídio. As placas contendo a cultura pura, foram armazenadas em estufa B.O.D a 26°C até o crescimento e esporulação da colônia para posterior conservação. Os fungos purificados foram conservados por meio do método CASTELLANI (1939).

As bactérias foram purificadas pela metodologia de esgotamento com estrias crescidas em 1mL de caldo nutriente por 24h e depois, acrescido 150µL de glicerol. Após esta etapa, as bactérias foram conservadas a -20°C.



### **2.3. MÉTODOS DE TSA – TESTE DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS**

#### **2.3.1 DISCO-DIFUSÃO**

Os testes de disco-difusão foram realizados baseados na padronização estabelecida pelo CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute pela ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dessa forma, realizamos as etapas propostas pelas normas de padronização, porém, utilizamos meio de cultura B.D.A (Batata Dextrose Ágar).

Para a ativação das bactérias foi utilizada uma solução padrão de McFarland 0,5. Já o inóculo nas placas com meios de cultura B.D.A foi feito com swab de algodão esterilizados. Para a aplicação dos discos de fusão, utilizamos discos de papel-filtro, impregnados com 10 µL de antimicrobianos.

Foram realizados 24 testes (7 placas para cada bactéria), para cada bactéria utilizando seis antimicrobianos (Tetraciclina, Cefalexina, Amoxicilina + água deionizada, Ampicilina, Sulfametoxazol + Trimetoprima, Sulfato de Neomicina + Bacitracina Zíncica) e o DMSO (controle), todos aplicados a 10 µL. Foi estabelecido o seguinte padrão:

As placas 1, 2 e 3 receberam o DMSO (representado pela letra D) e os antimicrobianos Tetraciclina (AA1), Cefalexina (AA2) e Amoxicilina + água deionizada (AA3). As placas 4, 5 e 6 receberam o DMSO (D) e os antimicrobianos Ampicilina (AN1), Sulfametoxazol + Trimetoprima (AN2) e Sulfato de Neomicina + Bacitracina Zíncica (AN3). A placa 7 recebeu apenas o inóculo da bactéria. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Após o inóculo e etiquetagem das bactérias, foram adicionados o papel-filtro e o DMSO. Em seguida, os seis antimicrobianos foram adicionados em suas respectivas placas.

As placas foram incubadas por 24 horas a 35°C. Os diâmetros dos halos de inibição de crescimento ao redor de cada disco foram mensurados em milímetros e relacionados à sensibilidade da amostra bacteriana e a velocidade de difusão do antimicrobiano no ágar.

### **2.4. ATIVIDADE ANTAGONISTA ENTRE FUNGO X ANTIFÚNGICO**

Para os testes com os fungos foram utilizados os antifúngicos Fluconazol, Rifocina e Cetoconazol, foram utilizados 24 fungos. Para a realização destes testes foram utilizadas placas com meio de cultura B.D.A., sendo 5 placas para cada fungo juntamente com o antifúngico, com o seguinte padrão: 3 placas com o fungo e o antifúngico e as outras duas como testemunha, uma do fungo e a outra do antifúngico.

Para o inóculo do fungo, foram retirados pequenos fragmentos da placa original do fungo e colocados nas placas de testes. Os antimicrobianos foram aplicados a 10 µL no papel filtro de 6 mm. O fungo e o antifúngico foram colocados a 5 mm de distância da borda da placa de Petri. Após isso, as placas foram vedadas com papel filme e levadas a estufa do tipo B.O.D.

A avaliação dos resultados foi realizada durante 10 dias devido ao crescimento lento dos fungos. A partir do 3º dia, foi possível observar o crescimento de colônias, mas apenas a partir do 5º dia foi possível visualizar se houve ou não inibição do crescimento. Essa observação se procedeu até 10º dia após o inóculo.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1. ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS**

Foram purificados um total de 148 microrganismos retirados de carapaça de *P. expansa*, sendo 83 fungos e 65 bactérias. Para a realização dos testes foram escolhidos 24 fungos e 24

## Ciências Biológicas

bactérias que se mostraram com mais frequência, durante os repiques e isolamentos.

