

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

Estudo do *bumblefoot* (pododermatite) em pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) em centro de recuperação

Luiza da Gama Osório

Pelotas, 2010

Luiza da Gama Osório

ESTUDO DO *BUMBLEFOOT* (PODODERMATITE) EM PINGUINS-DE-MAGALHÃES (*Spheniscus magellanicus*) EM CENTRO DE RECUPERAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área de conhecimento: Sanidade Animal – Veterinária Preventiva).

Orientador: Mário Carlos Araújo Meireles

Co-Orientadores: Gilberto D'Ávila Vargas

Melissa Orzechowski Xavier

Sílvia Regina Leal Ladeira

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

O83e Osório, Luíza da Gama

Estudo do Bumblefoot (Pododermatite) em pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) em centro de recuperação / Luiza da Gama Osório ; orientador Mário Carlos Araújo Meireles; co-orientadores Gilberto D'Ávila Vargas; Melissa Orzechowski Xavier e Sílvia Regina Leal Ladeira. Pelotas,2010.-86f. : il..- Dissertação (Mestrado em Veterinária Preventiva) –Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1. Bumblefoot 2.Pododermatite 3.Pinguim-de-magalhães 4.Spheniscus magellanicus I Meireles, Mário Carlos Araújo (orientador) II .Título.

CDD 591.5

Banca examinadora:

Prof^a. Dra. Ana Luisa Schifino Valente

Prof^a. Dra. Marlete Brum Cleff

Prof^a Dra. Patrícia da Silva Nascente

Prof. Dr. Mário Carlos Araújo Meireles (orientador)

Prof. Dr. Gilberto D'Ávila Vargas (suplente)

Aos meus pais e ao meu amor,
por todo amor e incentivo.

Agradecimentos

Aos meus pais, meus melhores exemplos, pelo amor, apoio e confiança em todos os momentos. Devo a vocês toda a felicidade por concluir esse trabalho.

Ao meu amor e melhor amigo, Jonathan, motivo de muitas das minhas alegrias, por me incentivar, confiando em mim e nos meus sonhos.

Ao Mano e à Flavinha agradeço pela amizade.

À minha segunda família, meus grandes amigos que compartilharam comigo mais essa etapa da minha vida, Paulinha (juntamente com meu sobrinho Caetano), Angela, Ricardo, Cíntia, Natália, Eugênio, Nani, Mineiro e à minha linda sobrinha Iolanda, pelas horas de alegria e descontração.

Às minhas amadas primas, Mônica, pela tradução do resumo, e Paulinha pela ajuda final, com a formatação da dissertação.

Ao Laboratório de Micologia, em especial ao meu orientador, Mário Meireles, por confiar no meu trabalho e disponibilizar todo o necessário para sua realização. À colega e amiga Anelize (e à Isadora, é claro) pelo companheirismo e ajuda nesse ano de mestrado, à Ângela, pela amizade e auxílio tanto no CRAM quanto no Laboratório, e à Dindinha, por me ajudar desde o início da graduação até a conclusão da dissertação. Agradeço também a todos os componentes do Grupo, por toda a ajuda e pelo muito que aprendi nos meus anos no Laboratório.

Aos meus co-orientadores, Melissa, por toda a ajuda e confiança desde a criação até a finalização do projeto, com muitas correções, conversas e horas de trabalho tanto no CRAM, quanto no Laboratório. Sílvia, por abraçar o projeto lá no início, acreditando nele e em mim. E ao Gilberto, pela disponibilidade, pela análise estatística das biometrias e por aceitar ser a pessoa a quem eu recorro quando bate o desespero.

Ao Lauro Barcellos, diretor do Museu Oceanográfico, e a todo pessoal do CRAM, em especial ao Neneco, à Alice e à Déia, por me permitirem realizar este trabalho, sempre me ajudando. Agradeço também por tudo o que aprendi e me diverti no CRAM. Foram meus melhores domingos durante três anos.

