

ASPERGILOSE: ELEVADA TAXA DE MORTALIDADE EM PINGÜINS-DE-MAGALHÃES (*Spheniscus magellanicus*) COM ENVOLVIMENTO DO SISTEMA RESPIRATÓRIO

Oliveira, Tatiane Barbosa¹; Cabana, Ângela Leitzke²; Xavier, Melissa Orzechowski⁴; Valle, Bruna⁵; Martins, Aryse Moreira⁶; Meireles, Mário Carlos Araújo³

¹ Bolsista de apoio Técnico/Laboratório de Micologia/ Faculdade de Veterinária/UFPel; tati-little@hotmail.com; ² MV; MSc, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária/PPGV/UFPel/Laboratório de Micologia/Faculdade de Veterinária; cabanangela@gmail.com; ³ Prof. Associado IV/Depto Veterinária Preventiva/ Laboratório de Micologia/ Faculdade de Veterinária/UFPel; ⁴ Prof. Adjunta Micologia/Faculdade de Medicina/Laboratório de Micologia/FURG; ⁵ Graduanda em Veterinária- Laboratório de Micologia/Faculdade de Veterinária/UFPel; ⁶ Centro de Recuperação de Animais Marinhos/CRAM/Rio Grande/FURG; Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária/PPGV/UFPel

1. INTRODUÇÃO

A aspergilose é uma doença oportunista causada por fungos do gênero *Aspergillus*, principalmente das espécies *A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger*. Acometendo diversas espécies, principalmente humanos e animais imunodeprimidos (CABANA, 2013; XAVIER, 2009).

Em aves a aspergilose pode causar dermatite necrótica, ceratite, contudo, em virtude dessa espécie animal não apresentar epiglote e diafragma o sistema respiratório é facilmente acometido por infecções. As aves apresentam sinais clínicos inespecíficos como febre, perda de apetite, redução da função respiratória, anorexia entre outros (XAVIER, 2008; CABANA, 2013). Em pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) os sinais clínicos como dispnéia, letargia, anorexia e principalmente manifestações respiratórias tardiamente e de forma crônica, apresentando frequentemente morte súbita (KHAN et al., 1977; CARRASCO et al., 2001; KEARNS; LOUDIS, 2007; XAVIER, 2008).

O diagnóstico fúngico é realizado através de culturas fúngicas positivas de secreções respiratórias, contudo o isolamento do fungo pode indicar simplesmente colonização da via respiratória ou contaminação já que este fungo é considerado um dos maiores contaminantes de laboratório, hemoculturas raramente são positivas para *Aspergillus* e exames de imagem não demonstram achados precoces (REDIG, 1993; BAUCK, 1994; ABUNDIS-SANTAMARIA, 2003). Em aves o diagnóstico geralmente é confirmado em exames *post-mortem* (CABANA et al., 2012).

Em função da alta taxa de mortalidade em aves, principalmente as em reabilitação, foram aperfeiçoadas e adaptadas técnicas de detecção de anticorpos como a Imunodifusão Radial dupla em gel de Agar (IDGA), consideradas confiáveis para diagnóstico precoce desta micose, mesmo com as limitações decorrentes do seu alto custo e da dificuldade de manejo principalmente se tratando de animais silvestres (REDIG, 1993; BAUCK, 1994; ABUNDIS-SANTAMARIA, 2003; CABANA, 2013).

O presente trabalho demonstra a alta taxa de óbitos causada pela aspergilose em pinguins-de-Magalhães em cativeiro para reabilitação, nos anos de 2012 a junho de 2013, evidenciando o comprometimento dos órgãos das vias respiratórias de forma aguda, além de destacar a importância do isolamento da espécie *A. fumigatus* como o maior agente causador desta micose.

2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Centro de Recuperação de Animais Marinhos/CRAM, da cidade de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil (CRAM-FURG), com pinguins-de-Magalhães que vieram a óbito. O estudo baseia-se em exames *post-mortem*; em que foram coletados fragmentos de pulmões e traqueias.

