

ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS EM UM CASO DE ENCEFALITE E PNEUMONIA POR *Aspergillus* spp. Em *Sporophila maximiliani* (PASSERIFORMES: EMBERIZIDAE)

Sabrina Destri Emmerick Campos¹, Carlos Henrique Campello Costa², Danielle Freitas Aires de Almeida³, Thiago Luiz Muniz Medeiros Pereira³, Nádia Regina Pereira Almosny⁴.

¹Doutoranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil. E-mail: s.destri@gmail.com;

²Médico Veterinário, Pesquisador, Centro Estadual de Pesquisa em Sanidade Animal Dr. Geraldo Manhães Carneiro, Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro, Niterói, Brasil;

³Médico Veterinário Autônomo, Niterói, Brasil;

⁴Professora Doutora Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.

Recebido em: 30/09/2014 – Aprovado em: 15/11/2014 – Publicado em: 01/12/2014

RESUMO

Sporophila maximiliani é uma ave pertencente à Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. O fungo *Aspergillus* spp. está amplamente disseminado, podendo desencadear doença respiratória em aves de companhia e produção, embora formas disseminadas ocorram com menor frequência. A fase crônica da doença em geral ocorre em aves adultas imunocomprometidas. Considerando que o diagnóstico é essencialmente histopatológico, objetivou-se relatar um caso de aspergilose pulmonar e cerebral em uma ave nativa ameaçada de extinção no Brasil. Foram analisados fragmentos de órgãos de um exemplar adulto de *S. maximiliani*. Colorações por hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico-Schiff e Grocott foram confeccionadas. Microscopicamente, pulmão e cérebro apresentaram múltiplos granulomas com áreas de necrose, infiltrado inflamatório mononuclear e células gigantes. As colorações especiais evidenciaram hifas consistentes com *Aspergillus* spp. em ambas as amostras. A aspergilose geralmente está associada à pneumonia e aerossaculite, porém, também pode ser responsável por infecções disseminadas. Concluiu-se que bichos de criações comerciais são sensíveis à aspergilose crônica e que esta pode evoluir para encefalite granulomatosa e óbito. Alerta-se para a necessidade de assistência e esclarecimento quanto às medidas profiláticas, uma vez que a ave em questão pertence à fauna nativa e encontra-se ameaçada de extinção.

PALAVRAS-CHAVE: Aspergilose cerebral, aspergilose pulmonar, ave, cativo, histopatologia.

HISTOPATHOLOGICAL FEATURES IN A CASE OF ENCEPHALITIS AND PNEUMONIA BY *Aspergillus* spp. IN *Sporophila maximiliani* (PASSERIFORMES: EMBERIZIDAE)

ABSTRACT

Sporophila maximiliani is listed as one of the Brazilian species threatened with extinction. *Aspergillus* spp. is widespread and can lead to respiratory disease in

different birds, although disseminated infection occurs less frequently. The chronic aspergillosis usually occurs in immunocompetent adult birds. Whereas diagnosis is essentially histopathological, the aim of this study was to report one case of pulmonary and cerebral aspergillosis in an endangered native bird in Brazil. Samples of internal organs of an adult of *S. maximiliani* were analyzed and hematoxylin-eosine, periodic acid-Schiff, and Grocott staining were made. Histopathological examination of lungs and brain disclosed multiple granulomas, areas of necrosis, inflammatory mononuclear cells, and giant cells. Special staining techniques showed hyphae bearing characteristics of *Aspergillus* spp. in both tissues. Aspergillosis is mainly associated with pneumonia and air sacs lesions, however, may also be responsible for disseminated infections. It was concluded that *S. maximiliani* from commercial breeders are sensitive to chronic aspergillosis and that the disease can progress to brain granulomas and death. This study alert about the need of veterinary assistance for preventive measures, once the animal is a native bird and is threatened with extinction.

