

1. Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará
2. Universidade Estadual Vale do Acaraú
3. Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS EM POMBOS DOMÉSTICOS (*COLUMBIA LIVIA*) CRIADOS EM CATIVEIRO DA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA

Introdução

A *Columbia livia*, nome científico atribuído ao pombo doméstico, é uma das 50 espécies pertencentes ao gênero *Columba*. Estas aves podem ser encontradas em diversos lugares do globo, podendo apresentar diversas variações de cor, tamanho, plumagem e hábitos, de acordo com a região. O pombo doméstico é uma das espécies mais comumente encontrada no cotidiano humano, por habitar áreas urbanas com grande fluxo de circulação de pessoas, como praças e parques à céu aberto pode escrever este termo (Nunes, 2003). O grande desenvolvimento urbano que assola as cidades em conjunto com a falta de planejamento de controle ambiental tem contribuído para aumentar o contato entre o homem e os animais de vida livre. Esta relação se vê agravada levando-se em conta o rápido ciclo reprodutivo dos pombos favorecido pela disponibilidade de alimento ofertado pelo próprio homem. Em centros urbanos, é observada a reprodução de pombos domésticos durante o ano todo, exceto na época de muda das penas, antes do inverno (Nunes, 2003). No Brasil, a domesticação das primeiras criações de espécimes de pombos possui relação com a família real portuguesa. Estas aves rapidamente aqui se adaptaram. No globo, a domesticação dos pombos é indicada em diversas fontes científicas desde a Idade do Bronze até o Egito antigo. Atualmente, o pombo tem a sua verdadeira dimensão na área desportiva propiciando um enorme universo de competições em vários países onde são organizados e promovidos milhares de campeonatos, (Carlos, 2008). Devido a este estreito contato entre pombos e seres humanos, pode-se ocorrer o contágio de doenças bacterianas entre seres humanos e estas aves. Segundo Tauxe (1991), as aves são consideradas o veículo mais comum para Salmonelose humanas, visto que o primeiro relato de salmonelose em aves foi no século passado em um surto de enterite em pombos (Moore, 1895). As fezes destas aves podem disseminar micróbios através do ar, causando doenças respiratórias graves como alergias de pele e salmoneloses que afeta o intestino e provocam infecções (Jualmir, 2004). Desta forma e de acordo com Gast (1997), há uma necessidade de pesquisar sobre a incidência e distribuição dos vários patótipos de *Salmonella* sp. na população de pombos domésticos e detectar os possíveis reservatórios que possam ser responsáveis pela transmissão desta zoonose.

Material e Métodos

Coleta de amostras

Foram coletadas 66 pools de fezes de pombos domésticos (*Columbia livia*) provenientes de criadouros particulares, localizados na Região Metropolitana de Fortaleza – CE. Também foram realizadas coletas individuais de suabes cloacais em 76 aves, dos mesmos criadouros, com a finalidade de pesquisar a presença de *Salmonella* sp. e as espécies de enterobactérias presentes nas amostras. As aves possuíam aparência saudável e recebiam ração e água *ad libitum*.

1. Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará
2. Universidade Estadual Vale do Acaraú
3. Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

Procedimento microbiológico

As fezes foram colhidas, de forma asséptica, por espátula esterilizada e depositadas em frascos estéreis e os suabes foram armazenados em tubos de ensaio estéreis. Todas as amostras foram transportadas sob refrigeração ao laboratório de análises. O procedimento bacteriológico adotado para isolamento e identificação de *Salmonella* seguiu as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) com algumas modificações, sendo composto pelas seguintes etapas: Pré-enriquecimento, no qual cada swab foi adicionado em tubos de ensaio contendo 10 mL de água peptonada tamponada 1% e uma amostra de 3 g de fezes foram adicionados em Erlenmeyer contendo 30 mL de água peptonada tamponada 1%, e incubados a 37° C por 24 horas. Para a etapa de enriquecimento seletivo, alíquotas de 0,1 e 1 mL recolhidas dessa cultura pré-enriquecida foram transferidas, respectivamente, para tubos contendo 10 mL de meio líquido Rappaport-Vassiliadis (RV) (MERCK®) e tubos contendo 10mL de meio líquido Selenito Cistina (SC) (MERCK®), estes foram incubados em estufa bacteriológica à temperatura de 37 °C por um período de 24 horas.

