

Detecção de Fungos Patogênicos para Humanos em Aves Silvestres

Talita S. Ramos, Keili M. C. Souza, Georgia R. S. Sant'Ana, Carlos E. R. Sant'Ana, Leo C. F. Silva, Wilia M. E. D. Brito, Marco T. A. Garcia-Zapata, Darlan F. Morais & Leonardo R. Almeida

O presente estudo analisou amostras biológicas de soro e “swabs” cloacais em 88 aves, de diferentes espécies presentes no CETAS de Goiânia-GO, para a identificação de possíveis patógenos fúngicos (fungos filamentosos e *Candida* sp). A identificação presuntiva de fungos oportunistas, por sua vez, confirma a possibilidade de manutenção, transmissão e disseminação destes agentes patogênicos das aves para humanos.

Palavras chave: *humanos, doenças infecciosas, análise microbiológica.*

This study analyzed biological samples of serum and cloacal “swabs” in 88 birds of different species, to identify potential fungal pathogens (*Candida* sp and filamentous fungi). The presumptive identification of pathogenic bacteria and opportunistic fungi, in wild birds, confirms the possibility of maintenance, transmission and dissemination of these pathogens from birds to humans.

Keywords: *pathogens, infectious diseases, microbiological analysis.*

Introdução

As doenças infecciosas emergentes e re-emergentes têm recebido uma atenção especial desde o final do século XX. De acordo com Escritório Internacional de Epizootias, está ocorrendo uma aceleração de episódios epidemiológicos dessas doenças e o aparecimento de pelo menos uma nova doença a cada ano¹. Estima-se que aproximadamente 75% dessas enfermidades sejam zoonóticas. A própria definição de zoonoses como “doenças ou infecções que se transmitem naturalmente, entre os animais vertebrados e o homem ou vice-versa”, já denota a possível e importante participação de animais silvestres no surgimento ou na manutenção dessas enfermidades na natureza^{2,3}.

O tráfico de animais silvestres é o terceiro maior comércio ilegal do mundo⁴. Durante o tráfico e durante a sua recuperação pelos agentes fiscalizadores, as aves são submetidas a elevado nível de estresse, o que pode favorecer o processo de imunossupressão e, consequentemente, contaminação e colonização por diversos patógenos⁵. Dessa forma, o aumento mundial da criação de animais silvestres tem preocupado órgãos ambientais e de saúde pública, em vista do risco de introdução de espécies hospedeiras exóticas e seus patógenos⁶ e de epidemias em humanos decorrentes da crescente proximidade com estes animais. Neste contexto, o tráfico de animais silvestres se torna um fator agravante na dispersão de patógenos, em função da ausência de controle sanitário durante a movimentação destes animais e pela debilidade física e imunológica a que estão submetidos em virtude da fome, sede e densidades elevadas em espaços inadequados, características do transporte ilegal de fauna⁵.

Como os animais silvestres albergam e transportam vários patógenos como bactérias, fungos, protozoários, parasitos e vírus para a espécie humana, a detecção precoce e precisa gera uma melhor compreensão das causas do surgimento da doença e da Ecologia dos agentes e seus hospedeiros, o que ajudará na prevenção do surgimento e controle de futuros surtos zoonóticos⁷. Entre os animais, as aves silvestres (particularmente as migratórias) podem funcionar como reservatórios para diversos agentes causadores de zoonoses⁸. Alguns desses microrganismos são componentes normais da microbiota

intestinal dos animais, mas altamente invasivos e virulentos ao homem⁹.

O Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), presente em vários Estados, tem a finalidade de albergar animais silvestres resgatados ou apreendidos pelos órgãos fiscalizadores em locais nos quais eles foram trancafiados ilegalmente e/ou sofreram maus tratos. Esses animais são encaminhados à quarentena para receber alimentação adequada, tratamento e serem submetidos a exames específicos para a identificação de doenças, principalmente zoonoses.

Após os resultados dos exames e testes laboratoriais necessários à avaliação das condições biológicas dos animais e definição da possibilidade de sua posterior soltura, são definidos os destinos das aves que, na maioria dos casos, estarão vinculados ao contato direto ou indireto com humanos¹⁰. No presente estudo foram avaliadas as condições sanitárias de 88 aves de diferentes espécies, albergadas no CETAS de Goiânia-GO, com vistas à identificação dos principais agentes microbianos fúngicos (fungos filamentosos e *Candida* sp) presentes em amostras biológicas desses animais.