### 3.2. IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

#### 3.2.1. BACTÉRIAS

Para a identificação morfológica das bactérias realizamos o processo de Coloração de Gram com 24 bactérias. Foram encontrados dois tipos morfológicos, os bacilos e os cocos. A tabela 1 apresenta os resultados observados nas lâminas.

Tabela 1 – Resultados da observação das bactérias submetidas à coloração de Gram.

Coloração de Gram	Forma	Total
Positivo	Bacilos	15
Negativo	Bacilos	2
Positivo	Cocos	6
Negativo	Cocos	1

A maioria das lâminas analisadas apresentaram bactérias Gram-positivas, e a forma mais abundante foram os bacilos. Em um estudo realizado para comparar diferentes protocolos terapêuticos na cicatrização na carapaça de tigras-d'água (*Trachemys* sp.), também foram encontradas bactérias Gram-positivas (SOUZA, 2006). Segundo ROSENTHAL & MADER (1996) a superfície dos répteis geralmente alberga bactérias gram-positivas. Essas bactérias normalmente não são patogênicas, exceto em situações especiais, como baixas condições sanitárias, temperatura inadequada ou imuno comprometimento dos animais.

Observando a tabela 1, nota-se que o tipo de bactéria menos abundante foram os Gram-negativos, porém conforme MARCUS (1981) apud SOUZA (2006) os bacilos Gram-negativos representam o grupo de patógenos de maior relevância na medicina de répteis, causando os mais elevados coeficientes

de morbidade e mortalidade. Estão envolvidos em processos infecciosos cutâneos, pulmonares, orais, gastrointestinais e generalizados, e pode-se ainda vislumbrar a ocorrência de abscessos. A maioria dos patógenos bacterianos de répteis são bactérias gram-negativas (ROSENTHAL & MADER, 1996).

O método de Gram é uma das mais importantes técnicas de coloração na microbiologia médica. A reação de Gram de uma bactéria pode fornecer informações valiosas para o tratamento da doença. As bactérias Gram-positivas tendem a ser mortas mais facilmente por penicilinas e cefalosporinas. As bactérias Gram-negativas geralmente são mais resistentes porque os antibióticos não podem penetrar a camada de lipopolissacarídeo. Parte da resistência a estes antibióticos entre ambas as bactérias gram-positivas e gram-negativas é devida a inativação dos antibióticos (TORTORA, 2012).

#### 3.2.1. FUNGOS

Em relação a morfologia dos fungos foram observados fungos filamentosos, cuja suas principais características são as colônias que apresentam aspecto algodinoso ou também colônias com fungos esporulentos. Possivelmente, dentre os microrganismos isolados há leveduras, que são fungos com colônias de aparência pastosa, que lembram colônias de bactérias.

Através de chaves de identificação taxonômica identificamos o fungo *Aspergillus* sp., nesse fungo encontramos hifas contínuas (não septadas) e conidióforo característico, podendo ser confirmado apenas com extração de DNA para realizar o sequenciamento genético.

Em um experimento realizado para diagnosticar a sanidade de tartarugas-da-amazônia criadas em cativeiro no estado do Amazonas, em 2010, também



Ciências Biológicas

foram encontrados fungos do gênero *Aspergillus* sp. Segundo TUMA (2010) após o isolamento e o cultivo dos materiais coletados das lesões da carapaça das tartarugas, foram identificados os fungos *Aspergillus niger*, *Scedosporium* sp., *Scedosporium prolificano* e *Dematiaceo* sp.

### 3.3. TESTE DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS (DISCO-DIFUSÃO)

Foram realizados 24 testes e, após 24h de incubação os halos foram medidos em milímetros. A tabela 2 apresenta os resultados das medidas dos halos, logo foi estabelecido uma média de crescimento de halo para cada antimicrobiano.

Tabela 2 – Média de halos em mm (para cada bactéria) dos testes de antagonismo entre bactérias isoladas de filhotes de Tartaruga-da-Amazônia contra alguns tipos de antibióticos.