Após esse período, amostras foram retiradas, assepticamente, com uma alça de níquel-cromo e semeadas em placas contendo os meios seletivos indicadores ágar Verde-brilhante (VB) (MERCK®) e ágar MacConkey (MC) (MERCK®), sendo, em seguida, incubadas por 24 horas a temperatura de 37 °C, para uma análise posterior. Com a cultura obtida foi realizada a identificação presuntiva. Foram colhidas com auxílio de uma agulha de platina, previamente flambada, entre três a cinco colônias com as mesmas características morfológicas e semeadas para realização das provas bioquímicas em tubos contendo os meios gelose inclinado triplice açúcar ferro – TSI (MERCK®) e gelose inclinado lisina ferro – LIA (MERCK®). Para a realização da prova do indol, verificação da motilidade bacteriana e presença de sulfeto de hidrogênio, foi utilizado o meio SIM. Todas as provas foram realizadas em uma temperatura de incubação de 37 °C por um período de 24 horas. Assim, as bactérias foram classificadas quanto ao gênero de acordo com as características bioquímicas apresentadas. As amostras suspeitas foram selecionadas para *Salmonella* sp. Através do teste de aglutinação rápida com soros anti somático “O” (Difco®) e anti flagelar poli “H” (Difco®) de *Salmonella*. Após esta etapa as culturas positivas foram repassadas em ágar nutriente (Oxoid®) e enviadas ao Instituto Adolf Lutz para a realização da tipificação sorológica.

Resultados e discussão

A tabela 1 demonstra a quantidade de enterobactérias identificadas nas amostras de suabes cloacais. Pode-se observar o percentual de microorganismos como: *Salmonella* sp. (2,63%), *Enterobacter* sp. mais *Escherichia coli* (17,1%), *Enterobacter* sp. mais *Escherichia coli* mais *Hafnia* sp. (1,3%), *Enterobacter* sp. (32,89%), *Citrobacter* sp. (1,3%), *Enterobacter* sp. mais *Salmonella* sp. mais *Hafnia* sp. mais *Citrobacter* sp. (1,3%), *Klebsiella* sp. (10,5%), *Klebsiella* sp. mais *Escherichia coli* (5,2%), *Klebsiella* sp. mais *Enterobacter* sp. (21%), *Escherichia coli* (1,3%), *Enterobacter* sp. mais *Escherichia coli* mais *Serratia* sp. (1,3%), *Enterobacter* mais *Serratia* sp. (1,3%), *Serratia* sp. (1,3%), *Enterobacter* mais *Escherichia coli* mais *Hafnia* sp. (1,3%).

1. Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará
2. Universidade Estadual Vale do Acaraú
3. Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

Tabela 1: Identificação de enterobactérias isoladas em suabes cloacais

SUABES	Frequência Relativa (%)	Frequência Absoluta
<i>Salmonella</i> sp.	2,63	2
<i>Enterobacter</i> sp. + <i>E. coli</i>	17,1	13
<i>Enterobacter</i> sp. + <i>E. coli</i> + <i>Hafnia</i> sp.	1,3	1
<i>Enterobacter</i> sp.	32,89	25
<i>Citrobacter</i> sp.	1,3	1
<i>Enterobacter</i> sp. + <i>Salmonella</i> sp. + <i>Hafnia</i> sp. + <i>Citrobacter</i> sp.	1,3	1
<i>Klebsiella</i> sp.	10,5	8
<i>Klebsiella</i> sp. + <i>E. coli</i>	5,2	4
<i>Klebsiella</i> sp. + <i>Enterobacter</i> sp.	21	16
<i>E. coli</i>	1,3	1
<i>Enterobacter</i> sp. + <i>E. coli</i> + <i>Serratia</i> sp.	1,3	1
<i>Enterobacter</i> + <i>Serratia</i> sp.	1,3	1
<i>Serratia</i> sp.	1,3	1
<i>Enterobacter</i> + <i>E. coli</i> + <i>Hafnia</i> sp.	1,3	1

