



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JOYCE MILENA BARBOSA TEIXEIRA MELO

DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE
***Aspergillus* EM PASSERIFORMES CATIVOS DO**
CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS SILVESTRES DE
PETROLINA - PERNAMBUCO

PETROLINA
2013

JOYCE MILENA BARBOSA TEIXEIRA MELO

**DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE
Aspergillus EM PASSERIFORMES CATIVOS DO
CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS SILVESTRES DE
PETROLINA - PERNAMBUCO**

Trabalho apresentado a
Universidade Federal do Vale do
São Francisco - UNIVASF, Campus
Ciências Agrárias, como requisito
total para a obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Patrícia Avello
Nicola Pereira
Co-orientador: Nicholas Kaminsky

Petrolina
2013

	Teixeira-Melo, Joyce Milena Barbosa.
T266d	Detecção e identificação de espécies de <i>Aspergillus</i> em Passeriformes cativos do Centro de Triagem de Animais Silvestres de Petrolina - Pernambuco / Joyce Milena Barbosa Teixeira Melo. -- Petrolina, 2013.
	40f.: Il.; 29 cm.
	Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2013.
	Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Avello Nicola.
	Referências.
	1. Aspergilose. 2. Micose. 3. Aves. 4. Cativoiro. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco.
	CDD: 589.2

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca SIBI/UNIVASF

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

JOYCE MILENA BARBOSA TEIXEIRA MELO

DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Aspergillus* EM
PASSERIFORMES CATIVOS DO CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS
SILVESTRES DE PETROLINA - PERNAMBUCO

Trabalho apresentado como requisito total para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovado em: ___ de _____ de _____.

Banca Examinadora

Dra. Patrícia Avello Nicola – Orientadora
Universidade Federal do Vale do São Francisco

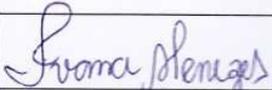
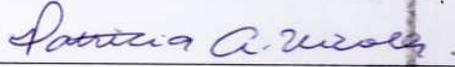
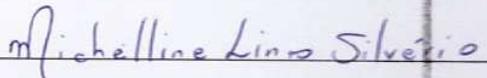
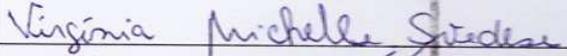
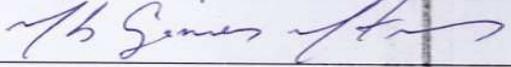
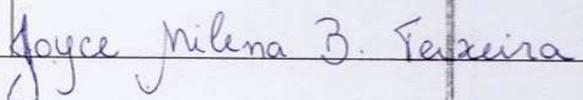
Dra. Michelline Lins Silvério – Primeira Examinadora
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Dra. Virgínia Michelle Svedese – Segunda Examinadora
Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Dr. Marlos Gomes Martins – Examinador Suplente
Universidade Federal do Vale do São Francisco.

ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DA ALUNA JOYCE MILENA BARBOSA TEIXEIRA, REGULARMENTE MATRICULADA NO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, TITULAÇÃO BACHAREL, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO.

Aos dezenove (19) dias do mês de setembro de 2013 às 09 horas, no Auditório do Museu de Fauna da Universidade Federal do Vale do São Francisco, iniciou-se a defesa pública do Trabalho de Conclusão de Curso, intitulado “**Deteção e identificação de *Aspergillus* sp. em Passeriformes cativos no CETAS de Petrolina, Pernambuco**”. Como orientadora do referido TCC a ser sustentado, a Profa.Dra. Patricia Avello Nicola faz a apresentação do aluno e da Banca Avaliadora, tendo como componentes a **Profa. Dra. Michelline Lins Silvério**, a **Profa. Dra. Virginia Michelle Svedese** da Universidade Federal do Vale do São Francisco, e, como membro suplente, o **Prof. Dr. Marlos Gomes Martins** da Universidade Federal do Vale do São Francisco. A **Profa. Patricia Avello Nicola** informa que a aluna tem 45 (quarenta e cinco) minutos para fazer a exposição do seu trabalho. Com a palavra, a aluna inicia sua fala agradecendo aos membros da Banca Avaliadora por terem aceitado o convite. A aluna expôs seu trabalho durante quarenta (40) minutos, abordando os tópicos: identificação de *Aspergillus*; Ocorrência de *Aspergillus* em aves de cativeiro. Como presidente da Banca Avaliadora, a Profa. Patricia Avello Nicola passa a palavra para a Profa. Michelline Lins Silvério que faz suas considerações. A seguir, a Profa. Patricia Avello Nicola passa a palavra para a Profa. Dra. Virginia Michelle Svedese que faz suas considerações. Com a palavra, a Profa. Patricia Avello Nicola faz suas considerações a respeito do trabalho desenvolvido. A seguir, a Banca Examinadora se retira para reunião em sala anexa do auditório para atribuir a nota final. A Banca Avaliadora deliberou que a referida Monografia desenvolvida pelo aluno em questão foi **APROVADA**, atribuindo **NOTA FINAL dez (10)**. A aluna deverá reformular seu trabalho conforme estabelecido no regimento específico no prazo de 10 (dez) dias: Sim Não. A aluna deverá alterar o título do trabalho (Sim Não) e informa na versão definitiva do TCC o seguinte título: **Deteção e identificação de espécies de *Aspergillus* em Passeriformes cativos no CETAS de Petrolina, Pernambuco**. De acordo com o Regulamento do Trabalho de Conclusão de Curso do Colegiado dos Cursos de Graduação em Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Vale do São Francisco, eu, secretária *ad hoc*, lavrei a presente ata que vai por mim assinada, pelos membros da Banca Avaliadora e pelo aluno.

NOME DA SECRETÁRIA AD HOC: Ivana Menezes	
NOME DO ORIENTADOR – PRESIDENTE DA BANCA: Patricia Avello Nicola	
NOME DO MEMBRO 1: Michelline Lins Silvério	
NOME DO MEMBRO 2: Virginia Michelle Svedese	
NOME DO SUPLENTE: Marlos Gomes Martins	
NOME DO DISCENTE: Joyce Milena Barbosa Teixeira	

*Ao meu querido pai, inspiração
para seguir esta linda
profissão.*

AGRADECIMENTOS

É com enorme prazer que alcanço mais este degrau em minha vida. Uma etapa acaba de ser transposta e, para tal, contei com o apoio de muitos. Por isso, venho agradecer a todos que me apoiaram durante esta jornada.

Aos meus pais, avós, irmã e esposo, que tanto me ajudaram nos momentos mais difíceis, mas também vibraram comigo perante cada vitória.

À minha querida orientadora Patrícia, pela confiança em mim investida e pela paciência em me auxiliar e guiar pelo caminho do sucesso.

Ao Professor Luís Cezar, pelos ensinamentos e momentos de descontração, ao professor Marlos Martins pelo auxílio no início deste projeto, bem como aos demais professores do Curso de Ciências Biológicas pela construção do conhecimento e do perfil para atuar no âmbito da pesquisa.

Aos demais “zumbis” do TCC e amigos que levarei para sempre, Karlla, Dafne, Felipe, Kariny e Iardley, que tanto me ajudaram durante o curso e principalmente nesta etapa final.

À Michelline, por me auxiliar e tirar dúvidas, além da enorme contribuição, identificando e confirmando as espécies fúngicas deste trabalho.

Aos colegas ornitólogos Nicholas, Jean e Karlla, bem como às colegas Camila, Tatiana, Isis e Adriana que me auxiliaram diretamente nas coletas das amostras, ao Eric Aian pelo auxílio com o inglês, ao Wesley Lopes pela contribuição no melhoramento das imagens e aos funcionários e demais estagiários do CEMAFAUNA que sofreram junto comigo durante a caçada ao Galo-de-campina!

À instituição de ensino Universidade Federal do Vale do São Francisco pela contribuição à minha formação profissional e ao Ministério da Integração Nacional, pelo financiamento do presente estudo.

RESUMO

As aves canoras são alvo do comércio ilegal de animais silvestres, sendo direcionadas aos Centros de Triagem de Animais Silvestres quando apreendidas pelos órgãos de fiscalização ambiental. No cativeiro, estes animais são submetidos a programas de relocação, porém um dos principais inimigos da recuperação destas aves é a aspergilose, que afeta principalmente hospedeiros imunodeprimidos ou nutricionalmente deficientes. Este trabalho objetivou detectar, isolar e identificar as espécies de *Aspergillus* presentes nas cavidades oral e cloacal de 40 Passeriformes depositados no CETAS de Petrolina. Os animais pertencem a seis espécies distribuídas em três famílias distintas: Traupidae (*Paroaria dominicana*), Turdidae (*Turdus rufiventris*) e Emberezidae (*Sicalis flaveola*, *Zonotrichia capensis*, *Sporophilla cearulenses*, *Sporophilla angolensis* e *Schistochlamis ruficapillus*). As amostras fúngicas foram coletadas com Swabs estéreis e semeadas em Cezapec Dox Ágar. Após o isolamento em colônias puras, cada colônia foi repicada para duas outras placas contendo igual meio de cultivo, uma placa para o desenvolvimento da técnica de cultivo e lamínula e outra para o repique central, onde foram observados os caracteres taxonômicos microscópicos e macroscópicos respectivamente. Ao todo, foram isoladas seis espécies de *Aspergillus*, *A. clavatus*, *A. foetidus*, *A. niger* var *niger*, *A. niveus*, *A. japonicus* var *japonicus* e *A. ochraceus*. Com exceção da espécie *Sicalis flaveola*, todas as espécies de aves apresentaram-se positivas para pelo menos uma espécie de *Aspergillus*. A espécie fúngica mais abundante foi *A. clavatus*, ocorrendo em aproximadamente 50% do total de amostras e em todas as famílias representadas. *A. ochraceus* também foi encontrado em todas as famílias estudadas, porém em menor frequência que o *A. clavatus*. O *A. japonicus* ocorreu nas famílias Thraupidae e Emberezidae, enquanto o *A. foetidus* e *A. niger* ocorreram nas famílias Emberezidae e Turdidae, respectivamente. Este trabalho é inédito, visto que não há estudos contemplando a identificação de *Aspergillus* em nível taxonômico de espécie em Passeriformes. O resultado principal deste estudo é animador, visto que as espécies *A. fumigatus* e *A. flavus*, consideradas mais patogênicas para aspergilose não foram isoladas em nenhuma amostra. Como em aves este tipo de zoonose se caracteriza muitas vezes por infecções assintomáticas, geralmente o diagnóstico é realizado apenas após a necropsia do indivíduo. Portanto, é de grande importância a realização de trabalhos que constatem antecipadamente a presença de agentes fúngicos de importância médico-veterinária.