KEYWORDS: Cerebral aspergillosis, pulmonary aspergillosis, bird, captivity, histopathology

INTRODUÇÃO

O bicudo, *Sporophila maximiliani* (= *Oryzoborus maximiliani*), é uma ave da ordem Passeriformes, Família Emberizidae, inserida na Lista Oficial das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção, conforme consta na Instrução Normativa MMA nº 03, de 27 de maio de 2003. Internacionalmente, essa espécie passou de quase ameaçada, em 2012, para vulnerável, em 2013, demonstrando rápido declínio de suas populações, decorrente de tráfico, perda e destruição de seu habitat (IUCN, 2013). Os bicudos são animais apreciados pelo canto, frequentemente encontrados em cativeiro e submetidos a torneios, competições e situações de estresse que os tornam susceptíveis a muitas enfermidades oportunistas.

O fungo *Aspergillus* spp. é considerado saprófita e está amplamente distribuído no ambiente, em especial na matéria vegetal em decomposição (DUNGWORTH, 1993; BAUCK, 1994; PAIXÃO et al., 2004). A aspergilose é uma doença respiratória decorrente da inalação de esporos dispersos no ambiente, que ocorre em aves de companhia e de produção (BAUCK, 1994; PHALEN, 2003; CEOLIN et al., 2012).

A forma clínica de maior importância e ocorrência é a forma respiratória, que afeta principalmente os pulmões e sacos aéreos (DUNGWORTH, 1993; PAIXÃO et al., 2004; CEOLIN et al., 2012). Entretanto, além de ser uma doença respiratória, a aspergilose pode ser responsável por infecções disseminadas (ANDREATTI FILHO, 2009; COURCHESNE & GARNER, 2009; OLIAS et al., 2010). A ocorrência dessa enfermidade micótica pode representar perda econômica, embora não configure uma doença contagiosa (KUNKLE, 2003; CEOLIN et al., 2012).

A forma crônica da enfermidade ocorre principalmente em aves adultas, com incidência pouco significativa e curso clínico prolongado (KUNKLE, 2003; TESSARI et al., 2004). Em geral, a doença é associada ao imunocomprometimento do animal, pelo uso prolongado de corticóides ou antimicrobianos ou pela estadia em cativeiros inadequados (BAUK, 1994; ANDREATTI FILHO, 2009). A manutenção das aves em instalações pouco ventiladas e com alta umidade aumenta o risco da doença, uma vez que essas condições intensificam o crescimento do fungo (PHALEN, 2003; TESSARI et al., 2004).

Grande parte dos diagnósticos é realizada pós-morte, por meio de cultura ou histopatologia utilizando colorações especiais (ANDREATTI FILHO, 2009). Na maioria dos casos a terapia é difícil e inviável economicamente (ARNÉ et al., 2011).

Considerando a importância da aspergilose e seu diagnóstico em aves de cativeiro, objetivou-se relatar um caso de óbito por pneumonia e encefalite por *Aspergillus* spp. em uma ave nativa ameaçada de extinção no Brasil.

RELATO DE CASO

Um exemplar adulto macho de *S. maximiliani*, proveniente de criatório da cidade de Niterói, Rio de Janeiro, veio a óbito com quadro clínico respiratório, anorexia e prostração, não responsivos à antibióticos, além de incoordenação e ataxia. O animal permanecia em tempo integral em gaiola, em ambiente fechado, úmido e de elevada densidade populacional.

Foi realizada necropsia da referida ave e fragmentos de órgãos diversos foram fixados em formaldeído 10% e encaminhados ao Centro Estadual de Pesquisa em Sanidade Animal Dr. Geraldo Manhães Carneiro, da Empresa de Pesquisa Agropecuária do estado do Rio de Janeiro (Pesagro-Rio).

Cortes dos tecidos foram realizados e processados de acordo com as técnicas histológicas rotineiras de inclusão em parafina. Colorações por hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico-Schiff (PAS) e Grocott foram confeccionadas. As lâminas foram avaliadas em microscopia óptica nos aumentos de 40x, 100x e 400x.

Ao corte observou-se que os pulmões apresentavam focos esbranquiçados e endurecidos superficialmente sugestivos de colônia fúngica. Os demais órgãos encaminhados não apresentaram alterações macroscópicas significativas.

O exame histopatológico do pulmão pela coloração de HE revelou granulomas multifocais, associados com áreas de necrose contendo imagens negativas de hifas, circundadas por intenso infiltrado inflamatório mononuclear e células gigantes multinucleadas (Figura 1A). As colorações especiais de PAS e Grocott evidenciaram numerosas hifas septadas de ramificação consistente com *Aspergillus* spp. (Figura 1B e 1 C).