Legenda: +: mais, *E. coli*: *Escherichia coli*

A *Enterobacter* sp. (32,89%) foi o patógeno mais isolado nos suabes coletados, resultado este de acordo com resultados obtidos por Chernaki-Leffer, et al. (2002) que também encontraram uma alta prevalência de *Enterobacter* sp. Estes autores realizaram suabes de arrasto em cama de aviários e encontraram percentagens de 5,88% para *Enterobacter* sp. O segundo maior isolamento correspondeu a *Klebsiella* sp. mais *Enterobacter* sp (21%). De acordo com Ritchie et al. (1994), a colonização acentuada de *Klebsiella* sp. em rins de pombos causa falência renal, sendo que em infecções crônicas, os pulmões podem também estar envolvidos. Entretanto, tais infecções só são detectadas à medida que se iniciem os processos de sinais clínicos respiratórios (Ritchie et al., 1994). O isolamento de *Enterobacter* sp. mais *Escherichia coli* representou 17,1% das bactérias encontradas. Marietto (2007) afirma que a enterobactéria *Escherichia coli*, apesar de ter sido considerado por muito tempo um organismo não-patogênico, é hoje um dos sorotipos mais associados a diversas patologias humanas e animais. Em relação à frequência de isolados em fezes foram identificados os gêneros: *Enterobacter* sp. (13,6%), *Proteus vulgaris* (4,5%), *Enterobacter* sp. mais *Citrobacter* sp. (7,5%), *Citrobacter* sp. (16,6%), *Salmonella* sp. (9%), *Salmonella* sp. mais *Citrobacter* sp. mais *Proteus vulgaris*. (3%), *Salmonella* sp. mais *Citrobacter* sp. (4%), *Salmonella* sp. mais *Citrobacter* sp. mais *Proteus mirabilis* (3%), *Salmonella* sp. mais *Proteus* sp. mais *Citrobacter* sp. (3%), *Escherichia coli* (1,5%), *Salmonella* sp. mais *Enterobacter* sp. mais *Citrobacter* sp. mais *Hafnia* sp. (1,5%), *Escherichia coli* mais *Klebsiella* sp. (1,5%), *Citrobacter* sp. mais *Proteus* sp. (15,1%), *Proteus mirabilis* mais *Salmonella* sp. (1,5%), *Proteus* sp. (1,5%), *Escherichia coli* mais *Proteus vulgaris* mais *Serratia* sp. (1,5%), *Escherichia coli* mais *Citrobacter* sp. mais *Salmonella* sp. mais *Enterobacter* sp. (1,5%), *Enterobacter* sp. mais *Klebsiella* sp.

1. Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará
2. Universidade Estadual Vale do Acaraú
3. Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

(1,5%), *Providencia* sp. (1,5%), *Enterobacter* sp. mais *Escherichia coli* mais *Serratia* sp. (1,5%), *Serratia* sp. (1,5%). Tais dados podem ser demonstrados na tabela 02.

Tabela 2: Isolamento de enterobactérias em fezes de pombos

Fezes	Frequência Relativa	Frequência Absoluta
<i>Enterobacter</i> sp.	13,6	9
<i>Proteus vulgaris</i>	4,5	3
<i>Enterobacter</i> sp. + <i>Citrobacter</i> sp.	7,5	5
<i>Citrobacter</i> sp.	16,6	11
<i>Salmonella</i> sp.	9	6
<i>Salmonella</i> sp. + <i>Citrobacter</i> sp. + <i>Proteus vulgaris</i> .	3	2
<i>Salmonella</i> sp + <i>Citrobacter</i> sp.	4	3
<i>Salmonella</i> sp. + <i>Citrobacter</i> sp. + <i>Proteus mirabilis</i>	3	2
<i>Salmonella</i> sp. + <i>Proteus</i> sp. + <i>Citrobacter</i> sp.	3	2
<i>E. coli</i>	1,5	1
<i>Salmonella</i> sp. + <i>Enterobacter</i> sp. + <i>Citrobacter</i> sp.+ <i>Hafnia</i> sp.	1,5	1
<i>E. coli</i> + <i>Klebsiella</i> sp.	1,5	1
<i>Citrobacter</i> sp. + <i>Proteus</i> sp.	15,1	10
<i>Proteus</i> sp.	1,5	1
<i>E. coli</i> + <i>Proteus vulgaris</i> + <i>Serratia</i> sp.	1,5	1
<i>E. coli</i> + <i>Citrobacter</i> sp. + <i>Salmonella</i> sp. + <i>Enterobacter</i> sp.	1,5	1
<i>Enterobacter</i> sp. + <i>Klebsiella</i> sp.	4,5	3
<i>Providencia</i> sp.	1,5	1
<i>Enterobacter</i> sp.+ <i>E. coli</i> + <i>Serratia</i> sp.	1,5	1
<i>Serratia</i> sp.	1,5	1

Legenda: +: mais, *E. coli*: *Escherichia coli*

O isolamento de *Enterobacter* sp. nas fezes representou 13,6% do total isolado. Esta enterobactéria é agente característico da microbiota do trato digestivo das aves (Klein *et al.*, 1996). Entre as 20 combinações de amostras isoladas, identificou-se *Proteus* sp. em sete delas. As enterobactérias *Proteus* sp. são habitantes normais do intestino do homem e dos animais, sendo identificados em diversos tipos de alimentos. Este gênero é bastante difundido na natureza principalmente em água poluída e solos, desempenhando papel essencial nos processos de putrefação da matéria orgânica, podendo estar envolvidos também em infecções oportunistas extra-intestinais (Lázaro *et al.*, 1999; Franco e Landgraf, 2005). O isolado de *Salmonella* sp. foi obtido em seis das combinações existentes. Essas amostras foram encaminhadas ao Instituto Adolf Lutz para confirmação do resultado. Nascimento *et al.* (2000) e Arroyo (1995) afirmam que o isolamento de *Salmonella* sp. não depende do meio seletivo utilizado e nem do sorotipo, mas da

1. Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará
2. Universidade Estadual Vale do Acaraú
3. Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

concentração de *Salmonella* sp. na amostra e da presença de competidores nas fezes. Gradel *et al.* (2003) afirmam que a presença de *Escherichia coli*, isolada em nosso trabalho, é um indicador confiável para a presença de *Salmonella* sp. nas amostras. Observando-se os resultados, uma alta variedade de enterobactérias nas amostras é constatada. Estes gêneros, estão presentes no intestino das aves (Barrow, 1994), e contribuem para a disseminação de infecções bacterianas entre elas. Assim, podemos concluir que ocorre grande presença de enterobactérias de alto potencial patogênico no ambiente de criação de pombos.

Referência Bibliográficas

ACHA, P.N. and SZYFRES, B. Zoonosis e enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª. Ed. Washington: **Organizacion Panamericana de la Salud**, p980, 1989.

BARROW, P. A. The microflora of the alimentary tract and avian pathogens: translocation and vertical transmission. **In: Microbiology of the avian egg**. Ed.: Board, R.G.; Fuller, R. London: Chapman and Hall, p181, 1994.

BENENSON A.S. **In:** El consult de las enfermedades transmisibles en el hombre. 15.ed., **Washington: OPAS, OMS**. (Publicación Científica, 538), p618,. 1992.

CARVALHO, G.I. and SANTOS, L. Sistema único de Saúde, Comentários à lei orgânica da saúde (Lei 8080 e Lei 8142/90). **In: 2ª. Ed. São Paulo: Hucitec**, p393, 1992.

CHERNAKLEFFER, A.M; BIESDORF, S.M; ALMEIDA, L.M; LEFFER, E.V.B. VIGNE, F. Isolamento de Enterobactérias em *Alphitobius Diaperinus* e na Cama de Aviários no Oeste do Estado do Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.4, n.3, p243 – 247, 2002.

GAST, R. K. Parathyphoid Infections. **In:** Calnek, B W.; Barnes, H. J.; Beard, C. W.; McDougald, L. R; SAIF, Y. M. **Diseases of Poultry**. Ames: Iowa State University Press, p97-121, 1997.

GOODWIN, D. Pigeons and doves of the world. 3.ed. Ithaca: **Comstock Publishing Associates**, p363, 1983.

GRZIMER, B (Ed.) **Grzimek's animal life encyclopedia**.In: 2ª. Ed. New York: Van Nostrand Reinhold Co., v.8. Birds II. p620, 1975.

JOSÉ CARLOS. Columbofilia. Disponível em <<http://columbofilia.blogs.sapo.pt/22478.html>>. 12 mar., 2008.

GRADEL K.O.; J. C.H.R, JORGENSEN; J.S., ANDERSEN; J.E.L., CORRY. Laboratory heating studies with *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* in organic matter, with a view to decontamination of poultry houses. **Journal of Applied Microbiology**, 94, 919–928, 2003.

1. Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará
2. Universidade Estadual Vale do Acaraú
3. Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

MARIETTO-GONÇALVES, G. A. Colisepticemia em Papagaio verdadeiro (*Amazona aestiva*). **Revista Brasileira de Saúde**, v.8, n.1, p. 56-60, 2007.

MOORE, V. A. A pathogenic bacillus of the hog-cholera group associated with a fatal diseases in pigeons. **U.S. Dep. Agric. BAI Bull.**, v.8, p. 71-76, 1895.

NASCIMNETO, M. S.; BERCHIERI, Jr. BARBOSA, M. D.; ZANCAN, F. T.; ALMEIDA, W. A. F. Comparação de Meios de Enriquecimento e de Plaqueamento utilizados na pesquisa de Salmonella em Carcaças de Frango e Fezes de Aves. **Brazilian Journal Poultry Science** , vol.2 no.1 Campinas Jan./Apr. 2000.

NUNES, V. F. P. Pombos urbanos: O desafio de controle. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.65, n.1/2, p.89-92, jan./dez., 2003.

Prefeitura Municipal de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. Notícia. Disponível em: <http://www.campos.rj.gov.br/noticia.php?id=3784>. Acessado em 12 mar. 2008.

SKUTCH, A.E. and GARDNER, D. Life of the pigeon. Ithaca: **Comstock Publ. Assoc.**, p130, 1991.

TAUXE, R. V. Salmonella: a postmodem pathogen. *J Food Prot.*, v.54, p. 563-568, 1991. Ritchie, Harrison and Harrison, **Avian Medicine: Principles and application**. Wingers Publishing, Inc., Lake Worth, Florida, p956, 1994.