

## DIAGNÓSTICO DA ASPERGILOSE EM PINGUINS-DE-MAGALHÃES (*Spheniscus magellanicus*) ATRAVÉS DA TÉCNICA DE IMUNODIFUSÃO

**CABANA, Ângela Leitzke<sup>1</sup>; XAVIER, Melissa Orzechowski<sup>2</sup>; SILVA-FILHO, Rodolfo Pinho<sup>4</sup>; LEITE, Alice Meireles Teixeira<sup>4</sup>; CANABARRO, Paula Lima<sup>4</sup>; MEIRELES, Mário Carlos Araújo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas- Laboratório de Micologia Veterinária/Micvet- cabanangela@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande – Faculdade de Medicina/FAMED- melissaxavier@ig.com.br

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas- Laboratório de Micologia Veterinária/Micvet- Departamento de Veterinária Preventiva- meireles@ufpel.edu.br

<sup>4</sup> Centro de Recuperação de Animais Marinhos CRAM/FURG-musbird@furg.br

### 1. INTRODUÇÃO

Os pinguins pertencem à Ordem *Sphenisciformes*, família *Spheniscidae* e são classificados como aves marinhas (SILVA-FILHO & RUOPPOLO, 2006). A espécie pinguim-de-Magalhães se reproduz na costa da Argentina, Chile e Ilhas Falklands (Malvinas) entre os meses de setembro e março, e migra em direção ao Brasil em busca de alimento, podendo entrar em contato com manchas de óleo no oceano (SILVA-FILHO & RUOPPOLO, 2006; GARCIA-BORBOROGLU et al., 2006; MAZET et al., 2002)

A aspergilose é uma doença fúngica que acomete o trato respiratório, causada por fungos do gênero *Aspergillus*, onde *A. fumigatus* representa 95% dos casos (XAVIER et al., 2006). A enfermidade nos pinguins, geralmente é associada a fatores secundários, especialmente aqueles relacionados a imunossupressão, tais como outras enfermidades, fraqueza causada pela migração e petrolização (XAVIER et al., 2006; ABUNDIS-SANTAMARIA, 2003; PETRY & FONSECA, 2002; RUOPPOLO et al., 2004). Esta micose representa altas taxas de mortalidade na espécie, sendo de difícil diagnóstico. Nesse sentido, observa-se a necessidade de avaliar testes para o diagnóstico *in vivo* e precoce da enfermidade a partir de amostras clínicas de fácil obtenção como o teste sorológico de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA) (BAUCK, 1994; REDIG, 1993; STEVENS et al., 2000; SINGH & PATERSON, 2000; TELL, 2005; GRACZYK, CRANFIELD & KLEIN, 1998).

O trabalho objetivou avaliar a aplicabilidade do monitoramento sorológico através da técnica de imunodifusão radial dupla em gel de ágar (IDGA) no diagnóstico da aspergilose em pinguins em reabilitação.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram incluídos no estudo todos os pinguins-de-Magalhães (*S. magellanicus*) recebidos pelo Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM-FURG) durante o período 06/2009 a 03/2011. Foram coletadas amostras de sangue ao ingresso dos animais, e em casos de suspeita de infecção respiratória e/ou durante monitoramento semanal, as quais foram imediatamente

encaminhadas ao laboratório de micologia da FAMED-FURG para processamento.

Após separação do plasma por centrifugação, o mesmo foi utilizado para realização da técnica de imunodifusão radial dupla em gel de ágar (IDGA) utilizando antígeno e anticorpo (soro controle) comercial (IMMY®) específicos para *A. fumigatus*, e considerando positivas as amostras que apresentaram linha de precipitação contígua a do soro controle positivo (linha de identidade). Em todas as aves que vieram a óbito foi realizada necropsia, para confirmação dos casos de aspergilose através de estudo anatomopatológico e exames micológicos clássicos, utilizados como padrão-ouro no diagnóstico da doença.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dos 55 pingüins-de-Magalhães estudados, nenhum apresentou anticorpos anti-*Aspergillus fumigatus* na chegada ao CRAM, porém após a segunda coleta, com cerca de 15 dias de cativeiro onze animais apresentaram IDGA positiva.