Palavras-chave: Aspergilose. Micose. Aves. Cativeiro.

ABSTRACT

The songbirds are targets the illegal trade in wild animals, being targeted to Centers Wildlife Screening when seized by environmental inspection agencies. In captivity, these animals are subjected to relocation programs, but one of the main enemies of the recovery of these birds is aspergillosis, which primarily affects immunocompromised hosts or nutritionally deficient. This study aimed to detect, isolate and identify *Aspergillus* species present in the oral cavity and cloacal of 40 passerines CETAS deposited in Petrolina. The animals belonging to six species distributed in three distinct families: Traupidae (*Paroaria dominicana*), Turdidae (*Turdus rufiventris*) e Emberezidae (*Sicalis flaveola*, *Zonotrichia capensis*, *Sporophilla cearulenses*, *Sporophilla angolensis* e *Schistochlamis ruficapillus*). The fungal samples were collected with sterile swabs and plated on agar Cezapeç Dox. After isolation in pure colonies, each colony was peaked to two other plates containing the same culture medium, a plaque technique for developing the coverslip culture and subculture and one for the center where the taxonomic characters were observed microscopic and macroscopic respectively. In total we isolated six species of *Aspergillus*, *A. clavatus*, *A. foetidus*, *A. niger* var *niger*, *A. niveus*, *A. japonicus* var *japonicus* and *A. ochraceus*. With the exception *Sicalis flaveola* species, all species of birds were positive for at least one species of *Aspergillus*. The most abundant fungal species was *A. clavatus*, occurring in approximately 50% of samples, and all the families represented. *A. ochraceus* was also found in all families, but at a lower frequency than *A. clavatus*. The *A. japonicus* occurred in families Thraupidae and Emberezidae, while *A. foetidus* and *A. niger* occurred in families Emberezidae and Turdidae, respectively. This work is unpublished, since no studies contemplating the identification of *Aspergillus* species taxonomic level of passerines. The main result of this study is encouraging, since the species *A. fumigatus* and *A. flavus*, considered more pathogenic aspergillosis were not isolated in any sample. As in birds such zoonoses are often characterized by asymptomatic infections, usually the diagnosis is made only after the autopsy of the individual. Therefore, it is of great importance to carry out work which discover in advance the presence of fungal agents of medical and veterinary importance.

Key-words: Aspergillosis. Mycosis. Bird. Captivity

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Animais experimentais. 20

Tabela 2 - Espécies de *Aspergillus* encontradas nas amostras orais e cloacais de passeriformes mantidos em cativeiro no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Petrolina-PE. 25

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Coleta das amostras. A) oral e B) cloacal em *Paroaria dominicana*. 22
- Figura 2 - Cultura pura de *Aspergillus clavatus* através da técnica de estriamento em Czapek Dox Agar a $\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 23
- Figura 3 - Cultivo central de *Aspergillus ochraceus* em Czapek Dox Agar a $\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$. A) Anverso da colônia aos 7 dias de incubação. B) Reverso da colônia aos 7 dias de incubação. Determinação do diâmetro da colônia. 23
- Figura 4 - Cultivo em lamínula de *Aspergillus niger* em Czapek Dox Agar a $\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$. A) Aos 2 dias de cultivo e B) aos 8 dias de cultivo. 24
- Figura 5 – Frequência de ocorrência de espécies de *Aspergillus* registradas em passeriformes cativos no Centro de Triagem de Animais Silvestres em Petrolina (PE). 26
- Figura 6 – Riqueza de espécies de espécies de *Aspergillus* por família de Passeriformes cativos no Centro de Triagem de Animais Silvestres em Petrolina (PE). 27
- Figura 7 - Riqueza de espécies de *Aspergillus* em relação às amostras coletadas por espécie de passeriformes. Amostras orais – barras brancas e Amostras cloacais – barras pretas. 28
- Figura 8 - Dendograma de similaridade de Jaccard (UPGMA) entre as espécies de passeriformes quanto à composição de espécies de *Aspergillus*. 28
- Figura 9 - Dendograma de similaridade de Jaccard (UPGMA) entre as famílias de passeriformes quanto à composição de espécies de *Aspergillus*. 29
- Figura 10 - *Aspergillus clavatus*. A) Colônia em Czapek Dox Agar aos 7 dias de incubação a $\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; B) Ápice do conidióforo (vesícula). 29
- Figura 11 - *Aspergillus niger* var. *niger*. A) Colônia em Czapek Dox Agar, aos 7 dias incubação a $\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$. B) Corpo de frutificação. 30

Figura 12 - <i>Aspergillus japonicus</i> var. <i>japonicus</i> A) Colônia em Czapec Dox Agar, aos sete dias de incubação a ± 25 °C B) Conidióforo.....	31
Figura 13 - <i>Aspergillus foetidus</i> . A) Colônia em Czapec Dox Agar aos sete dias de incubação a ± 25 °C B) Conidióforo e conídios.	32
Figura 14 - <i>Aspergillus ochraceus</i> . A) Colônia em Czapec Dox Agar, aos sete dias de incubação a ± 25 °C. B) Conidióforo e conídios.	33
Figura 15 - <i>Aspergillus niveus</i> . A) Colônia em Czapec Dox Agar, aos sete dias de incubação em CZ a ± 25 °C; B) Conidióforo e conídios.	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1. PASSERIFORMES, COMÉRCIO ILEGAL E MANEJO SANITÁRIO	14
2.2. O GÊNERO <i>ASPERGILLUS</i> E A ASPERGILOSE.....	16
2.3. ASPERGILOSE EM AVES.....	18
2.4. ASPERGILOSE EM PASSERIFORMES	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS DE CATIVEIRO	20
3.2. COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO	21
3.3. ANÁLISE LABORATORIAL	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34

1. INTRODUÇÃO

As aves são as principais vítimas do comércio ilegal de animais silvestres em razão da sua exuberante beleza e qualidade vocal. (RENCTAS, 2001).

Dentre os pássaros com maior habilidade vocal estão os pertencentes às famílias Thraupidae, Turdidae e Emberezidae, que apresentam grande variedade de cantos monossilábicos e, por esta razão, sofrem grande pressão de caça, movimentando o comércio ilegal de aves silvestres (SICK, 1997; BEZERRA; CARVALHO; SILVA, 2010). Os dados acerca desta atividade demonstram que anualmente há uma alarmante retirada de aproximadamente 38 milhões de espécimes silvestres da natureza, sobretudo quando se sabe que o índice de mortalidade dos espécimes capturados chega a 90% devido às más condições de captura e transporte (RENCTAS, 2001; PACHECO, 2003).

Grande parte desses animais é transportada pelas rodovias, onde são instaladas as operações de fiscalização por órgãos como a Polícia Federal (RENCTAS, 2001). Quando ocorre a apreensão, as aves são direcionadas para os Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) mais próximos, onde costumam ser submetidas a programas de reintrodução na natureza, atentando-se para que não representem risco ecológico ou sanitário às populações nativas (BRACONARO et al., 2011). Para tal, é importante conhecer a composição da sua microbiota, visto que especialmente as aves podem atuar na cadeia epidemiológica de importantes zoonoses, potencializando a preocupação e os cuidados necessários com estes indivíduos, principalmente quando mantidas em locais fechados, que favorecem a disseminação e manutenção de inúmeros patógenos no ambiente (MARINHO et al., 2010). Pelo motivo supracitado, o IBAMA determina através da Instrução Normativa 179 de 25 de junho de 2008, a realização de exames laboratoriais anteriormente a reintrodução de animais confiscados (IBAMA, 2008).

Dentre as zoonoses que afetam aves em cativeiro, a principal é a aspergilose, doença fúngica ocasionada por diversas espécies do gênero *Aspergillus*, sobretudo *A. fumigatus* (TELL, 2005).

A aspergilose pode manifestar-se de forma aguda ou crônica. Para desenvolver a forma aguda, o hospedeiro necessita apenas entrar em contato com um grande volume de esporos durante um curto espaço de tempo, enquanto para desenvolver a forma crônica, é necessário que o hospedeiro inale ou se exponha a pequenas quantidades de esporos por longos períodos de tempo (REGID, FULLER, VANS, 1980; ABUNDIS-SANTAMARÍA, 2003).

Esta doença é capaz de provocar diversas manifestações clínicas, todas determinadas pela resposta imunológica do hospedeiro. Assim, quando o sistema imunológico encontra-se debilitado, elava-se a probabilidade de ocorrerem infecções por *Aspergillus* spp. dado seu caráter oportunista (SALES, 2009).

O presente estudo objetivou detectar, isolar e identificar espécies de *Aspergillus* em amostras orais e cloacais de passeriformes cativos e estimar a frequência, a riqueza e a similaridade destas espécies por família, espécie e por amostras orais e cloacais das aves.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. PASSERIFORMES, COMÉRCIO ILEGAL E MANEJO SANITÁRIO

A ordem Passeriforme compreende os pássaros propriamente ditos, que caracterizam-se principalmente por manter uma homogeneidade anatômica e morfológica. No entanto, são aparentemente muito diversificados quanto aos hábitos alimentares, sendo o hábito granívoro o mais difundido no grupo (SANTOS, 1985). Esta ordem surgiu há aproximadamente 90 milhões de anos no hemisfério meridional, e alberga aproximadamente 5.700 espécies no mundo (SICK, 1997, HARRISON; LIGHTFOOT. 2005).

No Brasil, a ordem Passeriforme abrange 1.020 espécies (CBRO, 2011) distribuídas por todo o território. No entanto, grande parte destes animais possui valiosa habilidade vocal, sendo a estrutura da siringe, aparelho fonador

das aves, o órgão responsável pela emissão das vocalizações mais elaboradas (SICK, 1997).

Os pássaros canoros, possuem maior habilidade vocal, e por isso, são muito procurados pelos criadores de aves (SILVEIRA e MÉNDEZ, 1999), sendo os animais mais disputados no comércio ilegal (BEZERRA et al., 2010), representando 82% do total de apreensões pelo IBAMA entre os anos de 1999 e 2000 (RENCTAS, 2001). Nacionalmente, este comércio segue uma rota Norte-Sul, de modo que os animais são levados das regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, com destino ao Sul e Sudeste. Inclusive, cidades ganharam fama enquanto fornecedoras de animais silvestres como Recife-PE, Curaçá-BA e Santarém-PA. (RENCTAS, 2001)

Aves confiscadas do tráfico costumam ser submetidas a programas de reintrodução na natureza, atentando-se para que não representem risco ecológico e sanitário à população nativa, pois considera-se que o contato intra e interespecífico pode desempenhar um importante papel na transmissão de doenças (BRACONARO et al., 2011). Além disso, o ambiente do cativeiro, apesar dos esforços dos profissionais na manutenção de um rigoroso manejo sanitário, é um ambiente favorável à disseminação de muitas doenças, a maioria de caráter zoonótico, conforme descrito por Montali e Migaki (1980).

