

MICROBIOTA FÚNGICA DE PASSERIFORMES DE CATIVEIROS DA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO.

Márcia Marinho¹
Cilene Vidovix Táparo²
Bruna Gonçalves Silva³
Luciano Nery Tencate⁴
Sílvia Helena Venturoli Perri⁵

RESUMO

As aves são hospedeiras de uma rica microbiota fúngica que pode atuar como patógenos para o homem e outras espécies animais, acarretando, conseqüentemente, graves problemas de saúde pública. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a participação das aves mantidas em criadouros na epidemiologia de doenças infecciosas como a criptococose, e aspergilose, verificando conseqüentemente a manutenção e propagação de patógenos no meio ambiente. Foram colhidas 36 amostras de excretas de passeriformes e processadas e cultivadas em Agar Sabouraud Dextrose 4% a temperatura ambiente e a 37° C. As colônias fúngicas isoladas foram classificadas de acordo com suas características morfológicas e tintoriais. Posteriormente, aquelas em forma de leveduras foram repicadas em Agar Níger, e incubadas a 30° C. Em uma amostra houve crescimento de mais de um tipo de colônia. Foi verificada a presença de 25,0% de *Penicillium* spp., 19,4% de *Trichosporon* spp., 13,9% de *C. gattii*, 11,1% de *C. neoformans*, 11,1% de *Candida* spp., 8,3% de *Rhizomucor* spp., 8,3% de *Aspergillus* spp., 2,8% de *Nigrospora* spp. e 2,8% de *Geotrichum* spp. Pelo exposto, conclui-se que os pássaros eliminam continuamente microrganismos patogênicos, em suas fezes atuando de forma definitiva na ecoepidemiologia de doenças infecciosas.

Palavras-chave: Microbiota fúngica, *Cryptococcus* spp., passeriformes, epidemiologia.

MICROBIOTA FROM CAPTIVE PASSERIFORMES OF THE NORTHWEST REGION OF SÃO PAULO

ABSTRACT

Birds are hosts for a rich fungal microbiota which can act as potent pathogens for humans and other species of animals, causing thereby serious public health problems. The objective of this study was to evaluate the participation of birds kept in containers in the epidemiology of infectious diseases such as cryptococcosis and aspergillosis, thus verifying the maintenance and spread of pathogens in the environment. 36 samples of excretas of passeriformes were collected and were cultivated in Sabouraud Dextrose Agar 4% at room temperature and 37°C. The isolated fungal colonies were classified according to their morphological and staining characteristics. Subsequently, those in yeast form were peaked in Niger Agar, incubated at 30°C. In one sample showed growth of more than one type of colony and there was verified the presence of 25.0% of *Penicillium* spp., 19.4% of *Trichosporon* spp., 13.9% of *C. gattii*,

¹ Professora Microbiologia- Departamento de Produção e Saúde Animal- Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, UNESP, Campus de Araçatuba. Endereço: Rua: Clóvis Pestana, 793. CEP: 16050-680, Araçatuba-SP. Telefone: (18) 3636-1382. mmarinho@fmva.unesp.br

² Técnica do Departamento de Produção e Saúde Animal- Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, UNESP, Campus de Araçatuba. cilene@fmva.unesp.br

³ Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, Unesp, Campus de Araçatuba. bru_juba@hotmail.com

⁴ Pós-Graduando do Curso de Medicina Veterinária, Unesp, Campus de Araçatuba. lucianovni2@yahoo.com.br

⁵ Professora de Estatística do Departamento de Produção e Saúde Animal, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, UNESP, Campus de Araçatuba. shvperri@fmva.unesp.br

11.1% of *C. neoformans*, 11.1% of *Candida* spp., 8.3% of *Rhizomucor* spp., 8.3% of *Aspergillus* spp., 2.8% of *Nigrospora* spp. and 2,8% of *Geotrichum* spp. It can be concluded by the exposit that birds shed continuously pathogenic microorganisms in their feces acting in definitive form in the infectious diseases ecoepidemiology.