A predisposição dos pinguins à aspergilose é associada a fatores fisiológicos do trato respiratório destas aves, além de ser agravada pelo esforço físico proveniente de sua migração e consequente imunossupressão (RUSSEL, HOLCOMB & BERKNER, 2003). Estas situações frequentemente encontradas em centros de reabilitação e aliadas ao tempo de permanência em cativeiro aumentam a chance de infecção por *Aspergillus* sp., o que concorda com os dados encontrados neste trabalho, onde cinco animais vieram a óbito por aspergilose em média após três meses de cativeiro, sendo que todos apresentaram IDGA positiva cerca de um mês antecedente ao óbito. Outros seis animais também positivaram na IDGA durante o monitoramento, dois não apresentaram nenhum sinal clínico compatível com a aspergilose, permanecendo assintomáticos por mais cinco meses até serem liberados. Quatro animais restantes não puderam ser acompanhados, pois tiveram liberação imediata.

Em vista do exposto por diferentes autores no que tange a conservação de pinguins (MAZET et al., 2002; SILVA-FILHO & RUOPPOLO, 2006; CARRASCO et al., 2001) e no sentido de prevenir a aspergilose, tem-se um item relacionado à prevenção da micose no protocolo de reabilitação da espécie. Tal fato justifica-se pelas altas taxas de mortalidade em pinguins com aspergilose.

Sugere-se assim boa sensibilidade no teste de IDGA *in vivo* para pinguins-de-Magalhães em cativeiro e desta forma tem-se preconizado a prevenção da micose e monitoramento sorológico semanal dos animais que são recebidos no centro para reabilitação, culminando com diminuição das altas taxas de mortalidade nesses animais atribuídas a aspergilose (ABUNDIS-SANTAMARIA, 2003; BAUCK, 1994; GRACZYK, CRANFIELD & KLEIN, 1998; REDIG, 1993; STEVENS et al., 2000).

### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se com estes dados preliminares que o monitoramento sorológico através da IDGA parece ser uma ferramenta útil para detecção *in vivo* da aspergilose em pinguins-de-Magalhães, pois demonstra uma boa sensibilidade para detecção precoce da doença nessas aves silvestres.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUNDIS-SANTAMARIA E. Aspergillosis in birds of prey. 2003. **Available at:** <http://www.aspergillus.man.ac.uk> Accessed: June 2011.

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

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

GARCÍA-BORBOROGLU, P., BOERSMA, P.D., RUOPPOLO, V., REYES, L., REBSTOCK, G.A., GRIOT, K., HEREDIA, S.R., ADORNES, A.C., SILVA, R.P. Chronic oil pollution harms Magellanic penguins in the Southwest Atlantic. **Marine Pollution Bulletin**. 2006; **52**:193-198.

GRACZYK T.K., CRANFIELD M.R., KLEIN P.N. Value of antigen and antibody detection, and blood evaluation parameters in diagnosis of avian invasive Aspergillosis. **Mycopathologia**. 1998; **140**:121-127.

MAZET, J.A.K., NEWMAN, S.H., GILARDI, K.V.K., TSENG, F.S., HOLCOMB J.B., JESSUP, D.A., ZICCARDI, M.H. Advances in Oiled Bird Emergency Medicine and Management. **Journal of Avian Medicine and Surgery** 2002; **16**(2): 146-149.

PETRY, M.V., FONSECA, V.S.S. Effects of human activities in the marine environment on seabirds along the coast of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ornitologia Neotropical**. 2002; **13**:137-142.

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

RUOPPOLO V, ADORNES AC, NASCIMENTO AC, SILVA-FILHO RP. Reabilitação de pinguins afetados por petróleo. **Clínica Veterinária** 2004; **51**: 78-83.

RUSSEL M., HOLCOMB J., BERKNER A. 30-Years of Oiled Wildlife Responses Statistics. **Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Effects of Oil and Wildlife Conference**. Hamburg, Germany, 2003: 1-18.

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

SINGH N., PATERSON D.L. *Aspergillus* Infections in Transplant Recipients. **Clinical Microbiology Reviews** 2005; **18**: 44-69

STEVENS D.A., KAN V.L., JUDSON M.A., MORRISON V.A., DUMMER S., DENNING D.W., BENNETT J.E., WALSH T.J., PATTERSON T.F., PANKEY G.A.

Practice Guidelines for Diseases Caused by *Aspergillus*. **Clinical Infectious Diseases**. 2000; **30**:696-709.

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

XAVIER, O. M., LEITE, A.T.M., SOARES, M.P., OSÓRIO, L.G., MARTINS, A., ALBANO, A.P., CARAPETO, L.P., NOBRE, M.O., SILVA- FILHO, R.P., MEIRELES, M.C.A. Aspergilose em pingüim- de- Magalhães (*Spheniscus magellanicus*)- Relato de caso. **Revista Veterinária e Zootecnia**, 2006.p. 29-32.