Marinho et al. (2010) relataram que os passeriformes doentes ou saudáveis são hospedeiros de uma rica microbiota e, portanto, potenciais transportadores de vários microorganismos. Há registros de muitas doenças comuns em aves cativas, provocadas por diversos agentes como vírus (*Poxvírus*, *Poliomavirus*, *Paramyxovirus*, *Herpesvirus*, *Citomegalovirus*), bactérias (*Mycoplasma* spp, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas* spp., *Mycobacterium* spp.) e fungos (*Macrorhabdus ornithogaster*, *Candida* spp., *Microsporium* spp. e *Aspergillus* spp.) (HARRISON; LIGHTFOOT, 2005). Assim o conhecimento sobre o status sanitário de animais apreendidos do tráfico e que serão realocados possibilita uma avaliação mais fidedigna para classificá-los como portadores de microorganismos patogênicos, permitindo, caracterizá-los como elemento esclarecedor da epidemiologia de doenças transmissíveis (BRACONARO et al., 2011).

2.2. O GÊNERO *ASPERGILLUS* E A ASPERGILOSE

Aspergillus é um gênero composto por aproximadamente 270 espécies e possui distribuição cosmopolita. A maioria das espécies é de ocorrência rara, porém, outras estão entre as mais comuns do planeta (KIRK et al., 2008). Sistemáticamente, situa-se no Reino Fungi, *sub-reino Dikaria*, Divisão Ascomycota, subdivisão *Pezizomycotina*, classe *Eurotiomycetes*, ordem *Eurotiales*, família *Trichocomaceae*.

Seus representantes reproduzem-se geralmente de modo assexuado através da produção de conídios, sendo chamados de anamórficos. No entanto, espécies como *Aspergillus nidulans* e *A. glaucus* apresentam também reprodução sexuada, produzindo corpos de frutificação (ascomas) e esporos sexuosos (ascósporos) (KEARNS e LOUDIS 2003). As espécies de *Aspergillus* são sapróbias e habitam preferencialmente o solo, mas podem ser isolados em amostras de água, ar, plantas e animais (DOS SANTOS, 2011). Seus esporos são dispersos pelo vento, sendo esta a via mais comum de contágio (SALES, 2009). Segundo Lacaz et al. (1998) várias espécies de *Aspergillus* causam infecções; no entanto, as mais comuns são *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus*.

Aspergilose é o nome dado à infecção micótica provocada por qualquer espécie pertencente ao gênero *Aspergillus*. Lacaz et al. (1998) constataram que em humanos com sistema imunológico atuante, a aspergilose pode manifestar-se sob a forma de infecções alérgicas como asma, aspergilose broncopulmonar saprofítica, alveolite alérgica extrínseca e aspergilose broncopulmonar alérgica além de infecções superficiais como infecção cutânea, otomicose e sinusite. Já em hospedeiros imunodeprimidos as infecções são mais graves, desenvolvendo-se sob a forma de aspergiloses pulmonares invasivas em pacientes transplantados (NUCCI e MAIOLINO, 2000), aspergiloses cutâneas, infecções sinoorbitais e aspergiloses pulmonares, que podem evoluir para traqueobronquites invasivas, aspergiloses

pulmonares necrotizantes crônicas e agudas unifocais, além de manifestarem-se também sob a forma de aspergilose do sistema nervoso central e aspergilose disseminada (LACAZ et al., 1998).

Existem ainda infecções secundárias associadas a tecidos lesionados, tais como ceratites e endoftalmites, infecções em tecidos que sofreram queimaduras, osteomielite, infecção de enxerto vascular e aspergiloma ou “bola fúngica”, infecção mais comum caracterizada por um aglomerado de micélio recoberto por tecido fibrótico contendo células inflamatórias. Os aspergilomas são normalmente encontrados nas cavidades pulmonares (LACAZ et al., 1998).

Grande parte das espécies de *Aspergillus* produz toxinas, dentre elas o grupo das aflatoxinas merece destaque, pois está entre as micotoxinas mais comuns formando um complexo de aproximadamente 20 compostos produzidos como metabólitos secundários por fungos como: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* e *A. fumigatus*, dentre outros. A aflatoxina B1, por exemplo, é produzida pelo *A. flavus* e possui ação hepatotóxica, assim como a ocratoxina A, produzida por *A. ochraceus* e *A. niger var. niger* (ABARCA, 1994). No entanto, para produzir tais toxinas, é necessário que estes organismos encontrem-se sob condições ideais de temperatura, umidade, oxigênio e substrato (ABUNDIS-SANTAMARÍA, 2003).

A aspergilose pode apresentar-se sob duas formas de infecção, aguda ou crônica. Para uma manifestação aguda ocorrer é necessário que o hospedeiro inale uma exorbitante quantidade de esporos, desencadeando uma rápida colonização pulmonar. Abundis-Santamaría (2003) relatou que aves de rapina expostas a feno contaminado por *Aspergillus spp.* morreram em 48 horas. Já a forma crônica e mais comum da doença normalmente ocorre concomitantemente a eventos estressantes e outras doenças, quando o hospedeiro encontra-se com o sistema imunológico ineficaz.

A fonte de contágio mais comum em humanos é por via aérea, podendo evoluir para infecções graves em pacientes imunodeprimidos, como portadores de infecção avançada por HIV, neutropenia prolongada e imunodeficiência primária e transplantados de pulmão e medula óssea (SALES, 2009).

A manifestação da aspergilose é relativamente incomum em mamíferos, no entanto existem registros da doença em cachorros, a partir da ocorrência de aspergilose sinonasal provocada principalmente por *Aspergillus fumigatus* e *A. terreus* (TELL, 2005). Há registros da ocorrência de *Aspergillus* em felídeos que desenvolveram micose em razão de imunodepressão, infecções virais concomitantes, transplantes renais ou durante processos quimioterápicos (TELL, 2005), como também em felídeos selvagens sadios mantidos em cativeiro, confirmando seu estado de portador assintomático (BENTUBO et al., 2006). Zangirolami Filho et al. (2008) observaram a presença de *Aspergillus* em infecção da parede da bolsa gular em cavalos, enquanto Juffo (2010) diagnosticou abortos em bovinos provocados pela infestação de *Aspergillus*. Tell (2005) constatou pneumonia causada por aspergilose em golfinhos livres na natureza e Ávila et al. (2004) descreveram a presença de *Aspergillus* sp. na pele e pelos de macacos prego, bugio e sagui.

2.3. ASPERGILOSE EM AVES

A aspergilose está entre as principais causas de mortalidade de aves no mundo, incluindo tanto as aves cativas como os animais que vivem livres. Oportunistas, os fungos do gênero *Aspergillus* podem permanecer no organismo de aves saudáveis como sapróbios e sob condições ideais ocasionarem infecções, sobretudo no trato respiratório (FRAGA; MEDEIROS; NEVES, 2011). Segundo CEOLIN et al. (2012), algumas características anatômicas das aves tornam-nas mais susceptíveis a infecções do trato respiratório, tais como: a não existência de epiglote para prevenção de entrada de partículas no trato respiratório inferior, a falta de diafragma, resultando na inabilidade de produzir reflexo de tosse e a distribuição limitada de células ciliadas no trato respiratório (ABUNDIS-SANTAMARÍA, 2003).

São vários os grupos de aves que apresentam infecções crônicas ou agudas por espécies de *Aspergillus*. Carreta-Júnior et al. (2010) diagnosticaram o óbito de um *Pteroglossus aracari* (araçari), pertencente à ordem Piciforme, por pneumonia e aerossaculite aguda causados por *Aspergillus* sp. Segundo

ABUNDIS-SANTAMARÍA (2003), as aves de rapina pertencentes à ordem Acipritiforme (gaviões e águias) possuem predileção à aspergilose causada por *Aspergillus fumigatus*, em especial espécies como o açor-do-norte (*Accipiter gentilis*), o falcão-gerifalte (*Falco rusticolus*), a coruja-das-neves (*Nyctea scandiaca*), o falcão-patudo (*Buteo lagopus*), o falcão-de-cauda-vermelha (*Buteo jamaicensis*) e a águia-real (*Aquila chrysaetos*), sendo este patógeno responsável pelo óbito de 15% a 30% das aves de rapina em cativeiro.

Em psitacídeos, Fraga; Medeiros e Neves, (2011) isolaram quatro espécies do gênero *Aspergillus* - *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* e *A. ochraceus* - após experimento contemplando amostras da mucosa oral e orofaríngea.

Em aves domésticas, é letal a chamada pneumonia de incubadora, que ocorre quando a contaminação por *Aspergillus* afeta o ovo. Além do sistema respiratório, a aspergilose também pode causar dermatite, osteomicose, oftalmite, encefalite, artrite e aneurisma aórtico (CEOLIN et al., 2012). Estudos demonstram o crescimento de espécies de *Aspergillus* em amostras advindas da saliva, faringe, traqueia e seios nasais de aves saudáveis, no entanto apenas as mais susceptíveis desenvolvem a aspergilose (FRAGA; MEDEIROS; NEVES, 2011).

Segundo o **Field Manual of Wildlife Diseases** (1999), a aspergilose é a principal causa de mortalidade de mergulhões e outras aves marinhas em centros de reabilitação, assim como de pinguins cativos em zoológicos. Este documento relata ainda que a aspergilose é muito comum em aves marinhas que foram expostas a algum contaminante ambiental, como ocorrido no Canadá com gansos contaminados por chumbo.

2.4. ASPERGILOSE EM PASSERIFORMES

Estudos envolvendo a microbiota de passeriformes são muito importantes, sobretudo em aves cativas submetidas a programas de relocação, visto que estes animais, não devem representar risco sanitário ou ecológico para as populações livres na natureza (Braconaro et al., 2010).

Ainsworth; Rewell (1949), Harrison; Lightfoot (2005) e Braconaro et al. (2010) realizaram estudos com a microbiota fúngica de passeriformes saudáveis de cativeiro isolando diversos gêneros, inclusive *Aspergillus*, em várias amostras. Sagave et al. (2010) diagnosticaram septicemia fúngica, ou seja, infecção generalizada por *Aspergillus* sp. em *Carduelis* sp. (pintassilgo-europeu).