Key words: Fungal microbiota, *Cryptococcus* sp., passeriformes, epidemiology

MICROFLORA DE PASERIFORMES DE CAUTIVERIOS DE LA REGIÓN NOROESTE DE SÃO PAULO

RESUMEN

Las aves son reservorios de una gran microbiota de hongos que pueden actuar como patógenos para los seres humanos y otras especies de animales, causando así graves problemas de salud pública. El objetivo de este estudio fue evaluar la participación de las aves que están en cautiverio, como reservorios de enfermedades infecciosas en este caso, criptococosis y aspergilosis, así como, verificar permanencia y propagación de agentes patógenos en el medio ambiente. Se recogieron 36 muestras de excretas de passeriformes y procesadas y cultivadas en Ágar Sabouraud Dextrosa al 4% e incubadas a una temperatura ambiente de 37°C. Las colonias de hongos aislados fueron clasificados según sus características morfológicas y de tinción. Posteriormente, aquellas en forma de levaduras se incubaron a 30 ° C en Agar Níger. En una muestra se registró un crecimiento de más de un tipo de colonia. Se encontró la presencia de 25,5% de *Penicillium* spp., 19,4% de *Trichosporon* spp., 13,9% de *C. gattii*, 11,1% de *C. neoformans*, 11,1% de *Candida* spp., 8,3% de *Rhizomucor* spp., 8,3% de *Aspergillus* spp., 2,8% de *Nigrospora* spp. y 2,8% de *Geotrichum* spp. Por lo tanto, concluimos que las aves continuamente eliminan microorganismos patógenos en las heces, lo cual es su forma de interactuar en la epidemiología de las enfermedades infecciosas.

Palabras-clave: micoflora, *Cryptococcus* spp., passeriformes, epidemiología.

INTRODUÇÃO

A ordem Passeriforme é numerosa, diversificada e devido aos atrativos, inúmeras são mantidas em cativeiro, provenientes de lugares tanto regularizados quanto de comércio ilegal, o que predispõe um maior contato entre o homem e possíveis agentes infecciosos.

Após os primeiros relatos no Brasil em 1941, o estudo da microbiota fúngica que ressalta o potencial zoonótico das aves como dispersoras do *Cryptococcus* tem sido objeto de vários estudos epidemiológicos (1,2). A relevância ocorre em função da criptococose ser a quarta causa mais frequente de infecção oportunista em pacientes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, e entre as fúngicas, a de maior prevalência (3), além de ser a terceira infecção fúngica mais frequente em transplantados de órgãos sólidos, após candidíase e aspergilose (4). Vale ressaltar, que a ocorrência de doenças fúngicas certamente é subestimada devido a limitações dos métodos de diagnósticos (3).

A manutenção de animais selvagens ou exóticos em cativeiro é uma atividade bastante comum no Brasil, sendo os passeriformes e psittacíformes muito populares como animais de estimação (5). Entretanto, as excretas dessas aves representam uma fonte de contaminação dos ambientes domésticos e públicos pelo fungo *Cryptococcus neoformans*, tornando-se um fator de risco para a ocorrência da criptococose. Embora as enfermidades fúngicas estejam principalmente associadas à imunossupressão e a doenças intercorrentes, a compreensão dos

fatores envolvidos na epidemiologia das enfermidades é fundamental. Entretanto, no que se refere a Criptococose alguns aspectos não estão esclarecidos, como a origem de *C. neoformans* nos excrementos, uma vez que o fungo não é isolado do trato intestinal de aves, onde teria dificuldade de sobreviver à competição microbiana (2).

O conhecimento a respeito da microbiota presente em passeriformes é essencial, uma vez que as aves podem atuar na cadeia epidemiológica de importantes zoonoses, potencializando a preocupação e os cuidados necessários com estes animais, principalmente quando criados em cativeiros, mormente em locais fechados, protegidos da ação de chuvas e raios solares, o que aumentaria a possibilidade da disseminação e manutenção de inúmeros patógenos no ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram processadas 36 amostras de excretas de pássaros, provenientes de oito criatórios, todos credenciadas e legalizadas junto ao IBAMA da região Noroeste de São Paulo, todas gentilmente cedidas pelo setor de Ornitopatologia para processamento imediato, sendo oriundas das seguintes espécies: 10 amostras eram provenientes de curiós (*Oryzoboryus angolensis*), 6 amostras de canário do reino (*Serinus canaria*), 10 amostras de bicudo (*Oryzoborus maximiliani*), 4 de sabiá coleira (*Turdus albicollis*), 6 de azulão (*Passerina brissoni*). As amostras de fezes foram processadas e semeadas segundo o método de STAIB modificado (1) em meio de cultura de Agar Sabouraud dextrose a 4% em dois cultivos, sendo um submetido à temperatura ambiente e outro em estufa bacteriológica a 37°C, por no mínimo 15 dias. Posteriormente, as colônias em forma de leveduras foram repicadas em placas contendo Agar Níger e incubadas em estufa com temperatura entre 25 a 30°C. As colônias isoladas foram classificadas de acordo com suas características morfológicas e tintoriais. No Agar Níger as colônias de *C. neoformans* e *C. gattii* adquirem uma coloração marrom, devido à atividade fenoloxidase em presença de substrato contendo compostos fenólicos. Para diferenciar as espécies de *C. neoformans* e *C. gattii* foi utilizado o teste de CGB (canavanina-glicina-azul de bromotimol), como proposto por Know-Chung et al. (6). Os isolados foram repicados em meio CGB e incubados a 30°C por até cinco dias, observando-se diariamente a coloração do meio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve uma alta ocorrência de fungos na microbiota de passeriformes, estando presentes em 100% das amostras analisadas e em uma amostra houve crescimento de mais de um tipo de colônia. As prevalências foram de 25,0% (9/36) de *Penicillium* spp., 19,4% (7/36) de *Trichosporon* spp., 13,9% (5/36) de *C. gatti*, 11,1% (4/36) de *C. neoformans*, 11,1% (4/36) de *Candida* spp., 8,3% (3/36) de *Rhizomucor* spp., 8,3% (3/36) de *Aspergillus* spp., 2,8% (1/36) de *Nigrospora* spp. e 2,8% (1/36) de *Geotrichum* spp. (Figura 1).

