

MICROBIOCENOZA PORUMBEILOR SĂLBATICI ȘI CELOR ÎNTREȚINUȚI ÎN CONDIȚII CASNICE

Efim ARDOVAN*, Nicolae STARCIUC, Natalia OSADCI

Departamentul Siguranța Alimentelor și Sănătate Publică, Facultatea Medicină Veterinară, Universitatea Tehnică
a Moldovei, Chișinău, Republica Moldova

*Autorul corespondent: Efim Ardovan, efim.ardovan@sfc.utm.md

Îndrumătorul/coordonatorul științific Nicolae STARCIUC dr. hab., prof.univ., FMV, UTM
Natalia OSADCI dr., conf. univ., FMV, UTM

Rezumat: Scopul acestei lucrări științifice a fost izolarea microbiomului la porumbei. Au fost selectați porumbei din diferite regiuni ale Republicii Moldova și au servit drept obiect de cercetare, din care s-au prelevat spălături din cavitatea bucală, din globii oculari ai porumbeilor care aveau boli oculare, precum și mostre de materii fecale.

În urma investigațiilor microbiologice, s-a stabilit că microflora izolată de la porumbei era constituită din bacterii din genul: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pasteurella*, *Actinomyces*, *Listeria*, *Streptococcus* și *Staphylococcus*, ciuperci din genul *Aspergillus*, *Penicillium* și unele drojdii, printre care *Candida* spp.

La porumbeii sănătoși clinic prezența microflorei condițional patogene a fost stabilită în probele prelevate din cavitatea bucală.

La porumbeii suspecți de afecțiuni respiratorii și gastrointestinale, cei mai mari indici ai prezenței coloniilor bacteriene și fungice au fost stabiliți în probele prelevate din fecale.

Metodele microbiologice clasice au fost utilizate în identificarea diferitelor tipuri de bacterii și ciuperci: metode de bacterioscopie și bacteriologie. În metoda bacteriologică s-au folosit medii de cultură precum agar nutrient, bulion pepton, mediu Endo, Levin, agar bismut sulfat și mediu Sabouraud.

Cuvinte cheie: microbiom, medii de cultură, porumbei, cultură, spălături, colonii.

Introducere

În fiecare localitate din Republica Moldova putem întâlni diferite rase și tipuri de porumbei, numărul lor în locurile publice din an în an este în creștere, ca loc de habitat își aleg clădirile din apropiere, stațiile auto, parcurile, gospodăriile oamenilor.

În același timp, sunt ținuți în captivitate și crescuți ca păsări ornamentale, animale de companie și de laborator, ca participanți în cursele sportive și pentru producția de carne [1].

Utilizarea extensivă, irațională și adesea necorespunzătoare a antibioticilor folosite în tratamentul patologiilor apărute la porumbei determină o presiune selectivă puternică care duce la creșterea rapidă a numărului de bacterii multirezistente, astfel devenind o problemă globală și de aceea utilizarea corectă a antibioticilor joacă un rol primordial în criza emergentă de sănătate publică a rezistenței antimicrobiene [2].

Aceste păsări se pot deplasa pe distanțe mari, au o rată mare de reproducere și se adaptează ușor la condițiile de mediu. Contactul cu porumbeii, cât și cu excrementele acestora la fel poate prezenta o potențială amenințare pentru sănătatea publică și pentru multe alte specii de animale și păsări, deoarece sunt purtători de microorganisme potențial patogene inclusiv zoonotici, cum ar fi *E. coli*, *Chlamydomphila psittaci* și *Salmonella* spp., prezente în tractul lor gastrointestinal și respirator, majoritatea fiind și rezistente la antibiotice [3, 4, 5, 6, 11].

De aceea studierea lor continuă, diagnosticul corect și tratamentul bolilor întâlnite la ei este de o importanță majoră, precum și studierea și descrierea coloniilor bacteriene și fungice izolate în urma cercetărilor [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16].

Material și Metode

Au fost folosite metode clasice de colectare a materialului patologic de la porumbei.