Metodologia

As amostras de excreção cloacal foram obtidas a partir de 88 aves de diferentes espécies presentes no CETAS do município de Goiânia, no 1º semestre de 2010 e divididas em três grupos (tabela 1) de acordo com a respectiva Ordem (classificação taxonômica) das espécies: Ordem Piciformes, com uma única espécie representante, *Ramphastos toco* ou tucano toco, totalizando 11 espécimes; Ordem Passeriformes, não subdividida em estratos, representada por diversas espécies que não apresentam diferenças anatomo-fisiológicas expressivas e totalizando 25 espécimes e a Ordem Psittaciformes, subdividida em quatro estratos distintos e totalizando 52 espécimes: 20 araras (*Ara ararauna*); 12 papagaios (*Amazona aestiva* e *Amazona amazonica*); 10 maritacas *Aratinga leucophthalma* e 10 periquitos *Brotogeris chiriri* (Vieillot, 1818) e *Aratinga aurea* (Gmelin, 1788).

As amostras de excreção cloacal, para o isolamento e identificação de fungos filamentosos e *Candida* sp, foram coletadas através de “swabs”. Imediatamente após a coleta, os “swabs” foram imersos em um tubo com

10 mL de solução salina a 0,9% e acondicionados sob refrigeração. Essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange, em Anápolis, Goiás. A figura 1 apresenta um fluxograma das etapas e procedimentos realizados para a identificação de agentes infecciosos fúngicos com potencial zoonótico nas amostras de excreção cloacal coletadas.

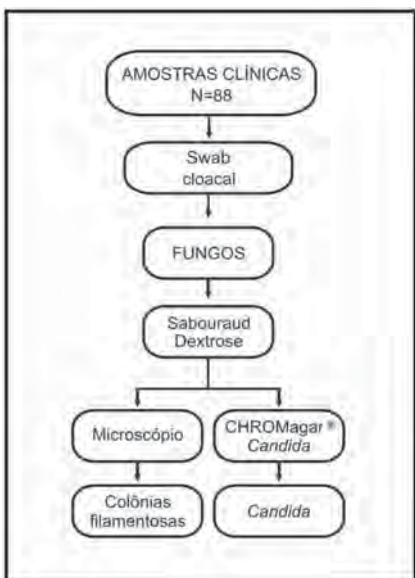


Figura 1. Fluxograma das etapas realizadas para a identificação de fungos com potencial zoonótico em amostras de soro e excreção cloacal de 88 aves de diferentes espécies presentes no CETAS de Goiânia-GO.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E CANDIDA SP

Das suspensões obtidas após a homogeneização dos “swabs”, 1 mL de cada amostra foi depositado em placa de Petri e em seguida, acrescentou-se ágar Sabouraud Dextrose (Neogen Corporation, Michigan) à temperatura de 45°C, deixando-se solidificar após homogeneização¹¹. As placas foram incubadas a 37°C por, no mínimo, 72 horas para cultivo de leveduras e por, no mínimo, 120 horas para cultivo de fungos filamentosos¹¹. A diferenciação entre as colônias leveduriformes e filamentosas foi realizada através das características macroscópicas dos isolados.

Os fungos filamentosos foram identificados por observação microscópica após coloração com o corante azul de lactofenol. As colônias leveduriformes foram

repicadas por esgotamento em placas contendo meio CHROMagar® *Candida* (DIFCO, USA) para identificação presuntiva de algumas espécies de *Candida*^{12,13}.

Resultados e Discussão

A detecção presuntiva dos agentes infecciosos fúngicos foi apresentada na tabela 2 (para as três ordens de aves estudadas) e na tabela 3 (particularmente para cada um dos quatro estratos que constituem os Psittaciformes, representados pelas araras, papagaios, maritacas e periquitos).

A ocorrência de microrganismos oscilou muito entre as ordens (figura 2) e os estratos (figura 3). O maior índice de microrganismos encontrados foi no grupo dos Psittaciformes, com destaque para as araras (que apresentaram a maior incidência dentre os estratos). Nos outros representantes da ordem (papagaios, maritacas e periquitos) a ocorrência dos agentes microbianos foi baixa.