Código da Bactéria	AA1*	AA2*	AA3*	AN1*	AN2*	AN3*	D*
03.S.2	16,3 mm	15,6 mm	12 mm	9,3 mm	0	0	0
03.H.7	40 mm	20,3 mm	9,6 mm	42 mm	10,3 mm	0	0
06.S.1	41,6 mm	17,3 mm	12 mm	14 mm	17 mm	0	0
01.H.2	13 mm	8 mm	1,6 mm	5 mm	14 mm	0	0
03.H.8	31,6 mm	16 mm	7,6 mm	8,3 mm	10 mm	0	0
02.H.6	42,6 mm	10,6 mm	8,6 mm	6 mm	10,6 mm	0	0
03.H.6	14,6 mm	5,6 mm	3,3 mm	12 mm	15 mm	0	0
01.H.1	23,3 mm	0	0	0	0	0	0
05.S.1	12 mm	8,6 mm	10 mm	14,6 mm	4 mm	0	0
06.S.2	0	0	0	12 mm	0	0	0
N.F.H.2	0	0	0	0	0	0	0
C.C.03	25,3 mm	0	0	0	0	0	0
05.H.3	47 mm	21,3 mm	10,3 mm	19,6 mm	21,3 mm	0	0
02.H.1	41 mm	14,6 mm	0	0	0	0	0
03.S.3	41,3 mm	22 mm	11 mm	19,3 mm	21,3 mm	0	0
02.H.2	13 mm	0	0	0	0	0	0
02.H.3	16 mm	0	0	3,3 mm	0	0	0
02.H.4	38 mm	14,3 mm	6,6 mm	10 mm	24,3 mm	0	0
02.H.5	7 mm	0	0	0	6,3 mm	0	0
03.S.1	40 mm	20 mm	11 mm	19,6 mm	27 mm	0	0
03.S.5	19,3 mm	0	0	0	0	0	0
03.S.6	16 mm	0	0	0	0	0	0
05.H.4	24,3 mm	0	0	4 mm	0	0	0
H2O – 1	23 mm	0	0	0	0	0	0

\*AA1 – Tetraciclina; AA2 – Cefalexina; AA3 – Amoxicilina + água deionizada; AN1 – Ampicilina; AN2 – Sulfametoxazol + Trimetoprima; AN3 – Sulfato de Neomicina + Bacitracina Zíncica; D – DMSO.

Observou-se que a Tetraciclina foi o antimicrobiano que apresentou o maior espectro de ação, ou seja, foi o antimicrobiano cujo as bactérias apresentaram sensibilidade. Apenas em duas bactérias (06.S.2 e N.F.H.2) não houve inibição de crescimento, portanto,

elas apresentaram a característica de resistência ao antimicrobiano.

Abaixo temos a tabela 3 que mostra os antimicrobianos, a quantidade de bactérias inibidas e a variação geral do espectro de ação em mm.

Tabela 3 – Quantidade de bactérias inibidas pelos antimicrobianos e espectro de inibição em mm.

Antimicrobiano	Quantidade de bactérias	Espectro de inibição em mm
Tetraciclina	22	7 a 47 mm
Cefalexina	13	5,6 a 22 mm
Amoxicilina + água deionizada	12	3,3 a 12 mm
Ampicilina	15	3,3 a 42 mm
Sulfametoxazol + Trimetoprima	12	4 a 27 mm
Sulfato de Neomicina + Bacitracina Zíncica	0	0

As bactérias apresentaram grande sensibilidade a Tetraciclina. Ainda assim, houve crescimento de colônias após o terceiro dia de observação. Isto ocorreu devido ao fato de que a tetraciclina é uma droga bacteriostática, sendo assim, ela não elimina o microrganismo, apenas inibe a síntese de proteínas, evitando o crescimento por um período de tempo.

De acordo com SANTOS et al. (2006) as drogas que interferem na síntese de proteínas o fazem de forma reversível ou irreversível. A tetraciclina

atua de forma reversível, portanto ela interfere em uma das fases da síntese proteica, secundariamente às atividades de crescimento microbiano, como a formação de peptídeos com atividade enzimática.

Foi observado que a bactéria (N.F.H.2) foi a única que apresentou a característica de multirresistência, pois não houve inibição de crescimento perante aos seis antimicrobianos testados (Figura 1).