Ressalta-se a alta ocorrência de *Cryptococcus* spp (25,0%) presente nas amostras analisadas. A patogenicidade do microrganismo alia-se à característica dúbia do agente podendo atuar de forma oportunista, em indivíduos imunocomprometidos (2), ou como agente etiológico primário em pacientes imunocompetentes, dependendo da espécie que infecte o indivíduo, no caso de ser o *C. neoformans*, como oportunista e no caso de ser o *C. gatti*, como primário (7).

Filiú et al. (2) em experimento com aves de cativeiro da cidade de Campo Grande/MS, diagnosticaram positividade em 50% das amostras colhidas, comprovando a ocorrência saprofítica de *C. neoformans*, além de enfatizarem a necessidade de vigilância das condições de higiene e limpeza do ambiente destas aves, principalmente em locais com circulação

pública ou domicílios de pacientes imunocomprometidos, para minimizar a exposição ao patógeno. O isolamento de *C. gatii* a partir de fragmentos teciduais e ou secreções de animais domésticos e silvestres vem sendo cada vez mais frequente. Os dados obtidos reforçam a preocupação de mais uma ordem das aves como dispersores destes agentes patogênicos, o que possibilita a transmissão, nestes casos, tanto para visitantes, quanto principalmente para os tratadores, os quais apresentam um contato mais próximo. Ainda podemos inferir a ocorrência de 11,1% para *Candida* spp podendo provavelmente associar a presença deste patógeno nas fezes como um indicativo do comprometimento do estado geral das aves.

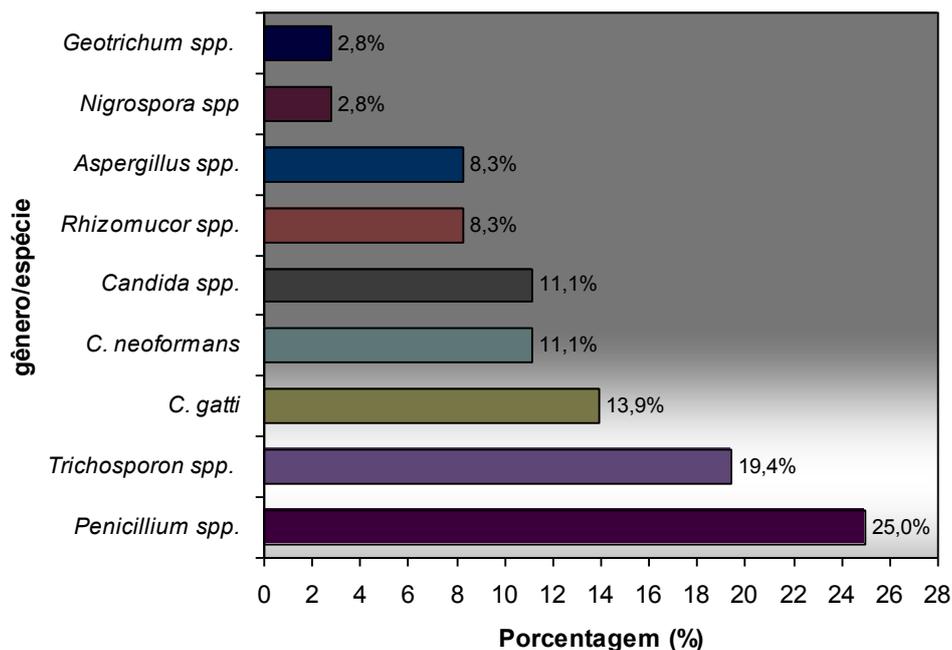


Figura 1. Resultados expressos em porcentagem da microbiota fúngica isolada de amostras fecais de passeriformes de cativeiro da região Noroeste de São Paulo, em 2008.