No entanto, o diagnóstico para aspergilose em animais vivos pode ser muito difícil, pois algumas vezes esta doença apresenta-se assintomática, podendo nestes casos ser detectada por meio de técnicas laboratoriais como testes sorológicos, citológicos, histopatológicos e de cultura fúngica, assim como rinoscopia, radiografia e tomografia computadorizada (LACAZ et al., 1998; ABUNDIS-SANTAMARÍA, 2003 e TELL, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS DE CATIVEIRO

Foram utilizados neste estudo 40 passeriformes distribuídos em sete espécies e três famílias distintas. (**Tabela 1**)

Tabela 1 - Animais experimentais.

Família	Nome científico*	Nome popular*	Nº de indiv.
Thraupidae	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	20
Turdidae	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá laranjeira	11
Emberezidae	<i>Sporophila caerulescens</i>	Coleirinho	3
Emberezidae	<i>Sporophila angolensis</i>	Curió	2
Emberezidae	<i>Scistochlamys ruficapillus</i>	Bico-de-veludo	2
Emberezidae	<i>Sicalis flaveola</i>	Canário-da-terra	1
Emberezidae	<i>Zonotrichia capensis</i>	Tico-tico	1
Total			40

* Em conformidade com o CBRO, 2011.

Todas as aves utilizadas neste estudo estavam depositadas no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) do Centro de Conservação e Manejo de Fauna da Caatinga (CEMAFAUNA), localizado no Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), em Petrolina-PE. O CETAS abriga diversos animais advindos das

obras do Projeto de Integração do Rio São Francisco (PISF) e da fiscalização ambiental realizada pelos órgãos fiscalizadores Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA), Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos (INEMA), Bombeiros e as Polícias Militar, Civil e Rodoviária Federal.

No CETAS, as aves recebem acompanhamento clínico realizado por uma equipe de médicos veterinários onde são diariamente alimentados e têm seus recintos higienizados.

3.2. COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO

Para todos os animais experimentais, a coleta do material biológico foi realizada com a utilização de swabs contidos em tubos de ensaio esterilizados e embalados individualmente, fabricados e distribuídos pela COPAN Diagnostics Inc.

Durante a coleta das amostras na cavidade oral dos animais, foram realizados movimentos giratórios com o swab. Imediatamente após a coleta, o swab foi introduzido no tubo de ensaio mantido hermeticamente fechado e acondicionado em caixa de isopor por aproximadamente 20 minutos até que as amostras fossem direcionadas ao laboratório onde foram imediatamente semeadas.

A coleta das amostras cloacais seguiu um padrão semelhante ao descrito para as amostras orais (**Figura 1**). Neste caso, cada amostra foi coletada na superfície da abertura cloacal e não no interior da cloaca, já que para tal deveria-se adotar um swab de menor diâmetro, porém de difícil aquisição no mercado nacional.



Figura 1 - Coleta das amostras. A) oral e B) cloacal em *Paroaria dominicana*.

3.3. ANÁLISE LABORATORIAL

A análise laboratorial ocorreu no Laboratório de Microbiologia do Núcleo de Ecologia Molecular (NECMOL) do CEMAFUNA em Petrolina, PE.

Para o isolamento das espécies de *Aspergillus*, as amostras foram semeadas em placas de Petri contendo meio de cultura Czapek Dox Agar, substrato semi sintético que consiste em um meio contendo, dentre outros sais, o nitrato de sódio como única fonte de nitrogênio, sendo o substrato mais indicado para o crescimento de *Aspergillus* (Klich, 2002). Após cinco dias de incubação a ± 25 °C, as colônias crescidas foram repicadas para placas de Petri contendo meio cultura Czapek Dox Agar por 5 dias a ± 25 °C semeadas em estrias (**Figura 2**) para isolamento em culturas puras conforme a metodologia descrita por Samsom et al. (2000).



Figura 2 - Cultura pura de *Aspergillus clavatus* através da técnica de estriamento em Czapek Dox Agar a ± 25 °C.

Após o isolamento fúngico em culturas puras, cada espécime foi repicado para duas placas de Petri com Czapek Dox Agar. A primeira placa recebeu o fungo em repique pontual central sendo incubada por sete dias a ± 25 °C para análise dos caracteres taxonômicos macroscópicos da colônia (**Figura 3**) e a segunda recebeu o espécime em três pontos aproximadamente equidistantes para o desenvolvimento da técnica de cultivo em lamínula (**Figura 4**), onde sobre cada ponto de repique depositou-se uma lamínula previamente desinfetada em álcool 70% e flambada em chama. A cada 3, 5 e 7 dias de crescimento fúngico a ± 25 °C, uma lamínula foi removida das placas de Petri e montada em lâmina contendo o corante Azul de Amann para a observação dos caracteres microscópicos sob microscópio óptico.

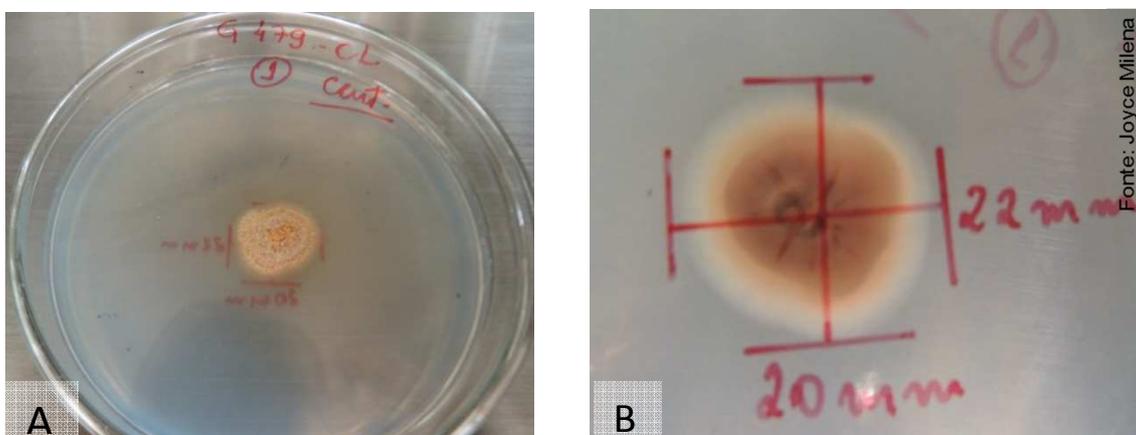


Figura 3 - Cultivo central de *Aspergillus ochraceus* em Czapek Dox Agar a ± 25 °C. A) Anverso da colônia aos 7 dias de incubação. B) Reverso da colônia aos 7 dias de incubação. Determinação do diâmetro da colônia.

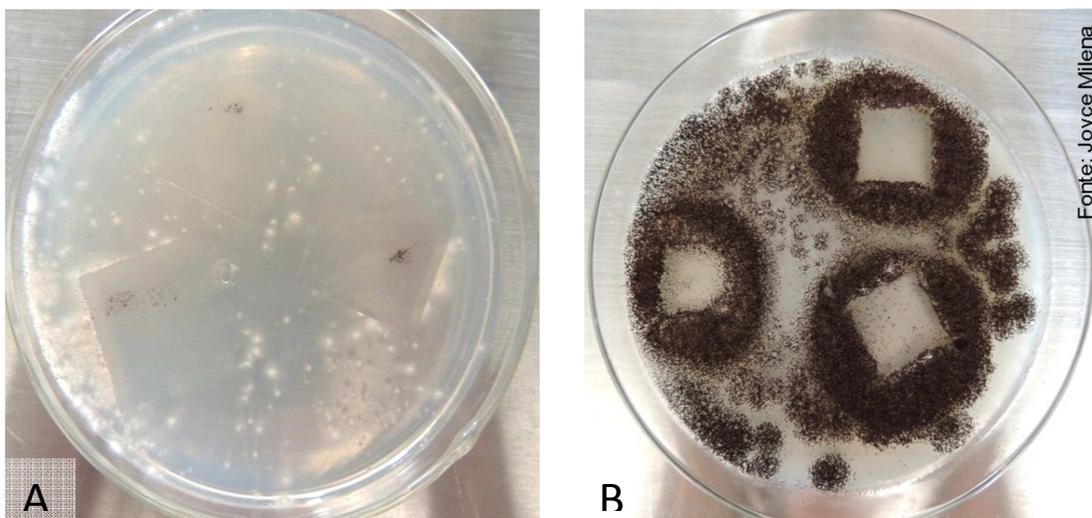


Figura 4 - Cultivo em lamínula de *Aspergillus niger* em Czapec Dox Agar a ± 25 °C. A) Aos 2 dias de cultivo e B) aos 8 dias de cultivo.

A identificação das espécies de *Aspergillus* foi realizada com base em suas características morfológicas macroscópicas - morfologia e diâmetro da colônia, cor, textura, superfície, pigmento difusível no meio de cultura, produção e característica dos exsudados e microscópicas - microestruturas somáticas e reprodutivas. Para a identificação utilizou-se o guia "Identification of common *Aspergillus* species" de Maren A. Klich, (2002).

Os resultados foram analisados quanto à frequência de ocorrência das espécies fúngicas em relação às famílias de passeriformes, a riqueza de *Aspergillus* na microbiota oral e cloacal das aves amostradas e a similaridade entre as espécies e famílias de passeriformes em relação à composição da sua microbiota fúngica. Para o cálculo da similaridade de Jaccard e a construção do dendograma utilizou-se o programa Multi Variate Statistical Package (MVSP) 3.1 (KOVACH, 2004).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 40 animais amostrados (**Tabela 1**), 21 (52,5%) apresentaram-se positivos para *Aspergillus*. Destes, sete (17,5%), apresentaram alguma espécie do fungo nas amostras orais e cloacais, nove (22,5%) apresentaram *Aspergillus* apenas nas amostras orais e cinco (12,5%) apenas nas amostras

cloacais. As amostras oral e cloacal coletadas de *Sicalis flaveola* apresentaram-se negativas para *Aspergillus*. No entanto, nem todas as amostras coletadas apresentaram desenvolvimento de espécies de *Aspergillus*, colônias de leveduras e outros gêneros de fungos filamentosos também se fizeram presentes, porém não serão discutidos neste trabalho.

Tabela 2 - Espécies de *Aspergillus* encontradas nas amostras orais e cloacais de passeriformes mantidos em cativeiro no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Petrolina-PE.