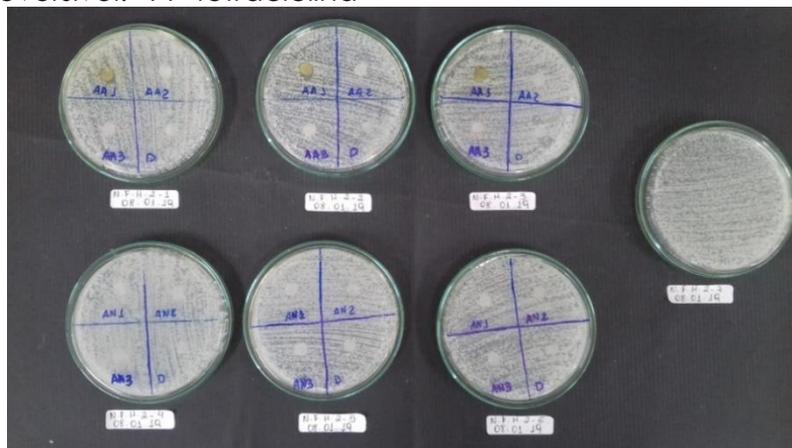


Figura 1 – Bactéria N.F.H.2.

### 3.4. TESTE ANTAGONISMO (FUNGO X ANTIFÚNGICO)

Após uma avaliação de 10 dias, por conta do lento crescimento de alguns fungos, obtivemos os seguintes resultados, conforme visualizado na Tabela 4. A inibição foi medida em mm.

Na tabela 5 apresentando a quantidade de fungos inibidos por cada antimicrobiano testado e o espectro geral de ação em mm. Na coluna que apresenta o espectro de inibição, foi colocado a variância de inibição dos fungos em que determinado antimicrobiano apresentou atividade.



Tabela 4 – Média de halos em mm (de cada fungo) nos testes de antagonismo de fungos isolados de filhotes Tartaruga-da-Amazônia contra antifúngicos comerciais.

Código do Fungo	Fluconazol	Rifocina	Cetoconazol
C.01.02	0	40,6 mm	18,3 mm
C.01.03	0	6 mm	10 mm
C.01.07	26 mm	9,66 mm	7,66 mm
C.03.02	0	0	0
C.H2O.01	0	0	23,6 mm
C.H2O.02	0	0	0
C.H2O.03	0	0	0
F.01.03	SC*	SC	SC
F.01.05	0	0	0
F.01.09	0	0	0
F.T.01	0	0	13 mm
F.T.02	SC	SC	SC
H2O-07	38 mm	0	0
N.F.H.04	0	0	13 mm
01.S.06	SC	SC	SC
02.H.18	0	0	0
02.H.20	SC	18,6 mm	C*
03.S.01	SC	40,3 mm	21 mm
03.S.04	38,4 mm	17,3 mm	7 mm
03.S.10	12,3 mm	17,6 mm	0
03.S.12	20,6 mm	16,3 mm	20,6 mm
04.H.03	SC	39,6 mm	C
05.S.05	0	0	0
06.S.03	SC	SC	SC

\*SC – sem crescimento; C – contaminado.

Tabela 5 – Quantidade de fungos inibidos e espectro de inibição em mm.

Antimicrobiano	Quantidade de fungos inibidos	Espectro de inibição em mm
Fluconazol	5	12,3 a 38,4 mm
Cetoconazol	8	7 a 23,6 mm
Rifocina	9	6 a 40,6 mm

Observamos que o Fluconazol foi o antimicrobiano que menos inibiu o crescimento dos fungos, ou seja, os fungos foram resistentes à ação do Fluconazol com exceção de apenas 5 fungos. Segundo SANTOS JR (2005), o Fluconazol atua mediante a inibição da enzima lanosterol 14- $\alpha$  demetilasa no complexo citocromo P-450 dos fungos. Dessa forma, o resultado é a inibição da conversão de lanosterol em ergosterol, com a depleção conseguinte de

ergosterol, acumulação de precursores e perda da integridade da membrana fúngica.

O Cetoconazol apresentou um espectro de inibição entre 7 a 23,6 mm em 8 fungos. De acordo com MARTINS et al. (1997), o Cetoconazol é um inibidor da biossíntese dos esteróis, principalmente do ergosterol, o mais importante esterol encontrado na membrana celular do fungo.