Ao Mauro Soares, pelos exames *post mortem* e ajuda na montagem de fotografias.

A todos que não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

E finalmente, ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

A **TODOS**, muito obrigada!!!

“Prezo insetos mais que aviões.
Prezo a velocidade das tartarugas mais que a dos mísseis.
Tenho em mim esse atraso de nascença.
Eu fui aparelhado para gostar de passarinhos.
Tenho abundância de ser feliz por isso.
Meu quintal é maior do que o mundo.”

Manoel de Barros

Resumo

OSÓRIO, Luiza da Gama. **Estudo do *bumblefoot* (pododermatite) em pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) em centro de recuperação**. 2010. 86f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Pinguins são aves que dispõem cerca de 75% das vidas no mar, e quando encontrados debilitados são encaminhados a centros de. Porém, suas amplas adaptações à vida marinha atuam como fatores limitantes em cativeiro, sendo freqüentes os casos de *bumblefoot*, ou pododermatite, afecção podal que pode evoluir para septicemia e óbito. O Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM) é o local no Brasil que mais recebe mais pinguins para reabilitação. Em vista da importância do CRAM no cenário Nacional no que tange a reabilitação de pinguins, o estudo objetivou avaliar a epidemiologia do *bumblefoot* nessas aves mantidas em cativeiro no Centro, a fim de minimizar os prejuízos que acompanham a síndrome durante o período de recuperação. Foram acompanhados 129 pinguins no CRAM, onde a incidência da síndrome foi de 75%, apresentando-se, o piso abrasivo como o principal fator predisponente ao seu desenvolvimento. O estudo demonstrou o *bumblefoot* como doença geralmente bilateral e de curso progressivo. Todos os coxins plantares foram classificados de acordo com o grau da lesão à avaliação clínica, demonstrando-se através da criação de método de biometria a mensuração de edema entre cada escore de lesão. Os microorganismos fúngicos foram relacionados à microbiota transitória do coxim plantar de pinguins, sendo mais isolados a *C. albicans* e *Rhodotorula* spp., As bactérias foram relacionadas como componentes das microbiotas transitória e permanente, bem como com a epidemiologia da pododermatite, sendo os gêneros mais isolados o *Staphylococcus* e o *Corynebacterium*. O antibiótico que melhor inibiu o crescimento bacteriano frente a todas as cepas testadas foi a cefalosporina, seguida de enrofloxacin, estreptomicina e penicilina. Foi possível através deste estudo salientar a importância da síndrome no que tange a reabilitação de pinguins, e entender sua epidemiologia, o que permite aplicar formas precisas de manejo, profilaxia e tratamento.

Palavras-chave: *Bumblefoot*. Pododermatite. Pinguim-de-magalhães. *Spheniscus magellanicus*

Abstract

OSÓRIO, Luiza da Gama. **Bumblefoot's (pododermatitis) study in Magellanic Penguins in rehabilitation center**. 2010. 86f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Penguins are seabirds that spend about 75% of their life on the sea, and when they are found weak, these birds are sent to rehabilitation centers. Although, their extensive adaptations to sealife can become limiting issues to their life in captive, occurring, often, bumblefoot, or pododermatitis, cases: a foot disease that can evolve to septicemia and death. The Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM – Marine Animals Recovery Center) is the place that, in Brazil, receive more penguins to rehabilitation. Given the CRAM's importance in the national matter in penguin rehabilitation, the research objective was to evaluate the bumblefoot epidemiology in the birds kept captive in CRAM, trying to minimize the injuries that accompany the syndrome during rehabilitation period. Were observed 129 penguins in CRAM, where the syndrome incidence were 75%, presenting, the abrasive surface as main predisposing factor for development. The research presented the *bumblefoot* usually as a bilateral disease and with a progressive course. Every foot pads were qualified according the injury level to clinic evaluation, showing, by creating a method of biometric measurement of edema between each lesion score. The fungal microorganisms were related to the penguin's foot pad's transitory microbiota, being more isolated the *C. albicans* e *Rhodotorula spp.*The bacteria were related as transitory and permanent's microbiotas compounds, as well the pododermatitis epidemiology, being the more isolated genres the *Staphylococcus* and *Corynebacterium*. The antibiotic that inhibited most the bacterial development against all strain tested was cefalosporina, followed by enrofloxacin, streptomycin and penicillin. Was possible through this study highlight the syndrome's importance about penguin rehabilitation, and understand its epidemiology, enabling the implementation of precise forms of management, prophylaxis and treatment.