Microscopicamente, o cérebro apresentou reação inflamatória granulomatosa mononuclear focal, semelhante à evidenciada nos pulmões, contendo poucas imagens sugestivas de hifas na coloração de HE, contudo, as colorações especiais (Figura 1D) evidenciaram granuloma contendo hifas septadas consistentes com *Aspergillus* spp. no fragmento de cérebro avaliado. Os demais tecidos observados microscopicamente não apresentaram alterações dignas de nota.

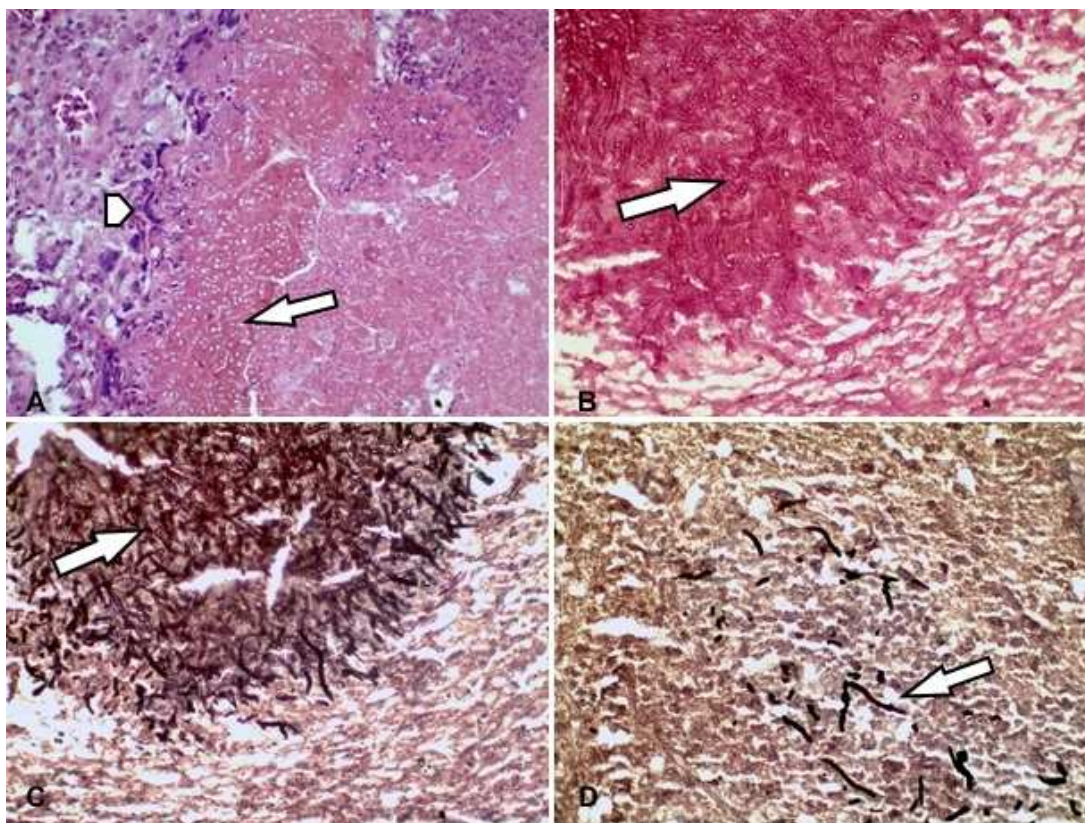


FIGURA 1. A: Corte histológico de pulmão de *Sporophila maximiliani*. Granuloma com área de necrose contendo imagens negativas de hifas (seta) e infiltrado inflamatório com presença de células gigantes multinucleadas (cabeça da seta). Coloração Hematoxilina-Eosina, aumento 400x. **B:** Corte histológico de pulmão de *S. maximiliani* evidenciando hifas de *Aspergillus* spp. (seta). Coloração PAS, aumento 400x. **C:** Corte histológico de pulmão de *S. maximiliani* evidenciando hifas de *Aspergillus* spp. (seta). Coloração Grocott, aumento 400x. **D:** Corte histológico de cérebro de *S. maximiliani* evidenciando granuloma com hifas de *Aspergillus* spp. (seta). Coloração Grocott, aumento 400x. Fonte: Pesagro-Rio, Niterói, 2014.