Identificação do espécime	Nome das aves*		Espécies de <i>Aspergillus</i>	
	Nome científico	Nome popular	Sítio Oral	Sítio Cloacal
PD_1	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	<i>A. japonicus</i> <i>A. clavatus</i> <i>A. niger</i>	<i>A. niger</i> <i>A. clavatus</i>
PD_3	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	NI	<i>A. niger</i> , <i>A. clavatus</i> e <i>A. ochraceus</i>
PD_4	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	<i>A. ochraceus</i>	NI
PD_6	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	NI	<i>A. niger</i> , <i>A. clavatus</i>
PD_14	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	<i>A. clavatus</i>	NI
PD_18	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	NI	<i>A. niveus</i>
PD_19	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	NI	<i>A. japonicus</i> , <i>A. clavatus</i>
PD_20	<i>Paroaria dominicana</i>	Cardeal-do-nordeste	NI	<i>A. clavatus</i>
ZC_1	<i>Zonotrichia campensis</i>	Tico-tico	<i>A. clavatus</i> , <i>A. ochraceus</i>	<i>A. clavatus</i>
TR_2	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	<i>A. clavatus</i>	NI
TR_3	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	<i>A. niger</i>	NI
TR_4	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	<i>A. clavatus</i> , <i>A. niveus</i>	<i>A. clavatus</i> , <i>A. ochraceus</i>
TR_5	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	<i>A. clavatus</i>	<i>A. clavatus</i>
TR_6	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	<i>A. clavatus</i> , <i>A. ochraceus</i>	NI
TR_8	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	NI	<i>A. clavatus</i>
TR_9	<i>Turdus rufiventris</i>	Sabiá-laranjeira	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niveus</i>
SC_2	<i>Sporophila cearulenses</i>	Coleirinho	<i>A. japonicus</i>	NI
SA_1	<i>Sporophila angolensis</i>	Curió	<i>A. japonicus</i>	<i>A. foetidus</i>
SA_2	<i>Sporophila angolensis</i>	Curió	<i>A. japonicus</i>	NI
SR_1	<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	Bico-de-veludo	<i>A. clavatus</i>	<i>A. clavatus</i>
SR_2	<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	Bico-de-veludo	<i>A. clavatus</i>	NI

*Em conformidade com o CBRO, 2011.

NI: Não Isolado.

Até o momento, estudos envolvendo a identificação de agentes fúngicos em aves como os de Ávila et al., 2004; Sagave et al., 2010; Marinho et al., 2010; Fraga; Medeiros e Neves, 2011; e Mendes et al., 2012, apresentam a classificação taxonômica dos fungos somente em nível de genérico, sem

aprofundamento ao nível de espécie. Nestes trabalhos o gênero *Aspergillus* ganha posição de destaque, sendo citado também por RENCTAS et al. (2001), GIGLI et al. (2005); WU et al.(2005); LEE et al. (2006) como um dos principais fungos anemófilos presentes em ambientes internos.

Seis espécies de *Aspergillus* foram identificadas nas amostras orais e cloacais dos passeriformes: *Aspergillus clavatus* Desm. 1834, *A. niveus* Blochwitz 1929, *A. ochraceus* G. Wilh. 1877, *Aspergillus foetidus* Thom & Raper 1945, *Aspergillus japonicus* var *japonicus* Saito 1906 e *A. niger* var *niger* Tiegh. 1867. Destas, a mais frequente foi *A. clavatus* (50%), enquanto a mais rara foi *Aspergillus foetidus* (2,5%) (**Figura 5**). Braconaro et al. (2011), em estudo semelhante, isolaram sete gêneros de fungos em passeriformes cativos e saudáveis, incluindo o *Aspergillus*, porém não disponibilizam informações sobre as espécies de *Aspergillus*, nem em quais espécies de pássaros estes fungos foram encontrados. Ainsworth e Rewell (1949), em estudo contemplando nove passeriformes cativos, isolaram apenas o *Aspergillus fumigatus*, espécie não registrada no presente estudo; já em psitacídeos cativos, Fraga; Medeiros; Neves (2011) isolaram *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* e *A. ochraceus*, sendo as duas últimas encontradas nos passeriformes analisados neste estudo.

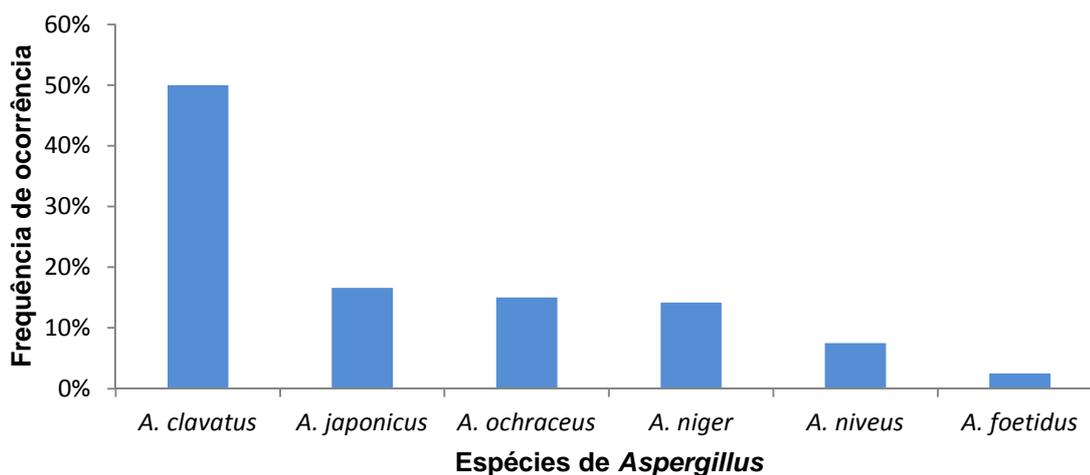


Figura 5 – Frequência de ocorrência de espécies de *Aspergillus* registradas em passeriformes cativos no Centro de Triagem de Animais Silvestres em Petrolina (PE).

Dentre as famílias de passeriformes analisadas, Emberezidae e Turdidae apresentaram maior riqueza de espécies de *Aspergillus*, contabilizando quatro espécies distintas cada, enquanto a família Thraupidae apresentou um total de três espécies de *Aspergillus* (**Figura 6**), corroborando parcialmente com os dados obtidos por Mendes et al. (2012) que isolaram fungos do gênero *Aspergillus* de excretas de passeriformes cativos - com metodologia semelhante ao presente estudo - pertencentes às famílias Turdidae e Thraupidae, entretanto para Emberezidae apenas leveduras foram isoladas.

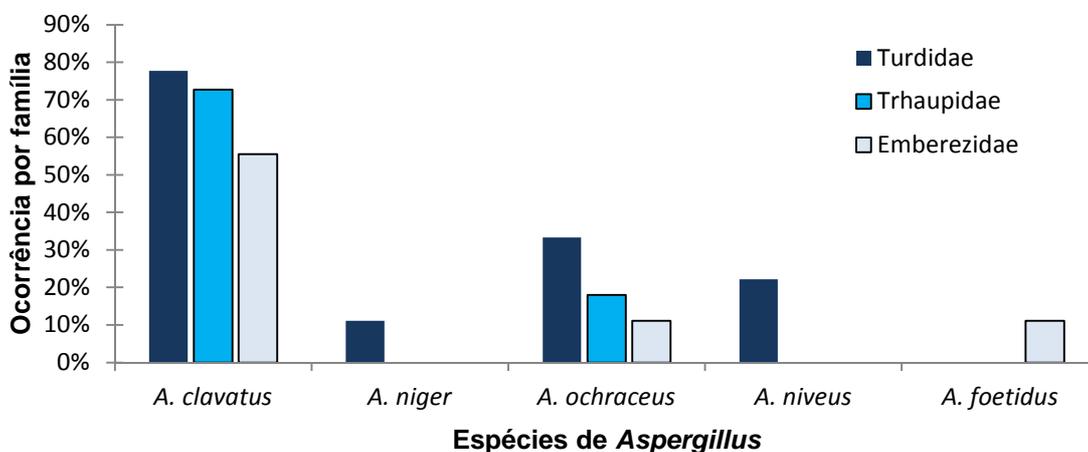


Figura 6 – Riqueza de espécies de espécies de *Aspergillus* por família de Passeriformes cativos no Centro de Triagem de Animais Silvestres em Petrolina (PE).

As espécies *Paroaria dominicana* e *Turdus rufiventris* apresentaram maior riqueza (**Figura 07**) tanto para as amostras orais quanto cloacais, pode-se inferir, portanto que o número de espécimes por espécie de passeriformes influenciou diretamente na diversidade dos fungos.

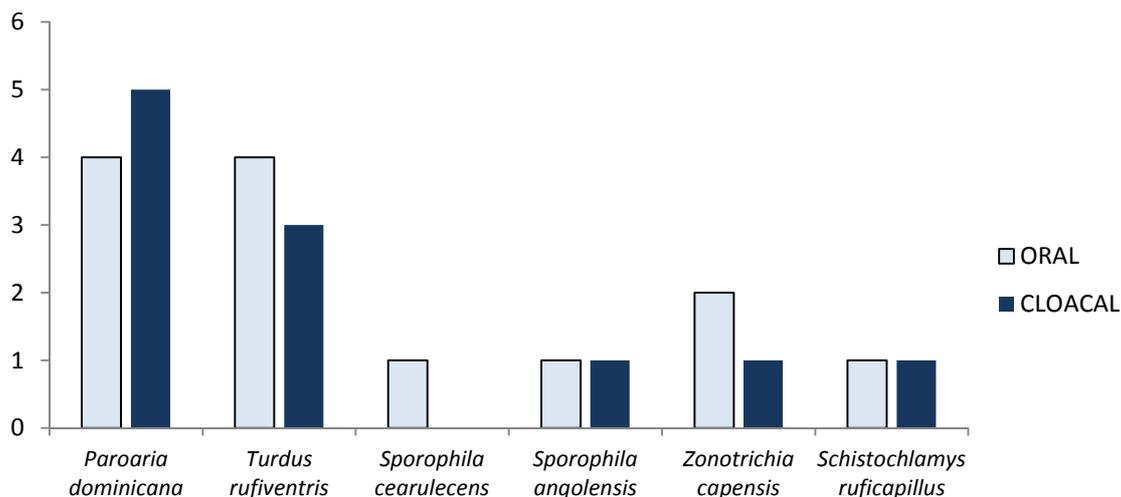


Figura 7 - Riqueza de espécies de *Aspergillus* em relação às amostras coletadas por espécie de passeriformes. Amostras orais – barras brancas e Amostras cloacais – barras pretas.