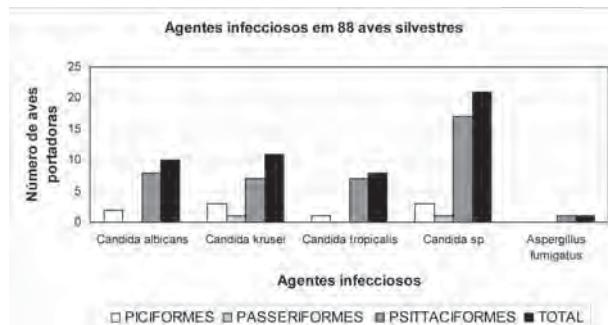


Figura 2. Agentes infecciosos fúngicos em amostras de excreção cloacal de 88 aves silvestres distribuídas em três diferentes Ordens (Piciformes, Passeriformes e Psittaciformes) presentes no CETAS de Goiânia-GO.

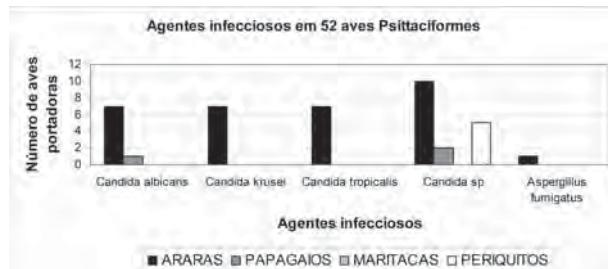


Figura 3. Agentes infecciosos fúngicos em amostras de excreção cloacal de 52 aves da ordem Psittaciformes presentes no CETAS de Goiânia-GO.

Tabela 1. Distribuição dos 88 espécimes de aves silvestres, a partir das quais foram coletados os materiais biológicos no CETAS de Goiânia-GO, em suas respectivas espécies e ordens.

NOME CIENTÍFICO	NOME COMUM	Nº DE AVES
ORDEM PICIFORMES		
Ramphastos toco Statius Muller, 1776	tucano-toco	11
ORDEM PASSERIFORMES		
Chrysomus ruficapillus (Vieillot, 1819)	garibaldi	1
Gnorimopsar chopi (Vieillot, 1819)	pássaro-preto ou graúna	8
Sicalis flaveola (Linnaeus, 1766)	canário-da-terra-verdadeiro	12
Sporophila collaris (Boddaert, 1783)	coleiro-do-brejo	1
Sporophila nigriceps (Vieillot, 1823)	papa-capim ou baiano	1
Turdus amaurochalinus Cabanis, 1850	sabiá-poca	2
ORDEM PSITTACIFORMES		
Amazona aestiva (Linnaeus, 1758)	papagaio-verdadeiro	10
Amazona amazonica (Linnaeus, 1766)	Papagaio-do-mangue ou curica	2
Ara ararauna (Linnaeus, 1758)	arara-canindé	20
Aratinga aurea (Gmelin, 1788)	periquito-coco ou periquito-rei	1
Aratinga leucophthalma (Statius Muller, 1776)	maritaca ou periquitão-maracanã	10
Brotogeris chiriri (Vieillot, 1818)	periquito-de-encontro-amarelo	9
TOTAL		88

Os Passeriformes, por sua vez, apresentaram baixa incidência de fungos. Em apenas duas aves do total de 25 (as duas aves da espécie *Sicalis flaveola*) foram identificadas *Candida* sp. Já nos Piciformes foram encontradas as diversas espécies de *Candida*, mas não foram registrados indivíduos portadores de *Aspergillus fumigatus*.

Candida sp foi o agente infeccioso mais frequente entre as 88 aves analisadas (23,8%): a incidência foi de 27,3%, 4% e 32%, respectivamente nas ordens Piciformes, Passeriformes e Psittaciformes (tabela 2). Os representantes da ordem Psittaciformes, araras, papagaios e periquitos, apresentaram uma incidência de

50, de 16,7 e de 50%, respectivamente. Nenhuma das maritacas estudadas estavam infectadas por *Candida* sp. Já o *Aspergillus fumigatus* foi encontrado em apenas uma das 88 aves estudadas (arara).

Embora as enfermidades fúngicas estejam principalmente associadas à imunossupressão e a doenças intercorrentes, a compreensão dos fatores envolvidos em sua epidemiologia é de fundamental importância para a Saúde Pública¹⁴. Apenas para exemplificar, as leveduras do gênero *Candida*, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* são as espécies mais isoladas em diferentes materiais biológicos de vários animais e são referidas como espécies clinicamente importantes^{12,15}.