DISCUSSÃO

Em estudo retrospectivo sobre as doenças respiratórias em aves atendidas em uma unidade hospitalar de São Paulo, MARIETTO-GONÇALVES et al. (2008) identificaram prevalência de 26% de aspergilose, demonstrando a importância dessa enfermidade na sanidade aviária.

A aspergilose geralmente está associada à pneumonia e aerossaculite granulomatosas (PAIXÃO et al., 2004). Cabe ressaltar que a pneumonia granulomatosa foi um achado marcante no presente relato.

Em animais adultos, a infecção se estabelece por inalação de esporos e, em geral, está relacionada com condições de estresse, imunossupressão, corticoterapia

ou antibioticoterapia prolongadas e estadia em local inadequado, sendo comuns os casos esporádicos (BAUK, 1994; KUNKLE, 2003; PAIXÃO et al., 2004). O caso em questão ratifica essa afirmação, uma vez que no criatório apenas o exemplar avaliado foi acometido pela aspergilose, reforçando a necessidade de adoção de medidas preventivas, que segundo ANDREATTI FILHO (2009) seriam a melhor forma para evitar surtos da doença, visto que o tratamento das aves afetadas é considerado ineficaz.

Na fase inicial, a infecção tende a ser localizada no trato respiratório inferior, com pequenos nódulos caseosos esbranquiçados nos pulmões ou sacos aéreos (BAUCK, 1994). Tais nódulos estavam presentes nesse caso, onde foram observados focos esbranquiçados endurecidos ao corte dos pulmões.

O diagnóstico definitivo é obtido, na maioria dos casos, por exame histopatológico. Granuloma, infiltrado inflamatório e células gigantes foram aspectos descritos por outros autores em frangos e psitacídeos (VASCONCELOS et al., 2011; CEOLIN et al., 2012; MARIETTO-GONÇALVES et al., 2014) e que também estiveram presentes neste relato. De acordo com DUNGWORTH (1993), lesões constituídas por áreas de necrose circundadas por células inflamatórias e múltiplos granulomas são consistentes com o processo patológico e demonstram cronicidade, ideia ratificada no presente caso.

A encefalite granulomatosa não é descrita com frequência em aves com aspergilose. Pouco é relatado sobre uma apresentação cerebral de encefalite ou meningoencefalite com ataxia e incoordenação, além da presença de hifas em colorações especiais de fragmentos de cérebro (RANCK JR & MILES, 2001). O animal analisado apresentou quadro clínico neurológico evidente, embora não houvesse alterações macroscópicas no cérebro. Contudo, a microscopia pela coloração de HE evidenciou encefalite granulomatosa focal, destacando-se a presença de hifas de *Aspergillus* spp. no granuloma, quando realizada a coloração de Grocott. A visualização das hifas apenas no foco granulomatoso demonstra a relação entre a presença do fungo e a encefalite. Devido à manifestação tardia de alterações neurológicas, é possível que a aspergilose cerebral seja subdiagnosticada.

Nas aves mais velhas, a aspergilose tende a ser uma doença crônica e esporádica geralmente associada a indivíduos imunocomprometidos (KUNKLE, 2003; ARNÉ et al., 2011). O histórico composto por dificuldade respiratória, associado a situações de estresse recente ou a ausência de resposta à terapia antimicrobiana podem servir de subsídios ao diagnóstico clínico (CEOLIN et al., 2012). Assim, reforça-se a necessidade de história clínica detalhada para a solicitação de exame histopatológico. O histórico respiratório não responsivo a antibióticos e as informações acerca da habitação do animal foram importantes na conduta diagnóstica no presente estudo.