As espécies de passeriforme mais similares quanto à composição de espécies de *Aspergillus* foram *Turdus rufiventris* e *Paroaria dominicana*, com um coeficiente de similaridade de Jaccard igual a 0,8 (**Figura 08**). Desta forma, o índice de Jaccard aponta que há maior similaridade entre as famílias Thraupidae e Turdidae (**Figura 09**) em relação à comunidade de *Aspergillus*, estando a família Emberezidae mais distante das demais.

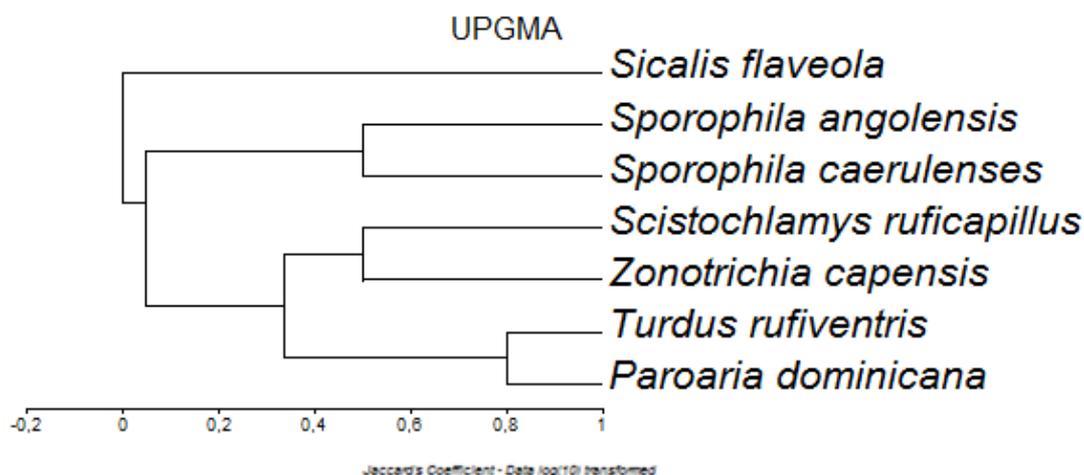


Figura 8 - Dendrograma de similaridade de Jaccard (UPGMA) entre as espécies de passeriformes quanto à composição de espécies de *Aspergillus*.

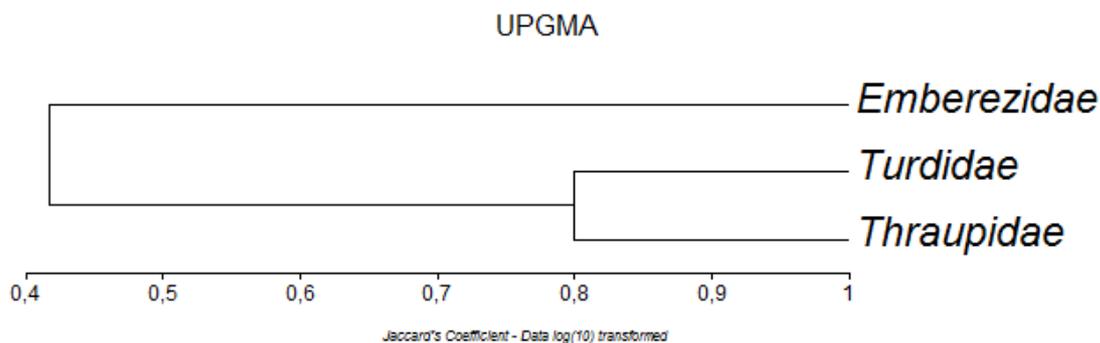


Figura 9 - Dendrograma de similaridade de Jaccard (UPGMA) entre as famílias de passeriformes quanto à composição de espécies de *Aspergillus*.

Com frequência de ocorrência igual a 50% do total de amostras (**Figura 5**) encontra-se o *Aspergillus clavatus* (**Figura 10**), espécie presente em todas as famílias de passeriformes amostradas no presente trabalho. Podendo ser encontrada em todo o mundo, esta espécie habita o solo e é frequentemente isolada em cereais (KLICH, 2002), principal fonte de alimento dos passeriformes utilizados neste estudo.

De acordo com Filiú; Macedo; Lazéra (2002), cereais como alpiste, painço, dentre outros grãos utilizados na dieta dos passeriformes são excelentes substratos para o crescimento fúngico o que pode explicar a sua presença nos animais analisados.

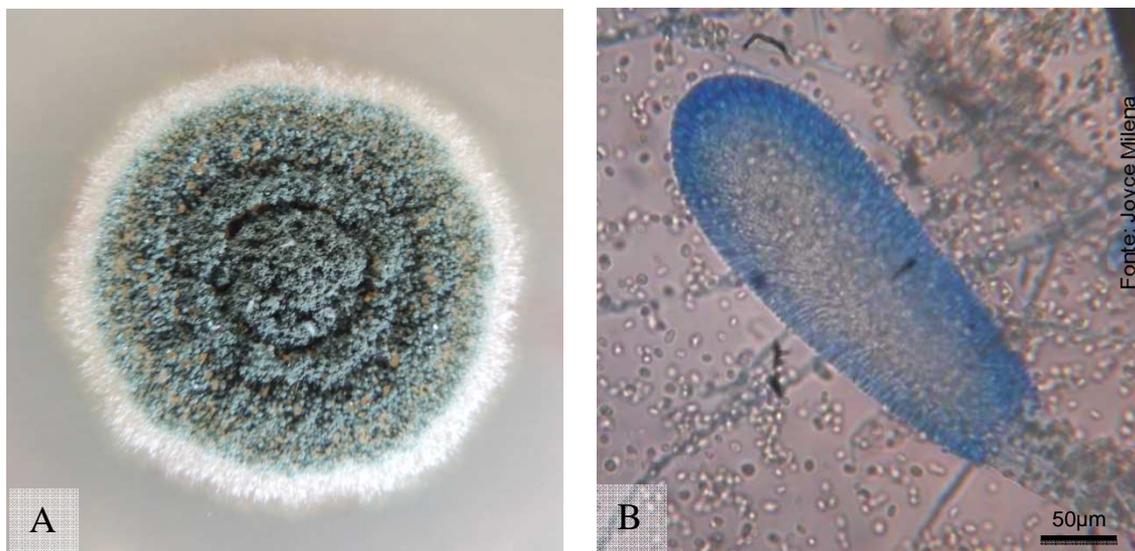


Figura 10 - *Aspergillus clavatus*. A) Colônia em Czapec Dox Agar aos 7 dias de incubação a ± 25 °C; B) Ápice do conidióforo (vesícula).

Em relação às espécies da seção Nigri, *Aspergillus. foetidus* ocorreu em apenas uma amostra (2,5%). Enquanto *A. japonicus var japonicus* e *A. niger*

var niger, ocorreram em 16,6% e 14% das amostras, respectivamente (Figura 05). Espécies desta seção estão entre as mais comuns em aves que desenvolvem aspergilose (ABUNDIS-SANTAMARÍA, 2003) Estes fungos são amplamente utilizados para fins biotecnológicos por produzirem enzimas e ácidos orgânicos, podendo esta característica potencializar sua ação patogênica (VARGA et al., 2011).

O *Aspergillus niger var niger* (figura 11) é uma das espécies fúngicas mais comuns em aves, além de aparecer com frequência em animais com aspergilose. A única família da ordem Passeriforme que se apresentou positiva para esta espécie foi Turdidae, coincidindo com o resultado obtido por Mendes et al. (2012), que isolaram esta espécie em 4% das amostras oriundas de *Turdus rufiventris* e *Turdus flavipes*.

Dentre as micotoxinas produzidas por esta espécie, a de maior toxicidade é a ocratoxina A, metabólito secundário que vem ganhando atenção em todo o mundo em virtude do perigo que representa à saúde humana e dos demais animais (ABARCA et al., 1994).

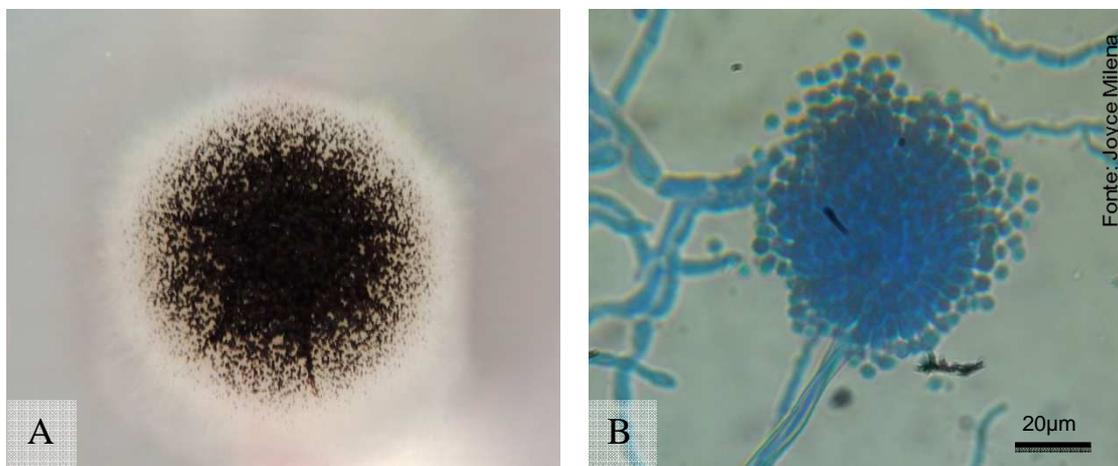


Figura 11 - *Aspergillus niger var. niger*. A) Colônia em Czapek Dox Agar, aos 7 dias incubação a ± 25 °C. B) Corpo de frutificação.

Aspergillus japonicus var. japonicus (Figura 12), fungo presente no solo, é comumente encontrado na rizosfera ou em meio à serrapilheira nas zonas tropicais (KLICH, 2002). Foi isolado apenas em amostras de aves das famílias Emberezidae e Thraupidae com frequências de 30% e 21%, respectivamente. Estudos como este, contemplando o isolamento fúngico com identificação em nível de variedade é inédito para aves cativas, não havendo em literatura

registro da ocorrência de *Aspergillus japonicus* compondo a microbiota de aves. Contudo, existe a possibilidade do *A. japonicus* ter sido observado em outros estudos, visto que em todos os trabalhos que discutem esta temática o gênero *Aspergillus* se fez presente; no entanto, como estas pesquisas demonstram resultados apenas em nível de gênero, não se conhece a real composição da microbiota fúngica do animal em questão.