Palavras-chave: *Bumblefoot*. Pododermatitis. Magellanic penguin

Lista de Figuras

Figura 1	CRAM sob dois pontos de vista. A) Vista de dentro da Lagoa dos Patos. B) Vista aérea.....	23
Figura 2	Espécies de pinguins recebidas pelo CRAM. A) Pinguim-de-magalhães. À frente um exemplar juvenil, ao fundo um adulto. B) Pinguim-de-penacho-amarelo. C) Pinguim-rei.....	24
Figura 3	Pinguim-de-magalhães juvenil em reabilitação no CRAM mantido em cativeiro interno sob piso liso coberto com três camadas de jornal.....	35
Figura 4	Cativeiro externo no CRAM. Pinguins mantidos sobre piso de cimento, com acesso à piscina. Em destaque, com seta, um pinguim com <i>bumblefoot</i>	35
Figura 5	Organograma das análises realizadas em pinguins-de-magalhães em uma população de 129 animais mantidos em cativeiro para período de reabilitação.....	36
Figura 6	Pinguins de magalhães. A: apoio normal para a espécie. B: Apoio anormal, sobre a articulação do tornozelo.....	37
Figura 7	Pinguins de magalhães. A: postura normal ao nadar, utilizando ambos os membros posteriores. B: postura anormal, com membro recolhido.....	37
Figura 8	Pinguins de magalhães. Demonstrando aumento crescente de volume nos coxins plantares demonstrados da figura A para C.....	38
Figura 9	Pinguins-de-magalhães com lesão classificada em grau I. A) e B) Lesão com descoloração do coxim plantar sem sinais de infecção. C) Apoio podal normal para a espécie.....	38

Figura 10	Pinguins classificados com grau II de <i>bumblefoot</i> . A) e B) Lesões com sinais de infecção, com presença de cáseo no coxim plantar, e sem lesão na articulação do tornozelo. C) Pinguim-de-magalhães em estação, com apoio normal sobre os membros. Pata direita com edema evidente, sem alteração postural. D) Postura normal ao nadar.....	39
Figura 11	Pinguins-de-magalhães classificados com lesão de <i>bumblefoot</i> grau III. A) Mudança de postura ao nadar, com membro posterior esquerdo recolhido. No detalhe, a lesão plantar. B) Apoio anormal, sobre articulação do tornozelo. Vértebras caudais e pigóstilo apoiados no chão. C) Mudança de postura, evitando o apoio do peso sobre o membro com lesão em maior extensão. Ao fundo outro pinguim com pododermatite. D) Lesão com formação de cáseo em coxim e na articulação do tornozelo.....	40
Figura 12	Biometria do coxim plantar de pinguim-de-magalhães na altura do primeiro dígito (seta). A) Medida de largura. B) Medida de altura.....	41
Figura 13	Colheita de material de coxim plantar de pinguim-de-magalhães. A) Limpeza prévia com gaze estéril. B) Coleta através da técnica de fricção por <i>swab</i> estéril.....	42
Figura 14	Coxins plantares com pododermatite. A) Aspecto da lesão ao corte. B) Colheita de fragmento do coxim plantar.....	43
Figura 15	Relação dos animais com e sem lesão podal mantidos em cativeiro interno para reabilitação no CRAM.....	48
Figura 16	Relação dos animais com e sem lesão podal mantidos em cativeiro externo para reabilitação no CRAM.....	48
Figura 17	Pinguim-de-magalhães com <i>bumblefoot</i> bilateral. Lesão em grau II no membro direito, e grau III no esquerdo).....	49
Figura 18	Médias e desvio padrão das alturas de coxins plantares de pinguins-de-magalhães conforme os escores de <i>bumblefoot</i> . Letras diferentes representam diferença estatística ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.....	50
Figura 19	Médias e desvio padrão das larguras de coxins plantares de pinguins-de-magalhães conforme os escores de <i>bumblefoot</i> . Letras diferentes representam diferença estatística ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.....	50
Figura 20	Crescimento bacteriano a partir das colheitas <i>in vivo</i> dos coxins plantares saudáveis e com lesão em grau I (sem infecção bacteriana).....	52