CONCLUSÃO

O exame histopatológico com auxílio de colorações especiais permitiu concluir que bichos de criações comerciais podem ser susceptíveis à aspergilose crônica e que esta foi decorrente de manejo impróprio, levando a estresse e imunossupressão, sendo por esta razão observado um caso isolado. O fungo pode colonizar o sistema nervoso central, levando à encefalite granulomatosa e óbito. A ave em questão pertence à fauna nativa brasileira e encontra-se ameaçada de extinção, sendo frequentemente criada em condições ilegais de cativeiro. Esse,

muitas vezes, tem influência direta no estado imune, tornando as aves mais sensíveis às doenças oportunistas. Alerta-se para a necessidade de suporte médico veterinário e esclarecimento aos criadores quanto aos fatores predisponentes da aspergilose e adoção das medidas profiláticas, com melhoria das condições de higiene, umidade e ventilação.

REFERÊNCIAS

ANDREATTI FILHO, R. L. **Enfermidades Micóticas**. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; FAGNANI ZUAZANE, M. A. (eds.). *Doenças das Aves*. vol 2. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p. 805-818.2009.

ARNÉ, P.; THIERRY S.; WANG D.; DEVILLE M.; LE LOC'H G.; DESOUTTER A.; FÉMÉNIA F.; NIEGUITSILO A.; HUANG W.; CHER-METTE R.; GUILLOT J. *Aspergillus fumigatus* in Poultry. **International Journal of Microbiology**, New York, v. 1, p. 1-14, 2011.

BAUK, L. **Mycoses**. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. (eds.). *Avian Medicine: Principles and Application*. Lake Worth: Wingers Publishing, INC., p. 997-1006.1994.

CEOLIN, L. V.; CORRÊA, I. M. O.; GALIZA, G. J. N.; LOVATO, M.; KOMMERS, G. D.; RISSO, N.; SANTURIO, J. M. Diagnóstico macro e microscópico de Aspergilose em frangos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 40, n. 3, p. 1-4, 2012.

COURCHESNE, S.; GARNER, M. What is your diagnosis? Saccular aortic aneurysm. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 23, n. 1, p. 69-71, 2009.

DUNGWORTH, D. L. **The respiratory System**. In: JUBB, K.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. (eds). *Pathology of Domestic Animals*, v 2, 4ed. San Diego: Academic Press, p. 539-699.1993.

IUCN 2013. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2013.2. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 23 abr. 2014.

KUNKLE, R. A. **Fungal infections**. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J. R.; FADLY, A. M.; MCDUGALD; L. R.; SWAYNE, D. E. (eds). *Diseases of Poultry*. 11ed. Ames: Iowa State Press, p. 883-902.2003.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; GRANDI, F.; ROCHA, N. S.; ANDREATTI FILHO, R. L. Secondary *Aspergillus fumigatus* infection associated with coloidal goiter in a black-masked lovebird (*Agapornis personata*). **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 8, n. 1, p. 68-73, 2014.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; LIMA, E. T.; ANDREATTI FILHO, R. L. Doenças respiratórias em aves atendidas no laboratório de ornitopatologia da FMVZ-UNESP/Botucatu-SP, Brasil, nos anos de 2005 a 2006. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 13, n.1, p. 40-45, 2008.

OLIAS P.; HAUCK R.; WINDHAUS H.; VAN DER GRINTEN E.; GRUBER A. D.; HAFEZ H. F. Articular Aspergillosis in Hip Joints in Turkeys. **Avian diseases**, v. 54, n. 3, p. 1098-1101, 2010.

PAIXÃO, T. A.; NASCIMENTO, E. F.; PARRA, P. N. S.; SANTOS, R. L. Aspergilose em avestruz (*Struthio camelus*) no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 573-576, 2004

PHALEN, D. N. Common bacterial and fungal infectious diseases in pet birds. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 25, n. 3, p. 43-48, 2003.

RANCK JR, F. M.; MILES, A. M. **Aspergillosis. Slide Study set 9**. 10f. American Association of Avian Pathologists Inc, Florida. 2001.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I.; ZANATTA, G. F. Prevalência De Aspergilose Pulmonar Em Pintos De Um Dia De Idade. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 75-77, 2004.

VASCONCELOS, T. C. B.; LONGA, C. S.; ALBUQUERQUE, D. D. A.; COSTA, C. H. C.; BRUNO, S. F. Aspectos clínicos e anatomopatológicos de aspergilose e candidíase em calopsita (*Nymphicus hollandicus*): relato de caso. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 106, n. 577-580, p. 109-112, 2011.