Assim, pesquisas associadas a enfermidades fúngicas têm sido desenvolvidas em diversas regiões do mundo. Em um estudo com 325 Psittaciformes de cativeiros na Itália¹⁶, 49,2% das amostras apresentaram positividade para distintas leveduras, dentre elas *Candida albicans* e *Candida krusei*. Este índice foi inferior ao observado no presente trabalho, com o valor de 75,1%, para 52 aves Psittaciformes analisadas. Em estudo realizado no Chile¹⁶, 57,1% dos isolados a partir de 28 “swabs” cloacais correspondiam a *Candida*, não sendo detectada a presença específica de *Candida albicans*. Em outro trabalho, realizado no Brasil¹⁴, foi obtida uma frequência de 11,1% de *Candida* sp em excretas de Passeriformes, provenientes de criatórios da região noroeste de São Paulo, resultado esse um pouco superior ao obtido no presente trabalho (8,0%). Os *Aspergillus* sp, por sua vez, só foram encontrados nos Psittaciformes (figuras 2 e 3), ao contrário de outros estudos, que também registraram a sua presença em excretas de Passeriformes (8,3%) provenientes de criatórios da região noroeste de São Paulo¹⁴.

Um outro aspecto a ser considerado é que o ágar Sabouraud Dextrose não é um meio de cultura seletivo e de acordo com o crescimento, identificação das colônias fúngicas, foram considerados, somente os gêneros oportunistas ou causadores de infecções a humanos, possíveis agentes zoonóticos.

Estes resultados, por sua vez, reforçam a importância do estudo da participação das aves no ciclo de manutenção e disseminação destes agentes infecciosos, uma vez que a *Candida* é um dos principais agentes de infecções oportunistas em humanos com quadro clínico de imunossupressão¹⁴.

Tabela 2. Agentes infecciosos fúngicos em amostras de excreção cloacal de 88 aves silvestres distribuídas em três diferentes Ordens (Piciformes, Passeriformes e Psittaciformes) presentes no CETAS de Goiânia-GO (n representa o número de indivíduos infectados).

Microrganismos	Geral (88 espécimes) n (%)	Piciformes (11 espécimes) n (%)	Passeriformes (25 espécimes) n (%)	Psittaciformes (52 espécimes) n (%)
<i>Candida albicans</i>	10 (11,4)	2 (18,2)	-	8 (15,4)
<i>Candida krusei</i>	11 (12,5)	3 (27,3)	1 (4,0)	7 (13,5)
<i>Candida tropicalis</i>	8 (9,1)	1 (9,0)	-	7 (13,5)
<i>Candida sp</i>	21 (23,8)	3 (27,3)	1 (4,0)	17 (32,7)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1 (1,1)	-	-	1 (1,9)

Tabela 3. Agentes infecciosos fúngicos em amostras de excreção cloacal de 52 aves da ordem Psittaciformes presentes no CETAS de Goiânia-GO (n representa o número de indivíduos infectados).

Psittaciformes (52)				
Microrganismos	Araras (20 espécimes) n (%)	Papagaios (12 espécimes) n (%)	Maritacas (10 espécimes) n (%)	Periquitos (10 espécimes) n (%)
<i>Candida albicans</i>	7 (35,0)	1 (8,3)	-	-
<i>Candida krusei</i>	7 (35,0)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	7 (35,0)	-	-	-
<i>Candida sp</i>	10 (50,0)	2 (16,7)	-	5 (50,0)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1 (5,0)	-	-	-

Conclusões

Estudos sobre a presença agentes infecciosos fúngicos em aves silvestres são importantes para a Saúde Pública e também para a Sanidade Avícola, uma vez que esses podem estar associados a processos epidêmicos, mas são relativamente escassos em Goiânia e Goiás. Como as aves analisadas constituem apenas uma pequena parcela do grande número de espécimes presentes no CETAS-GO, ressalta-se a importância de novas pesquisas com maior número de indivíduos e com outros grupos aviários.