## Ciências Biológicas

O fungo 03.S.12 apresentou sensibilidade a todos os antimicrobianos, frente ao Cetoconazol, o espectro de inibição teve uma média de 20,6 mm. O fungo 02.H.18 também foi um dos fungos que apresentou resistência em todos os testes.

A Rifocina mostrou espectros de inibição entre 6 a 40,6 mm (Figura 2). Foi o antimicrobiano que mais inibiu o crescimento dos fungos, um total de 9 fungos.



Figura 2 – Fungo diante de Rifocina. (A) 02.H.20. (B) F.T.01.

Apesar da amostra (02.H.20) ter apresentado uma certa resistência, as outras amostras mostraram sensibilidade diante da Rifocina com uma média de espectro de inibição de 18,6 mm. É importante relatar que este fungo demonstrou sensibilidade apenas a esse antimicrobiano (A). O fungo F.T.01 (B) foi um dos fungos que apresentou resistência à Rifocina.

Notamos que 4 fungos não apresentaram crescimento visível em nenhum dos testes, são eles: F.01.03, F.T.02, 01.S.06 e 06.S.03. Porém, observamos que os fungos C.03.02, C.H2O.02, C.H2O.03, F.01.05, F.01.09, 02.H.18 e 05.S.05 apresentaram resistência aos três antimicrobianos testados.

## 4. Conclusão

Conseguimos isolar variados tipos de bactérias e, principalmente, de fungos que apresentaram diversos tipos de cores, texturas e crescimento diferentes e, além disso, foi possível fazer chave de identificação taxonômica do fungo *Aspergillus* sp. Identificamos por

meio da técnica de coloração de Gram o tipo morfológico de algumas bactérias, encontramos cocos e uma grande abundância de bacilos.

Os testes susceptibilidade com as bactérias demonstraram que a Tetraciclina foi o antimicrobiano com melhor resultado positivo, pois foi o que mais inibiu o crescimento das bactérias, um total de 22 bactérias, e foi o que obteve os maiores espectros de ação. Entretanto, a Tetraciclina possui ação reversível, ou seja, a inibição do crescimento ocorre apenas por um determinado tempo.

Nos testes de antagonismo entre fungos e antifúngicos, nenhum dos antifúngicos conseguiu inibir mais de 10 fungos. Porém, a Rifocina foi o que obteve a melhor ação contra os fungos.

Apesar do resultado positivo da Tetraciclina e da Rifocina, é necessário a realização de mais testes com concentrações diferentes, além da importância da testagem de outros antimicrobianos.

Esta pesquisa mostra a importância de produzir novas pesquisas voltadas para as patologias desenvolvidas em



## Ciências Biológicas

quelônios criados em cativeiro, visto que as informações acerca desta problemática são escassas e necessitam de mais visibilidade e estudo, principalmente, em relação aos microrganismos resistentes.

### Agradecimentos

À Universidade Federal do Amazonas - UFAM, ao Instituto de Ciências Biológicas - ICB, ao Centro de Estudos dos Quelônios da Amazônia - CEQUA e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

### Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

### Referências

ANDRADE, P.C.M. Criação e manejo de quelônios no Amazonas. Manaus: Ibama, ProVárzea, 2008.

AZEVEDO, J. L.; COSTA, S. O. P. Exercícios práticos de Genética. São Paulo. Editora nacional. 1973.

BRASIL. Portaria 58, de 24 de abril de 2001. 2001. Institui o Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios - Répteis e Anfíbios Nacionais (RAN). Diário Oficial da União. Brasília, 24.04.2001.

CASTELANI, A. Viability of mold culture off ungi in distilled water. J. Trop. Med. Hyg., 42: 225.1939.

COOPER, J. E. 2006. Dermatology. In: Mader, D. R. Reptile, Medicine and Surgery. 2. ed. Florida: Marathón, p. 196-215.

CORRÊA, S.H.R; PASSOS, E.C. 2001. Wild animals and public health. In: Fowler, M.E; Cubas, Z.S. Biology, medicine and surgery of

south american wild animals. Iowa: Iowa State University Press, 493-499 p.