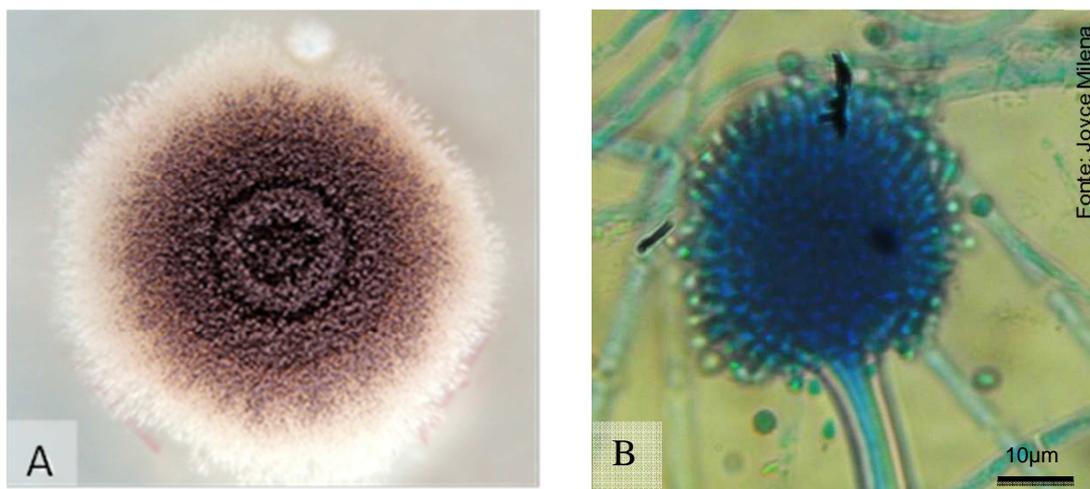


Figura 12 - *Aspergillus japonicus* var. *japonicus* A) Colônia em Czapek Dox Agar, aos sete dias de incubação a ± 25 °C B) Conidióforo.

A espécie menos frequente neste trabalho (2,5%) foi *Aspergillus foetidus* (Figura 13), que segundo KLICH, (2002) é incomum na natureza, porém amplamente utilizada pela indústria para a produção de diversas enzimas.

Não há estudos que correlacionem a ocorrência da aspergilose à presença do *A. foetidus*, bem como não existem registros desta espécie compondo a microbiota fúngica de aves cativas ou livres na natureza, possivelmente em razão da dificuldade em diferenciar esta espécie das demais espécies da seção Nigri. Desta forma, o presente estudo colabora para a ciência com um resultado inédito para este fungo.

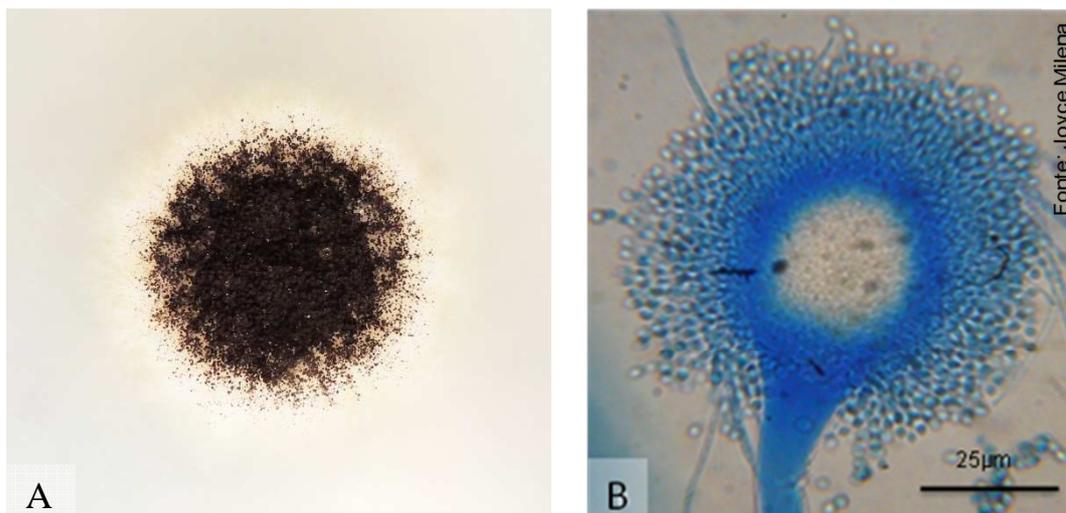


Figura 13 - *Aspergillus foetidus*. A) Colônia em Czapek Dox Agar aos sete dias de incubação a ± 25 °C B) Conidióforo e conídios.

O *Aspergillus ochraceus* pode ser comumente encontrado em solos de áreas tropicais e desérticas, em especial no estrato compreendido pela rizosfera. Pode ser isolado também de sementes e alimentos. Este fungo é um excelente produtor das micotoxinas: ácido penicílico, ochratoxina A, xantomeginina, viomeleina e vioxantina (KLICH, 2002).

O *A. ochraceus* (**Figura 14**) esteve presente em todas as famílias de passeriformes amostradas, ocorrendo em cerca de 33% das amostras da família Turdidae, e em 18% e 11% das amostras das famílias Thraupidae e Emberezidae, respectivamente (**Figura 06**). Possui relevante importância na cadeia da aspergilose pois, assim como outras espécies, é responsável pela produção da ocratoxina A, que possui ação nefrotóxica, teratogênica, citotóxica, imunotóxica, genotóxica, imunossupressora e carcinogênica, sendo estes efeitos importantes agravantes da aspergilose (MARDEGAN et al., 2002; ABUNDIS-SANTAMARÍA, 2003). No entanto, de acordo com Quirino, A. A. (com. pess.), as aves residentes no CETAS do CEMAFUNA e positivos para este fungo não apresentam sintomas para aspergilose como: respiração ofegante em repouso ou modificações na entonação vocal dos animais (KEARNS e LOUDIS 2003).

O *Aspergillus niveus* possui distribuição cosmopolita e produz a citrina, uma toxina com caráter patogênico (FREIRE et al., 2007), além de enzimas hidrolíticas, potencialmente exploradas pela biotecnologia para a indústria

(SOUZA-MOTTA et al., 2005). Assim como ocorre com o *A. japonicus*, não há registro de ocorrência desta espécie em literatura no que se refere à composição da microbiota fúngica de aves. No entanto, estudos bioquímicos e biotecnológicos como o realizado por Souza-Motta et al. (2005), demonstram o potencial do *A. niveus* (**Figura 15**) como alternativa para a produção de diversas enzimas como a inulinase e as amilases.

Estudos envolvendo a composição e a identificação fúngica em nível de espécie para passeriformes ainda são raros, visto que trabalhos como os realizados por Marinho et al. (2010), Fraga et al. (2011), Sagave et al. (2010), Carreta-Júnior et al. (2010), Braconaro et al. (2011) e Mendes et al. (2012), abordam a descrição do agente fúngico das aves apenas em nível de gênero.

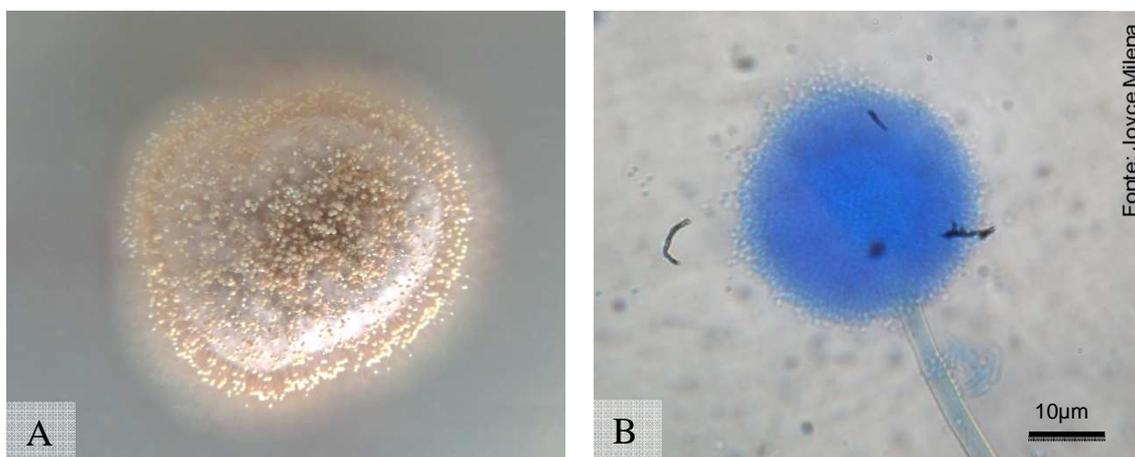


Figura 14 - *Aspergillus ochraceus*. A) Colônia em Czapec Dox Agar, aos sete dias de incubação a ± 25 °C. B) Conidióforo e conídios.

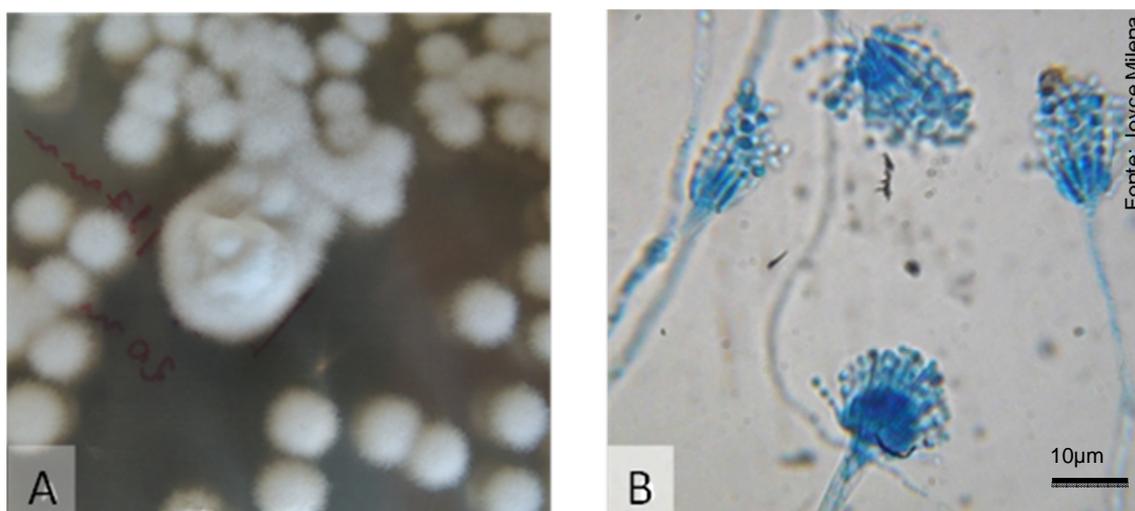


Figura 15 - *Aspergillus niveus*. A) Colônia em Czapec Dox Agar, aos sete dias de incubação em CZ a ± 25 °C; B) Conidióforo e conídios.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento sobre a microbiota de passeriformes é essencial, uma vez que estas aves podem atuar na cadeia epidemiológica de importantes zoonoses.