Figura 21	Crescimento bacteriano a partir das colheitas <i>in vivo</i> dos coxins plantares com lesões em grau II e III (com infecção bacteriana).....	52
Figura 22	Análise histopatológica de 48 coxins plantares com pododermatite, demonstrando a distribuição do percentual de amostras correspondendo a cada grau de lesão.....	53
Figura 23	Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com <i>bumblefoot</i> grau II, demonstrando perda da camada de <i>rete ridges</i> (setas vermelhas), presença de ulceração até a camada da epiderme, e colônias bacterianas intralesionais (setas verdes). No detalhe, sub-macroscopia da lesão.....	54
Figura 24	Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com <i>bumblefoot</i> grau II, mostrando no detalhe presença de colônias bacterianas na derme.....	55
Figura 25	Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com grau II de <i>bumblefoot</i> , apresentando vasculite em vasos da derme.....	55
Figura 26	Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com <i>bumblefoot</i> em grau III. A) Detalhe do abscesso. B) Úlcera profunda, com presença de necrose caseosa. C) Extensa área de ulceração e grande massa de necrose caseosa na derme. Orifício de cerca de 0,3cm com colônias bacterianas ao redor.....	56
Figura 27	Sub-macroscopia de coxim plantar de pinguim-de-magalhães com <i>bumblefoot</i> em grau III, mostrando extensa ulceração atingindo tecido subcutâneo, com grande área de necrose e presença de colônias bacterianas.....	56
Figura 28	<i>Bumblefoot</i> grau III. Demonstrando em A vaso sanguíneo na derme com colônias bacterianas (seta), aparecendo em foco em B, e exuberante descamação da camada de queratina. Presença de colônias bacterianas no fígado com diferentes tempos de infecção, onde C, é a colonização mais recente, e D, a mais antiga, evidenciado pela discreta proliferação de tecido conjuntivo.....	57
Figura 29	Abscessos bacterianos em pulmão de pinguim-de-magalhães (B e C) apresentando septicemia com lesão plantar em grau III como causa primária. Pode-se observar o a presença de bactérias e restos celulares no interior do abscesso (A).....	57

Figura 30	Isolados bacterianos de 6 casos de septicemia em pinguins-de-magalhães, tendo como causa primária <i>bumblefoot</i>	58
Figura 31	Colheita de amostras de lesão podal de pinguim-de-magalhães com aspergilose. Em A observa-se a formação de colônias de <i>A. fumigatus</i> em saco aéreo, em B pode-se observar a profundidade da lesão de grau III, atingindo tecidos adjacentes.....	59

Lista de Tabelas

Tabela 1	Distribuição de pinguins-de-magalhães de acordo com as associações dos graus de <i>bumblefoot</i> em membros inferiores direito e esquerdo.....	48
Tabela 2	Susceptibilidade dos microorganismos isolados de coxins plantares de pinguins-de-magalhães à cefalosporina, enrofloxacina, estreptomicina e penicilina.....	60
Tabela 3	Relação de sensibilidade dos microorganismos isolados de coxins plantares com e sem infecção, frente a antibióticos de uso rotineiro em medicina veterinária.....	61