A confirmação presuntiva de fungos oportunistas, como as diferentes espécies de *Candida* e a confirmação de *Aspergillus* apontam para a possibilidade de transmissão, manutenção e disseminação destes agentes infecciosos para outros animais, inclusive a espécie humana. A ordem Piciformes necessita de mais pesquisas vinculadas aos agentes potencialmente zoonóticos, pois existem poucos estudos com este grupo e eles despertam um grande interesse para o tráfico de animais silvestres. Considerando o reduzido número de trabalhos científicos publicados sobre as zoonoses transmitidas por aves

silvestres em Goiânia e em Goiás, os resultados desse estudo poderão fornecer subsídios para que medidas preventivas de controle de doenças infecciosas possam ser aperfeiçoadas e intensificadas.

Referências

1. World Organisation for Animal Health-OIE. Disponível em: http://www.oie.int/eng/press/en_100902.htm. Acesso em 20 dez. 2010.
2. Nunes, O. C. Animais silvestres e zoonoses: O exemplo da Salmonelose em jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*). 2007. Dissertação de Mestrado - Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador.
3. Paul-Pierre, P. Emerging diseases, zoonoses and vaccines to control them. *Vaccine*, 2009, 27, 6435–6438.
4. Pagano, I. S. A.; Sousa, A. E. B. A.; Wagner, P. G. C.; Ramos, R. T. C. Aves depositadas no Centro de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA na Paraíba: uma amostra do tráfico de aves silvestres no estado. *Ornithologia*, 2009, 3, 132-144.
5. RENCTAS. 1 Relatório nacional sobre o tráfico de fauna silvestre. Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres, Brasília. 2001, 108.

6. Schloegel, L. M.; Daszak, P.; Naya, A. Medicina da Conservação: buscando causas e soluções práticas para doenças infecciosas emergentes. *Natureza & Conservação*, **2005**, 3, 29-41.
7. Meslin, F. X. Public health impact of zoonoses and international approaches for their detection and containment. *Veterinaria Italiana*, **2008**, 44, 583-590.
8. Kelly, T. R.; Hawkins, M. G.; Sandrock, C. E.; Boyce, W. M. A Review of Highly Pathogenic Avian Influenza in Birds, With an Emphasis on Asian H5N1 and Recommendations for Prevention and Control. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, **2008**, 22, 1-16.
9. Vasconcellos, S. A. Zoonoses e saúde pública: riscos causados por animais exóticos. *Biológico*, **2001**, 63, 63-65.
10. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis-IBAMA. Campanha Nacional de Proteção à Fauna Silvestre – Relatório Semestral. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br>. Acesso em 06 nov. **2010**.
11. Sidrim, J. C.; Rocha, M. F. G. Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **2004**, 83-101.
12. Odds, F. C.; Bernaerts, R. CHROMagar® Candida, a New Differential Isolation Medium for Presumptive Identification of Clinically Important Candida Species. *Journal of Clinical Microbiology*, **1994**, 32, 1923-1929.
13. Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. A. S. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. São Paulo: Varela, **2001**, 45 e 151.
14. Marinho, M.; Táparo, C. V.; Silva, B. G.; Tencate, L. N.; Perri, S. H. V. Microbiota fúngica de passeriformes de cativeiros da região noroeste do Estado de São Paulo. *Veterinária e Zootecnia*, **2010**, 17, 288-292.
15. Odds, F. C. *Candida* and candidosis: a review and bibliography. *Bailliere Tindall*, **1998**, 468.
16. Mancianti, F.; Nardoni, S.; Ceccherelli, R. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy. *Mycopathologia*, **2002**, 153, 121-124.
17. Díaz, M. C.; González-Hein, G.; González, J. Detección de levaduras en cloaca de dos especies psitácidas nativas en un centro de rehabilitación en Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, **2010**, 42, 105-108.

Talita S. Ramos¹, Keili M. C. Souza¹, Georgia R. S. Sant'Ana^{2,3}, Carlos E. R. Sant'Ana^{4*}, Leo C. F. Silva⁵, Wilia M. E. D. Brito¹, Marco T. A. Garcia-Zapata¹, Darlan F. Morais² & Leonardo R. Almeida²

¹Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Universidade Federal de Goiás, Rua 235, s/n, St. Universitário, CEP 74605-050, Goiânia/GO

²Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange, CEP 75113-630, Anápolis/GO.

³Jardim Botânico de Goiânia (AMMA), CEP 74820-030, Goiânia/GO.

⁴Instituto de Estudos Socioambientais (IESA), Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Cx. Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia/GO.

⁵Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS/IBAMA), Rua 229, nº 95, St. Universitário, CEP 74605-090, Goiânia/GO.

*e-mail: kadu@iesa.ufg.br