A relevância das zoonoses em aves se caracteriza muitas vezes por infecções assintomáticas, o que dificulta um possível diagnóstico e tratamento. É importante manter a higiene nas instalações, assim como encorajar os tratadores quanto ao uso de equipamentos para proteção respiratória.

Os resultados deste trabalho mostraram-se animadores, visto que em nenhuma das amostras foi isolado o *Aspergillus fumigatus* ou o *A. flavus*, principais agentes causadores da aspergilose em diversos grupos animais. No futuro, serão realizados estudos de genética molecular para confirmar a espécies identificadas.

Nenhuma ave utilizada neste trabalho apresenta sintomas de aspergilose. Provavelmente o excelente estado nutricional das aves e o baixo grau de estresse ao qual estes animais são submetidos tem influenciado positivamente o sistema imunológico dos animais, dado o caráter oportunista das infecções por *Aspergillus*. Porém, na maioria das aves, o diagnóstico para aspergilose é fornecido apenas após a necropsia do indivíduo, sendo de grande importância a realização de trabalhos que identifiquem antecipadamente a presença do agente fúngico em potencial, dedicando maior atenção ao indivíduo que necessite de cuidados especiais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA, M. L. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 60, July 1994, 2650-2652 p.

ABUNDIS- SANTAMARIA, E. Aspergillosis in birds of prey. *Edited by Roberto A. Cervantes-Olivares Ph.D.* 2003, Disponível em: <www.aspergillus.man.ac.uk>. Acesso em: 03 maio de 2013.

AINSWORTH, G. C; REWELL, R. E. The incidence of aspergillosis in captive wild birds. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, vol. 59, 1949, 213 - 224 p.

ÁVILA, M. O. et al. Estudo da microbiota fúngica da pele pelos e conduto auditivo de macacos clinicamente saudáveis, provenientes do reservatório de Manso, MT, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo.* , v.71, n.1, 2004. p.27-30. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/V71_1/avila.pdf> Acesso em: 24 de ago. de 2013

BENTUBO, H. D. L. et al. Isolamento de *Microsporium gypseum* do pelame de felídeos selvagens sadios mantidos em cativeiro no Brasil. *Brazilian Journal of Microbiology*. vol.37, n.2, 2006, p.148-152. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822006000200010&script=sci_arttext > Acesso em 24 de ago. de 2013.

BEZERRA, M. A. S; CARVALHO, A. R. P; SILVA, M. A. S. G. Características Morfofisiológicas. Projeto Bioma Caatinga. Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – Sertão Pernambucano. 2010, p.10.

BRACONARO, P. et al. Characterization of bacterial and fungal intestinal microbiota of confiscated wild passerines which will be submitted to relocation programs. CDi/FAPESP - Centro de Documentação e Informação da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. 2011.

CARRETA-JÚNIOR, M. et al. Pneumonia e aerossaculite em araçari (*Pteroglossus aracari*) causada por *Aspergillus sp.* – relato de caso. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ANIMAIS SILVESTRES E SELVAGENS. 5º 2010, Viçosa - MG. **Anais**. Disponível em: <<http://md7layouts.com.br/sbass/Anais%20V%20SBASS.pdf>> Acesso em: 21 de jun. de 2013

CEOLIN, L. V.; FLORES F; CORRÊA I. M. O. Diagnóstico macro e microscópico de Aspergilose em frangos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**. vol 40 2012, p1061.

CBRO - COMITÊ BRASILEIRO DE REGISTROS ORNITOLÓGICOS. *Lista das Aves do Brasil*. 10ª edição. 2011.

Disponível no site: <<http://www.cbro.org.br/CBRO/num.htm>>.

Consulta em: 24/08/2013

DOS SANTOS, G. J. Levantamento de *Aspergillus fumigatus* e *Strongyloides* sp. em jabutis mantidos em cativeiro no bosque municipal Dr. Belírio Guimarães Brandão - Zoológico Municipal da cidade de Garça - SP. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. ISSN: 1679-7353, Garça - SP, Nº 16. 2011. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria16/artigos/art10.pdf>> Acesso em: 15 de ago. de 2013.

FIELD MANUAL OF WILDLIFE DISEASES. General Field Procedures and Diseases of Birds. Cap. 13, 1999, p.130.

FILIÚ, W. F. O.; MACEDO, C. L.; LAZÉRA, M. Cativeiro de aves como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba - MG vol. 35, Nº 06, 2002, p.591-595

FRAGA, M. E; MEDEIROS, M. E. S; NEVES, D. M. Estudo de *Aspergilli* durante o período de quarentena de psitacídeos do centro de triagem de animais silvestres (CETAS) IBAMA, Seropédica, RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, vol. 33 Nº2, abr/jun. 2011, p.68-72.

FREIRE et al., **Micotoxinas**: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Agroindústria Tropical Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2007

GIGLI, A.C.S; et al. Diagnosis and evaluation of fungi presence in the air of two different ventilation systems for broiler houses. **Brazilian Journal of Poultry Science**. vol.7, nº4. 2005. p.205-208.

HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. **Clinical Avian Medicine** . Vol 1 e 2. Jan. 2005

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 179. 25 de Junho 2008

JUFFO, G. D. Aborto em bovinos, principais causas infecciosas - Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária, Área de Patologia Animal). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre - RS. 2010
Área de Patologia Animal

KEARNS, K. S; LOUDIS B. Aspergilosis aviar. In: *Recent Advances in Avian Infectious Diseases*, **International Veterinary Information Service**, Ithaca - NY 2003. Disponível em: <www.ivis.org>. Acesso em: 17 de ago de 2013

KIRK, P.M. et al. Dictionary of the Fungi. 10ª ed. Wallingford. CAB International. 2008.

KLICH, M. A. Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures. The Netherlands. Primeira edição. 2002.

KOVACH, W. Multivariate Statistical Package 3.1. Kovach Computing Services. Wales Anglesey. 2004.

LACAZ, et al. **Guia para identificação**: fungos, actinomicetos, algas de interesse médico. São Paulo. Ed: Sarvier 1998.

LEE, T. et al. Relationship between indoor and outdoor bioaerosols collected with a button inhalable aerosol sampler in urban homes. **Indoor Air**. vol.16. 2006. p.37-47.

MARDEGAN, S. F. et al. Otimização da produção de ocratoxina A por *Aspergillus carbonarius*. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11º, 2002 - Maringá - PR Universidade Estadual de Maringá/Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Disponível em: <http://www.ppg.uem.br/Docs/pes/eaic/XI_EAIC/trabalhos/arquivos/11-1900-0.pdf> Acesso em: 05 de set. de 2013

MARINHO, M. et al. Microbiota fúngica de passeriformes de cativeiros da região noroeste do estado de São Paulo. **Veterinária e Zootecnia**, vol.17, Nº 02 ISSN 0102-57, Jun. 2010.

MENDES et al. Isolamento de agentes fúngicos em excretas de aves silvestres em centro de reabilitação de animais silvestres em Pelotas/RS. ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS 14º. Pelotas - RS. 2012

MONTALI R.J. e MIGAKI G. The comparative pathology of zooanimals. Washington, Smithsonian Institution, 1980

NUCCI, M. e MAIOLINO, A. Infecções em transplante de medula óssea. Simpósio de transplante de medula óssea vol. 33, cap. 05, jul./set. 2000 p278-293.

PACHECO, J. F. **As Aves da Caatinga** – uma análise histórica do conhecimento. Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. 2003, p. 203.

RENTAS. 1º Relatório nacional sobre o tráfico de fauna silvestre. Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres, Brasília, 2001, p.108

REGID P. T.; FULLER, M. R.; EVANS D. L. Prevalence of *Aspergillus fumigatus* in free-living goshawks (*Accipiter gentilis atricapillus*). **Journal of Wildlife Diseases**, vol. 16, Nº2, April 1980.

SAGAVE, L. et al. Septicemia fúngica por *Aspergillus sp.* em Pintagol (*Serinus canaria x Carduelis sp.*) In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ANIMAIS SILVESTRES E SELVAGENS. 5º ed. 2010, Viçosa - MG. **Anais**. Disponível em: <<http://md7layouts.com.br/sbass/Anais%20V%20SBASS.pdf>> Acesso em: 21 de jun. de 2013

SALES, M. P. U. Aspergilose: do diagnóstico ao tratamento. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, vol 35, Nº 12, 2009, p1238-1244.

SAMSON, R. A. et al. Introduction to food and Air born fungi. 6ª ed. The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures. 2000.

SANTOS, E. **Pássaros do Brasil** - Vida e Costumes. Coleção Zoologia Brasileira, Vol 5. Editora Itatiaia Limitada. Belo Horizonte - MG. 1985.

SILVEIRA, L. F; MÉNDEZ, A. C. Caracterização das formas brasileiras do gênero *Sicalis* (Passeriformes, Emberezidae). **Atualidades Ornitológicas**, Ivaiporã, PR, n. 90, 1999, p. 6-8.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Edição revisada por José Fernando Pacheco. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira. 1997.

SOUZA-MOTA et al. ***Aspergillus niveus* Blochwitz 4128URM**: New source for inulinase production. Brazilian archives of biology and technology. vol.48, nº3, May 2005. p. 343-350.

TELL, L. A. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. **Medical Mycology Supplement I**, vol. 43, 2005.

VARGA, J. et al. New and revisited species in *Aspergillus* section Nigri. Studies in Mycology. vol.69. 2011. p1-17.

ZANGIROLAMI FILHO, D; et al. Empiema de bolsa gútural - **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** – ISSN: 1679-7353 -Nº 10 Jan. 2008.

WU, P. C. et al. Changing microbial concentrations are associated with ventilation performance in Taiwan's air-conditioned office buildings. **Indoor Air**, vol.15, 2005. p.19-26.