Lista de abreviaturas e siglas

CRAM	Centro de Recuperação de Animais Marinhos
FaVet	Faculdade de Veterinária
FURG	Fundação Universidade Federal do Rio Grande
HE	Hematoxilina-eosina
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IUCN	União Internacional pela Conservação da Natureza
LRD	Laboratório Regional de Diagnósticos
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas

Sumário

Resumo	07
Abstract	08
Lista de Figuras	09
Lista de Tabelas	13
Lista de Abreviaturas e Siglas	14
Sumário	15
1 – Introdução	17
2 – Objetivos	19
3 – Revisão bibliográfica	20
3.1 – Pinguins.....	20
3.2 – Reabilitação.....	22
3.2.1 – Principais doenças de pinguins em cativeiro.....	25
3.3 – <i>Bumblefoot</i>	26
4 – Material e métodos	34
4.1 – Locais de Trabalho.....	34
4.2 – Amostra de estudo / Avaliação clínica.....	34
4.3 – Classificação do <i>bumblefoot</i>	36
4.4 – Biometria do coxim plantar.....	40
4.5 – Colheita de amostras.....	41
4.5.1 – <i>In vivo</i>	41

4.5.2 – <i>Post mortem</i>	42
4.6 – Processamento das amostras.....	43
4.6.1 – Setor de Micologia.....	43
4.6.1.1 – Identificação de fungos filamentosos.....	43
4.6.1.2 – Identificação de fungos leveduriformes.....	44
4.6.2 – Setor de Bacteriologia.....	44
4.6.2.1 – Identificação de bactérias.....	44
4.6.3 – Setor de Patologia.....	45
4.6.3.1 – Classificação do grau de <i>bumblefoot</i> conforme avaliação histopatológica.....	45
4.7 – Testes de sensibilidade <i>in vitro</i> frente a antimicrobianos.....	45
4.8 – Comparação das classificações clínicas e histopatológicas.....	46
4.9 – Análise estatística.....	46
5 – Resultados	47
6 – Discussão	62
7 – Conclusões	73
8 – Considerações finais	75
Referências bibliográficas	77
Apêndices	85

1 – Introdução

Pinguins são aves marinhas da família *Sphenicidae*, amplamente distribuídas no Hemisfério Sul (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006; ROOTS, 2006; CBRO, 2009). Estes animais passam cerca de 75% da vida no mar, permanecendo em área seca somente nos períodos de muda das penas, nidificação ou mesmo descanso, quando habitam praias pedregosas ou arenosas, não estando adaptados à longa permanência sobre superfícies firmes e rugosas, como os pisos normalmente encontrados em zoológicos e centros de reabilitação (FOWLER; FOWLER, 2001; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006).

A população estimada de pinguins-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) encontra-se em franco declínio (GANDINI et al., 1994). O Brasil, por constituir parte da rota migratória destas aves é de extrema importância no que tange a conservação da espécie (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006; ROOTS, 2006). Devido à alta incidência dessas aves marinhas na costa brasileira, diversos estudos têm se voltado para a reabilitação de pinguins, e a ocorrência de doenças e outros fatores limitantes à reintrodução dessas aves à vida livre tem se tornado cada vez mais conhecidos e aprofundados, na tentativa de solucioná-los (GARCIA-BORBOROGLU et al., 2006; XAVIER et al., 2007; OSÓRIO et al., 2008).

Dentre as doenças de maior ocorrência em pinguins em cativeiro está o *bumblefoot*, ou pododermatite (CLARKE & KERRY, 1993), uma síndrome de múltiplas etiologias, que em aves é um termo genérico utilizado para designar qualquer processo inflamatório nos membros posteriores, desde um simples enrijecimento ou tumefação dos dedos até abscessos crônicos com afecção do tecido adjacente (SHANE, 2005; HOCKING et al., 2007). Esta enfermidade é

descrita em diferentes espécies, porém tem especial relevância em aves aquáticas (CHITTY, 2006; FOWLER & CUBAS, 2004; COOPER, 2002; CLARKE; KERRY, 1993; OAKS, 1993).