De la fiecare individ în parte, au fost prelevate lavaje din cavitatea bucală, din globii oculari ale porumbeilor ce prezentau afecțiuni oculare, precum și tamponane cloacale folosind ansele bacteriologice sterile de unică folosință.

Unii porumbei au fost aduși și plasați separat sub supraveghere în staționarul de boli infecțioase a Facultății de Medicină Veterinară a Universității Tehnice a Moldovei, de la care la fel folosind ansele bacteriologice sterile de unică folosință au fost prelevate lavaje din cavitatea bucală, din globii oculari ale porumbeilor ce prezentau afecțiuni oculare și probe de materii fecale colectate din boxa fiecărui porumbel în parte.

La porumbeii sălbatici, atât de la cei din zona orașelor, cât și de la cei din zonele împădurite a fost folosită o altă metodă ce presupune supravegherea cu grijă mai din apropiere a porumbeilor și colectarea maselor fecale proaspete cu utilaj și recipiente sterile imediat după defecare.

În studiul realizat însămânțările pe mediile de cultură au fost efectuate utilizând metodele clasice microbiologice. Pentru izolarea și identificarea diferitor tipuri de bacterii au fost utilizate mediile: Nutrient agar, Bulionul peptonat, mediul Endo, Levin, Bismut Sulfit Agar, iar pentru izolarea și identificarea diferitor tipuri de fungi: mediul Sabouraud.

Pentru colorarea frotiurilor am folosit colorarea Gram, aici vorbim despre următorii coloranți: violet de gențiană 1% în soluție de alcool, soluția Lugol 1%, alcool 70% sau decolorant și fuxina sau safronina.

Rezultate și Discuții

Studiul respectiv a demonstrat că la porumbei stafilococii și streptococii sunt unii dintre cei mai răspândiți agenți patogeni.

La porumbei (*Columba livia*) majoritatea infecțiilor stafilococice sunt cauzate de *S. aureus* fiind larg răspândiți pe pielea porumbeilor, care împreună cu streptococii pot face parte din flora intestinală normală constituind majoritatea microbiotei bacteriene comensale. Pe mediul de cultură Nutrient Agar (Fig. 1), se observă colonii asociate și izolate de Streptococci și Staphylococci, coloniile se arată de dimensiuni mici și mijlocii de culoare albă-gri deschisă, iar în Fig. 2 observăm colonii de *Staphylococcus aureus*.

Speciile de *Enterococcus* au fost raportate în mai multe grupuri de porumbei, ei se găsesc omniprezent în microflora tractului intestinal (Tab. 1).

Salmoneloză este una dintre cele mai importante boli bacteriene la porumbei, fiind agentul etiologic al intoxicațiilor alimentare. Infecțiile porumbeilor cauzate de *Salmonella* spp. pot duce la boli grave. Pe mediul Bismut Sulfit Agar (Fig. 3) se observă dezvoltarea coloniilor de *Salmonella* având o culoare cafeniu închisă, lucioase de dimensiuni mici și medii, colonii izolate și colonii asociate, liniare. Numărul coloniilor este mai mare în probele din fecalii, decât în cele din cavitatea bucală.

Escherichia coli este o bacterie ce provoacă o altă boală importantă la porumbei – colibaciloza. Această bacterie face parte din flora intestinală normală a porumbeilor. În Fig. 4 la probele 1 și 2 se observă izolarea coloniilor de *Escherichia coli* de dimensiuni mici, mai mult izolate, de culoare violet închis cu prezența luciului metalic mai mult evidențiat în proba 2, iar în proba 3 se observă colonii izolate de *Salmonella* de culoare violet deschis, luciul metalic lipsește.

În Fig. 5 se observă colonii de *Escherichia coli*, de culoare violet închis cu prezența luciului metalic caracteristic, atât colonii asociate, cât și colonii izolate de dimensiuni mici.

Au fost efectuate studii ce afirmă că păsările care se hrănesc din canalizări au avut o rată mai mare de transport de *Listeria* spp. decât cele ce se hrănesc obișnuit în altă parte. Fapt ce se poate datora habitatului acestor păsări (Tab. 1).