Os fragmentos de órgãos foram coletados e acondicionados em frascos estéreis com solução salina e posteriormente enviados para processamento micológico junto ao Laboratório de Micologia da FAMED/FURG durante o período de 18 meses (2012 a junho de 2013). Foram analisados fragmentos de 16 pulmões e duas traqueias do total de 16 pinguins que vieram a óbito no CRAM, sendo processados em placas de Petri contendo meio de cultura ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, semeados em duplicata e incubados a 37°C por até 10 dias com observação diária. O exame direto foi realizado utilizando fragmentos teciduais dos órgãos entre lâmina e lamínula com adição de KOH 20% seguido de observação em microscópio óptico 400x para detecção de estruturas fúngicas presentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pinguins-de-Magalhães são encontrados na costa litorânea, debilitados devido à contaminação a que são expostos durante sua migração para o Brasil (CABANA, 2011). Estes animais debilitados e enfermos são encaminhados para grupos de reabilitação como o CRAM no sul do litoral do Rio Grande do Sul.

O processo de reabilitação dessas aves, muitas vezes é um fator agravante para a predisposição a doenças oportunistas como a aspergilose (REDIG, 1993; ABUNDIS-SANTAMARIA, 2003; KEARNS; LOUDIS, 2003; SANCHEZ; GARRET; SANCHEZ, 2005; SILVA-FILHO; RUOPPOLO, 2006; XAVIER 2007).

De acordo com os resultados obtidos em nosso estudo, dos 16 pinguins que vieram a óbito durante o período de estudo, 69% (11/16) resultaram positivos para casos de aspergilose (Tabela 3).

Entre 90 a 95% da mortalidade por aspergilose em animais de cativeiro, são causadas por *Aspergillus fumigatus* (XAVIER, 2007; SEVERO et al., 1997; CABANA, 2013), fato comprovado pelo resultado obtido no presente estudo, no qual 91% (10/11) foi isolado *A. fumigatus* (Tabela 1). Em 9% (1/11) foi identificado *A. flavus* (Tabela 1), segunda espécie do gênero *Aspergillus* mais comumente relacionada a casos clínicos de aspergilose pulmonar (XAVIER; FARIAS; 2009).

Ao observar macroscopicamente os órgãos do sistema respiratório acometidos e lesões compatíveis com aspergilose, pode-se inferir que o trato respiratório dos pinguins-de-Magalhães é deficiente na defesa contra conídios infectantes das espécies fúngicas do gênero *Aspergillus*, assim como estes tem predileção pelo trato respiratório, como descritos por diversos autores (KHAN et al., 1977; CARRASCO et al., 2001; KEARNS; XAVIER, 2008) Foram isolados de fragmentos do sistema respiratório 69% das amostras positivas para aspergilose, representando um número maior que o dobro das outras doenças importantes na reabilitação de animais de cativeiro somadas em 31% (Tabela 2).

Tabela 1. Agente etiológicos causais isolados dos fragmentos de órgãos coletados dos animais que vieram a óbito no período de 18 meses

Agente etiológico, responsável pelos óbitos de aspergilose	Percentagem
<i>A. Fumigatus</i>	91%
<i>A. Flavus</i>	9%

Tabela 2. Óbitos de Pinguins-de-Magalhães em cativeiro para reabilitação do período de 18 meses

Causa do óbito	Percentagem
Aspergilose	69%
Outras causas	31%

Tabela 3. Agente etiológico encontrado nos fragmentos de órgãos coletados em Pinguins-de-Magalhães em cativeiro para reabilitação do período de 18 meses

Nº de fragmentos coletados/ semeados	Agente etiológico	Percentagem
10 Pulmões	<i>A. fumigatus</i>	62,5%
2 Traquéias	<i>A. fumigatus</i>	100%
1 Pulmão	<i>A. flavus</i>	6,5%
5 Pulmões	Outras causas	31%

4. CONCLUSÃO

O estudo realizado evidenciou taxas de 69% (11/16) de casos positivos para aspergilose, destas 91% dos isolados foram da espécie *A. fumigatus* concluindo que os pinguins-de-Magalhães em cativeiro para reabilitação são

propensos a adquirirem a aspergilose, e que a espécie *A. fumigatus* é a responsável pelo maior número de casos em aves em cativeiro para reabilitação, com envolvimento do sistema respiratório.

5. BIBLIOGRAFIA

ABUNDIS-SANTAMARIA E. Aspergillosis in birds of prey. 2003. **Accessed at:** <<http://www.aspergillus.man.ac.uk>> Accessed: setembro de 2013.

ANDREATTI FILHO, R.L. Enfermidades micóticas, In: BERCHIERI JÚNIOR, A. & MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA. p.369-375, 2000.

BAUCK L. Mycoses. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR. **Avian Medicine: Principles and Application**, Florida: Wingers Publishing. 997-1006; 1994.