FACHÍN-TERÁN, A.; CHUMBE-AYLLON, M.; TALEIXO-TORRES, G. 1996. Consumo de tortugas de la Reserva Nacional Pacaya-Samiria, Loreto, Peru. Vida Silvestre Neotropical., 5:147-150.

FRYE, F.L. Reptile Care, an atlas of diseases and treatments. T.F.H. Publications, Inc., Neptune City, New Jersey, Volume I, II, 1991.

GREGO, K.F. 2001. Ophidia – restraint, anesthesia, medicine. In: Fowler, M.E. Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals. Iowa State University Press, p.43-50.

HERNANDEZ-DIVERS, S.; HENSEL, P.; GLADDEN, J.; HERNANDEZ-DIVERS, S. M.; BUHMANN, K. A.; SANCHEZ, S.; LATIMER, K. S.; ARD, M. & CAMUS, A.C. 2009. Investigation of shell disease in map turtles (*Graptemys* spp.). Journal of Wildlife Diseases, 45, 637-652.

MARTINS, R. L. M.; SANTOS, C. G. F.; FRANÇA, F. R. F. C.; MORAES, M. A. P. 1997. Adiaspiromicose humana. Relato de um caso tratado com cetoconazol. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 30 (6): 507-509.

MELO, L. A. S., IZEL, A. C. U., ANDRADE, P. C.M., SILVA, A. V., HOSSAINE-LIMA, M. G. Criação de Tartarugas da Amazônia (*Podocnemis expansa*). Manaus: Embrapa Amazônica Ocidental, 2003. 14p. Embrapa Amazônica Ocidental. (Documentos, 26).

MITTERMEIER, R.A. 1975. A turtle in every pot: A valuable South American resource going to waste. Animal Kingdom, 78: 9-14.

Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão; Norma Aprovada – Oitava Edição. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi\\_OPASM2-A8.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf)> Acesso em 18 de agosto de 2020.

ROSENTHAL, K. L.; MADER, D. R. Microbiology. In: Mader; D. R. Reptile Medicine and Surgery. Philadelphia: Saunders, 1996. Cap. 11, p 117-125.

SANTOS, I. C. SOUSA, R. V. SANTANA, G. C. 2006. Princípios da antibioticoterapia em medicina veterinária. Boletim Agropecuário, Lavras.p.8.



Ciências Biológicas

SANTOS JR, I. D.; SOUZA, I. A. M.; BORGES, R. G.; SOUZA, L. B. S.; SANTANA, W. J. COUTINHO, H. D. M. 2005. Características gerais da ação, do tratamento e da resistência fúngica ao fluconazol. *Scientia Medica* 13.

SISON, T. M., PADILHA, M.A., VIZMANOS, M.Z. & FOLLOSCO, M. 1990. Isolation and identification of fungi found in necrotic skin lesions of captive marine turtles (*Eretmochelys imbricata*). *Philippine Journal of Veterinary Medicine*, 27, 35–36.

SMITH, N.J.H. 1979. Aquatic turtles of Amazonia: An endangered resource. *Biology Conservation*, 16(3): 165-179.

SOUZA, R.A.M. 2006. Comparação de diferentes protocolos terapêuticos na cicatrização de carapaça de Tigres-D'Água (*Trachemys* sp.). Dissertação de mestrado, Uni-

versidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 12-13, 55p.

TORTORA, G. J. Funke, B. R. Case, C. L. 2012. *Microbiologia*. 10ª. ed. Artmed, Porto Alegre, 69-70p.

TUMA, N. N. 2010. Diagnósticos de sanidade de Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemis exapansa*, SCHWEIGGER, 1812) em cativeiro no Estado do Amazonas. Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2010. Relatório Parcial PIBIC (PIB A0041/2009). p.24.

VOGT, R.C. 2001. Turtles of Rio Negro. In: Chao, N.L.; Petry, P.; Prang, G.; Sonneschien, L.; Tlusty, M. (Eds). *Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro Basin, Amazônia, Brazil – Project Piaba*. Universidade do Amazonas, Manaus, Brasil. p. 245-262.