Despre agenții patogeni de origine fungică a căilor respiratorii la porumbei există raportări sporadice, iar la tractul gastrointestinal sunt raportați agenți patogeni mult mai periculoși. Una

dintre aceste boli fiind Aspergiloza cauzata de *Aspergillus* spp. Aceste ciuperci sunt omniprezente și pot fi izolate din sol, aer, vegetație, fecalii și cavitatea bucală (Fig. 6, Tab.2). Pe mediul Sabouraud coloniile fungice în funcție de gen se dezvoltă diferit, putem observa colonii de culoare albă, rotunde, netede, lucioase, de dimensiuni mici (tip S) și colonii mucoase (tip M). Tot odată colonii rugoase cu margini rezoide (tip R), margini neregulate (Fig. 6. proba 1, 2 și Fig. 7), de culoare galben-cremos, de dimensiuni mari și cu prezența coloniilor pufoase (Fig. 6, proba 3), cu margini inelare de culoare albă cu centrul întunecat și cu dezvoltarea coloniilor în profunzimea mediului sub formă de rădăcini. Coloniile de *Candida* spp. izolate în urma studiului sunt ovale, de o culoare albastră (Tab. 2); coloniile de *Penicillium*, au aspectul unei bucăți de perie cu spori pe ele având o culoare maro deschisă, iar la coloniile de *Aspergillus* se observă clar miceliile și hifele cu sporanghii (proba 3 Fig. 6, Tab. 2).



Figura 1. Colonii de Streptococci și Staphylococci pe mediul Nutrient Agar

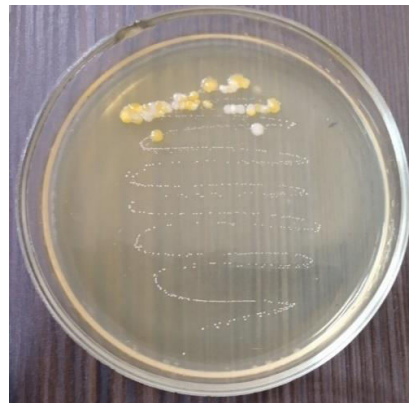


Figura 2. Colonii de Staphylococcus aureus pe mediul Nutrient Agar



Figura 3. Colonii de Salmonella spp. pe mediul Bismut Sulfit Agar



Figura 4. Colonii de E. coli și Salmonella spp. pe mediul Levin



Figura 5. Colonii de E. coli pe mediul Levin



Figura 6, 7. Colonii de fungi și unele tipuri de levuri pe mediul Sabouraud

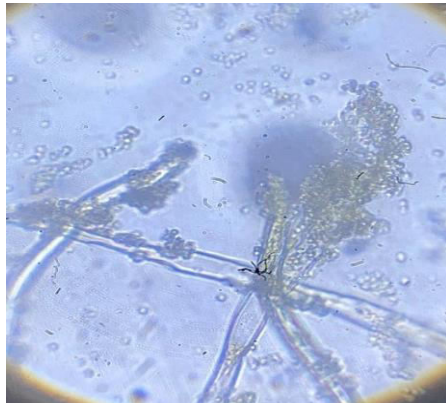

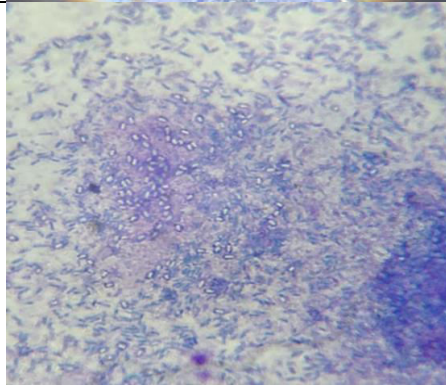
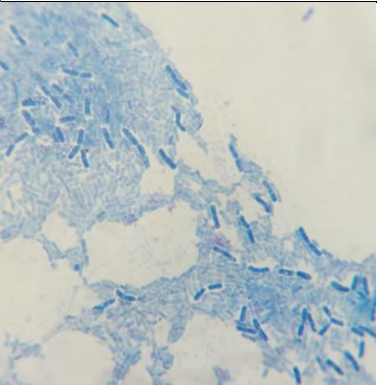
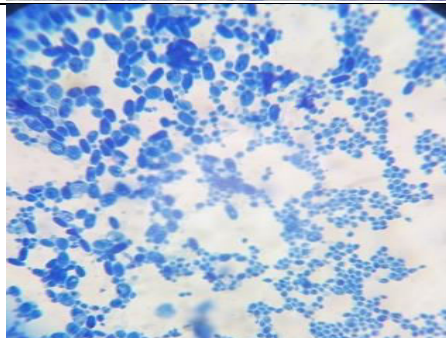
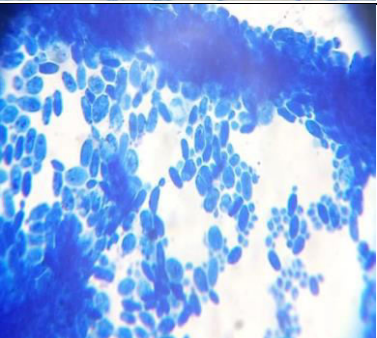