CABANA, Â.L; XAVIER, M.O; OSÓRIO, L.G; SOARES, M.P; SILVA-FILHO, R.P; MADRID, I.M; FARIA, R.O; MEIRELES, M.C.A. Alterações Anatomo-Patológicas da Aspergilose em Pinguins. In: **CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA/UFPEL XVI**. Pelotas. 2007.

CABANA, A.L. **Monitoramento sorológico para diagnóstico precoce da aspergilose em pinguins em cativeiro**. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Veterinária da UFPEL. 118p. 2013

CABANA, A.L; XAVIER, M.O; SILVA-FILHO, R.P; CANABARRO, P.L; FARIA, R.O; MEIRELES, M.C.A. Monitoramento sorológico para diagnóstico de aspergilose em pinguins: avaliação da precocidade e eficácia do teste de imunodifusão radial dupla (IDGA). 2012b. **XIV ENCONTRO DE PÓS GRADUAÇÃO/UFPEL**, Pelotas. 2012.

CABANA, A.L. **Técnicas diagnósticas para detecção precoce da aspergilose em pinguins-de-magalhães em reabilitação**. Projeto de pesquisa vinculado ao Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia da Faculdade de Veterinária pelo PRPPG- Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós – Graduação/UFPEL. 11p. 2011

CASWELL, J.L; WILLIAMS, K.J. Respiratory system, p.523-653. In: **Maxie, M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. Vol.2. 5th ed. Saunders, London; 2007.

CARRASCO, L; LIMA, Jr JS; HALFEN, D.C; SALGUERO, F.J; SANCHEZ-CORDÓN, P; BECKER, G. Systemic Aspergillosis in an Oiled Magallanic Penguin (*Spheniscus magellanicus*). **Journal of Veterinary Medicine**. 48: 551-554; 2001.

KEARNS, K.S; LOUDIS, B. Avian Aspergillosis. In: Recent Advances in Avian Infectious Diseases, Ithaca NY: International Veterinary Information Service. **Available at:** <<http://www.ivis.org>> Accessed: setembro 2013.

KHAN, Z.U; PAL, M; PALIWAL, D.K; DAMODARAM, V.N. Aspergillosis in imported penguins. **Sabouraudia**; 15: 43-45; 1977.

MORAES, A.M.L; PAES, R.A; HOLANDA, V.L; Introdução a Micologia. Available at: <www.epsjv.fiocruz.br> Accessed: setembro 2013.

RECKZIEGEL, D.Z; CABANA, A.L; XAVIER, M.O; SILVA-FILHO, R.P; GOMES, A.R; ALBANO, A.P.N; MEIRELES, M.C.A. Etiologia da aspergilose em pingüins-de-Magalhães e alterações macroscópicas no exame pós- morte. 11º Mostra da Produção Universitária / Rio Grande 2012

REDIG, P. General Infectious Diseases - Avian Aspergillosis. In: **Fowler ME. Zoo & Wild Animal Medicine: current therapy 3.** Denver, Colorado: W B Saunders Inc.: 178-181; 1993.

SANCHEZ SL, GARRET TD, SANCHEZ C. 2005. Exhibit Modifications to Reduce the Incidence of Aspergillosis and Increase Breeding in Two Penguin Species at the Denver Zoo. **Available at:** <http://www.aza.org/azapublications/2005proceedingsreg>. Accessed> september 2013.

SILVA-FILHO, RP; RUOPPOLO, V. Sphenisciformes (Pinguim). In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária.** São Paulo, SP: Roca: 309-323; 2006

SEVERO, L.C.; GEYER, G.R.; PORTO, N.S.; WAGNER, M.B.; LONDERO, A.T.. Pulmonary *Aspergillus niger* intracavitary colonization. Report of 23 cases and review of the literature. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v.14, p.104-110, 1997.

TELL, L.A. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. **Medical Mycology**; 43 Suppl 1:71-73; 2005.

XAVIER, M.O; FARIA, R.O. Aspergilose. In: Micologia Veterinária; Mário Carlos Araújo Meireles; Patrícia da Silva Nascente (Org.). 1ed. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, Pag.205-223. 2009

XAVIER, M.O. **Aspergilose em Pingüins em Cativeiro: Diagnóstico, Prevenção e Controle em Centro de Recuperação de Animais Marinhos.** Dissertação mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Veterinária da UFPel. 98p. 2007.

XAVIER, M.O. **Aplicações e limitações do método de detecção do antígeno galactomanana para o diagnóstico de aspergilose.** 104f; Tese de doutorado apresentada ao Programa de ciências pneumológicas- área de conhecimento: Ciências pneumológicas. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.