A relevância das zoonoses aviárias é que, por serem infecções assintomáticas em aves, vistas equivocadamente como saudáveis, dificulta um possível diagnóstico e tratamento, aumentando assim as chances de transmissão aos proprietários (8). Manter a higiene nas instalações, usar luvas de borracha para que não haja contato direto com as excretas, lavar e higienizar bem as mãos após contato e manejo das aves são fundamentais para se evitar possíveis transmissão de zoonoses (9). Outro fator relevante a análise dos resultados é a presença de fungos produtores de micotoxinas, como no caso o *Penicillium* spp (25%) e o *Aspergillus* sp (8,3%) ambos secretores de ácido ciclopiazonico, um potente metabólico, frequentemente encontrado em ração de suínos e aves (10).

Embora as aves tenham uma aparência saudável, concluiu-se que as mesmas funcionam como hospedeiras para microrganismos patogênicos, eliminando diversas formas de levedura com potencial zoonótico para o meio ambiente. Semelhantemente aos resultados obtidos por Mancianti et al. (8) que observaram uma positividade de 49,2% para *Candida albicans* entre as amostras colhidas de diferentes espécies de psitacídeos assintomáticos provenientes de cativeiros.

Apesar das enfermidades fúngicas estarem principalmente associadas à imunossuprimidos e às doenças intercorrentes, a compreensão dos fatores envolvidos na sua epidemiologia é fundamental. Entretanto, no que se refere à Criptococose alguns aspectos

não estão esclarecidos, como a origem de *C. neoformans* nos excrementos, uma vez que o fungo não é isolado do trato intestinal de aves, onde teria dificuldade de sobreviver à competição microbiana (2).

Pelo exposto, a necessidade do conhecimento da microbiota que compõem o trato gastrintestinal de passeriformes é de fundamental importância para a compreensão da epidemiologia de agentes potencialmente patogênicos para o homem e animais. Conclui-se que a identificação de possíveis hospedeiros, para fungos é vital na elaboração de estratégias que coíbam a sua disseminação e a sua prevalência no ambiente.

AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Marcelo Vasconcelos Meirelles pelo fornecimento das amostras.

REFERÊNCIAS

1. Machado CC, Amaral AA, Severo LC. *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* isolado do solo. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1993; 35: 77-9.
2. Filiú WFO, Wanke B, Agüen ASM, Vilela EO, Macefo RCL, Lazéra M. Cativoiro de avos como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2002; 35: 591-5.
3. Leal AL. Diferenciação das espécies de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gatti* utilizando a metodologia de PCR multiplex e determinação do perfil epidemiológico de pacientes com meningite criptocócica [dissertação]. Porto Alegre: Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.
4. Vilchez RA, Fung J, Kusne S. *Cryptococcosis* in organ transplant recipients: an overview. Am J Transplant. 2002; 2: 575-80.
5. Queiroz JPAF, Sousa FDN, Lage RA, Izael MA, Santos AG. Criptococose – uma revisão bibliográfica. Acta Vet Bras. 2008; 2: 32-8.
6. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. Am J Epidemiol. 1984; 120: 123-30.
7. Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Ghannoum M, Manavathu E, Ostrosky-Zeichner L, Pfaller M, et al. Quality control and reference guidelines for clsi broth microdilution susceptibility method (M38-A document) for *Amphotericin B*, *Itraconazole*, *Posaconazole*, and *Voriconazole*. J Clin Microbiol. 2005; 43: 5243-6.
8. Mancianti F, Nardoni S, Ceccherelli R. Occurrence of yeasts in psittacine droppings from captive birds in Italy. Mycopathologia. 2002; 153: 121-4.
9. Cubas ZS. Papagaio – saiba mais sobre eles. Foz do Iguaçu; 2009 [cited 2009 Jul 09]. Available from: < <http://www.saudeanimal.com.br>>.
10. Suksupath S, Cole EA, Bryden D. Toxicity of cyclopiazonic acid in the laying hen. In: Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium; 1989, Sydney. Sydney; 1989. p.94.

Recebido em: 30/06/2009

Aceito em: 17/05/2010