Tabelul 1

Examenul microscopic a frotiurilor preparate din colonile bacteriene

Denumirea bacteriilor	Vedere microscopică	Denumirea bacteriilor	Vedere microscopică
1. Microfloră asociată - staphylococci streptococci diplococci		4. Cocobacili Salmonella E.coli Diplococci G-	
2.1. Bacterii din genul Pasteurella (bastonași cu colorație bipolară)		5.1. Escherichia coli Salmonella Shigella Cocobacili	
2.2. Bacterii din genul Pasteurella (bastonași cu colorație bipolară)		5.2. Escherichia coli Salmonella Shigella Cocobacili	
3.1. Bacterii din genul Listeria		6.1. Actinomices Diplococci Streptococci Staphylococci	
3.2. Bacterii din genul Listeria		6.2. Actinomices Diplococci Streptococci Staphylococi	

Examenul microscopic a frotiurilor preparate din coloniile fungice

Coloniile izolate		
1. Colonii de <i>Penicillium</i> și colonii de <i>Aspergillus</i>		
2. Levurile izolate		
3. Colonii de <i>Candida</i> spp.		

Concluzii

Monitorizarea periodică a microbiomului porumbeilor poate servi un element de analiză a situației epidemiologice față de circulația microflorei condiționat patogene și patogene cu un potențial risc pentru efectivele de porumbei din unele regiuni ale republicii, precum și pentru sănătatea publică.

Cercetările efectuate au argumentat prezența microflorei condiționat patogene la porumbeii clinic sănătoși, fiind prezentă atât în probele prelevate din masele fecale, cât și în probele din tampoanele cloacale, dar în același timp, cu indici mai mari de prezență sau dovedit a fi în probele prelevate din cavitatea bucală.

Cei mai înalți indici de creștere a coloniilor bacteriene și fungice au fost stabiliți la porumbeii suspecți cu boli respiratorii și gastrointestinale, acest indice fiind mai înalt în probele prelevate din masele fecale.

De la porumbeii ce prezentau afecțiuni oculare, valorile mai sporite ale numărului de colonii bacteriene au fost stabilite pe mediul Nutrient agar și mediul Endo.

Referințe:

- [1] Santos, H. M., Tsai, C.-Y., Catulin, G. E. M., Trangia, K. C. G., Tayo, L. L., Liu, H.-J., & Chuang, K. P. (2020). Common Bacterial, Viral and Parasitic Diseases in Pigeons (*Columba livia*): A Review of Diagnostic and Treatment Strategies. *Veterinary Microbiology*, 108779. doi:10.1016/j.vetmic.2020.108779
- [2] Chrobak-Chmiel D, Kwiecien E, Golke A, Dolka B, Adamczyk K, Bieganska MJ, Spinu M, Binek M, Rzewuska M (2021) Pigeons as carriers of clinically relevant Multidrug-Resistant Pathogens—A clinical Case Report and Literature Review. *Front Vet Sci* 8:664226. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.664226>
- [3] Bujňáková, D., Kocúreková, T. & Karahutová, L. Distribution of virulence-associated genes, antibiotic resistance and phylogenetic groups in *Escherichia coli* isolated from domestic and racing pigeons. *Vet Res Commun* 47, 1697–1705 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10126-w>
- [4] Kaczorek-Łukowska, E., Sowińska, P., Franaszek, A., Dziewulska, D., Małaczewska, J., & Stenzel, T. (2020). Can domestic pigeon be a potential carrier of zoonotic *Salmonella*? *Transboundary and Emerging Diseases*. doi:10.1111/tbed.13891
- [5] Haesendonck, R., Rasschaert, G., Martel, A., Verbrugge, E., Heyndrickx, M., Haesebrouck, F., & Pasmans, F. (2016). Feral pigeons: A reservoir of zoonotic *Salmonella* Enteritidis strains? *Veterinary Microbiology*, 195, 101–103. doi:10.1016/j.vetmic.2016.09.017
- [6] Chidamba, L., & Korsten, L. (2015). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates from roof-harvested rainwater tanks and urban pigeon faeces as the likely source of contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(7). doi:10.1007/s10661-015-4636-x
- [7] Kimpe, A., Decostere, A., Hermans, K., Mast, J., & Haesebrouck, F. (2003). Association of *Streptococcus gallolyticus* Strains of High and Low Virulence with the Intestinal Tract of Pigeons. *Avian Diseases*, 47(3), 559–565. doi:10.1637/6081
- [8] Dolka, B., Czopowicz, M., Chrobak-Chmiel, D., Ledwoń, A., & Szeleszczuk, P. (2020). Prevalence, antibiotic susceptibility and virulence factors of *Enterococcus* species in racing pigeons (*Columba livia* f. *domestica*). *BMC Veterinary Research*, 16(1). doi:10.1186/s12917-019-2200-6
- [9] Osman, K. M., Badr, J., Orabi, A., Elbehiry, A., Saad, A., Ibrahim, M. D. S., & Hanafy, M. H. (2019). Poultry as a vector for emerging multidrug resistant *Enterococcus* spp.: First report of vancomycin (van) and the chloramphenicol–florfenicol (cat-fex-cfr) resistance genes from pigeon and duck faeces. *Microbial Pathogenesis*. doi:10.1016/j.micpath.2019.01.006
- [10] Ramesh, S., C. Soundararajan, K. Manimaran, S. Subapriya and Sokkalingam, R. 2018. Incidence of Pasteurellosis in a Pigeon (*Columba livia*) - A Case Report. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 7(12): 3693-3697. doi.org/10.20546/ijcmas.2018.712.419
- [11] Oh S, Park SH, Choi JH, Kim SL, Kim M, Lee S, Yi MH, Lee IY, Yong TS, Kim JY. The microbiota in feces of domestic pigeons in Seoul, Korea. *Heliyon*. 2023 Mar 30;9(4):e14997. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e14997.
- [12] Casanovas, L., de Simón, M., Ferrer, M. D., Arqués, J., & Monzón, G. (1995). Intestinal carriage of campylobacters, salmonellas, yersinias and listerias in pigeons in the city of Barcelona. *Journal of Applied Bacteriology*, 78(1), 11–13. doi:10.1111/j.1365-2672.1995.tb01666.x
- [13] Pollock, C. (2003). Fungal diseases of columbiformes and anseriformes. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 6(2), 351–361. doi:10.1016/s1094-9194(03)00003-3

- [14] Beernaert, L. A., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Martel, A. (2008). Modelling *Aspergillus fumigatus* infections in racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Pathology*, 37(5), 545–549. doi:10.1080/03079450802382280
- [15] Szczuka, E., Wesołowska, M., Krawiec, A., & Kosicki, J. Z. (2023). Staphylococcal species composition in the skin microbiota of domestic pigeons (*Columba livia domestica*). *PLoS ONE*, 18(7), e0287261. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287261>
- [16] Talazadeh, F., Ghorbanpoor, M., & Masoudinezhad, M. (2023). Phylogenetic analysis of pathogenic *Candida* spp. in domestic pigeons. In *Veterinary Research Forum* (Vol. 14, No. 8, p. 431). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. doi.org/10.30466/vrf.2022.555179.3499