Em pinguins o principal fator predisponente para o desenvolvimento da pododermaite é o trauma associado ao piso firme do cativeiro (CLARKE; KERRY, 1993). Porém, quaisquer outros fatores que levem à quebra da barreira epitelial devem ser considerados, uma vez que favorecem a colonização microbiana posterior ao trauma, tanto por microrganismos com potencial que compõe a microbiota da pele e dos tratos digestório e respiratório, quanto por microrganismos presentes no ambiente (CUBAS; GODOY, 2004). Existem diversas espécies de bactérias relacionadas à infecção pós-trauma no *bumblefoot* (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994; COOPER, 2002; GIRLING, 2003; TEIXEIRA, 2008; MARQUES et al. 2009) porém ainda são poucos os estudos que referenciam a participação de fungos na patogenia da síndrome, havendo poucos relatos de pododermatite micótica (STOUTE et al., 2009).

Quando apenas uma pata é afetada, a oposta passa a suportar sobrecarga de peso, aumentando a predisposição de o membro sadio também ser lesionado. Inicialmente as lesões são localizadas nos coxins plantares, evoluindo para diferentes graus de acordo com os fatores de patogenicidade do agente e a imunidade do animal (COOPER, 2002).

O Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM) é um dos principais centros de reabilitação do país, e recebe anualmente centenas de pinguins para reabilitação e posterior soltura. A crescente poluição dos mares, somada a outros fatores, faz com que seja crescente também o número de aves marinhas recolhidas para reabilitação (UICN, 2009a), e com isso há uma necessidade evidente de se estudar as principais doenças decorrentes desta situação, como o *bumblefoot*.

Surge, então, a necessidade de se caracterizar a síndrome somente a partir da avaliação macroscópica das lesões e sinais clínicos, uma vez, que em animais destinados à reintrodução à vida livre torna-se inviável a análise histopatológica, através de biópsia, para determinação do grau da lesão.

2- Objetivos

Objetivo geral: caracterizar a ocorrência do *bumblefoot* em pinguins-de-magalhães mantidos em cativeiro.

Objetivos específicos:

- Avaliar a frequência de *bumblefoot* em pinguins durante reabilitação no CRAM;
- classificar a doença em diferentes graus de acordo com a avaliação clínica dos animais;
- relacionar a ocorrência da doença com diferentes recintos de cativeiro;
- isolar e identificar bactérias e fungos de membros hígidos e com pododermatite de pinguins no CRAM, a fim de relacionar a ocorrência destes microorganismos com comensalismo ou infecção;
- comparar as lesões observadas à histopatologia com a classificação clínica quanto aos estágios de evolução da síndrome;
- realizar testes de sensibilidade *in vitro* das bactérias isoladas frente a antibióticos de uso rotineiro na clínica veterinária.

3 – Revisão bibliográfica

3.1 - Pinguins

Pinguins são aves marinhas da família Spheniscidae amplamente distribuídas no Hemisfério Sul. Estas aves despendem grande parte do seu tempo no mar, frequentando ambiente terrestre por longos períodos somente em épocas de reprodução e muda das penas (FOWLER; FOWLER, 2001; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006; ROOTS, 2006).

A família *Spheniscidae* é composta por 18 espécies (IUCN, 2009b), todas no Hemisfério Sul, sendo as aves de maior predominância neste ambiente, onde sua ocorrência é controlada pela temperatura das águas (ROOTS, 2006), uma vez que vivem e se alimentam em águas que vão de -2 a 23° C, dependendo das correntes frias para se alimentarem (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006).

Os pinguins possuem amplas adaptações à vida marinha, sendo exímios nadadores. Suas asas, chamadas de aletas, funcionam como nadadeiras, e seus pés possuem membranas interdigitais, que permitem que os membros posteriores funcionem como leme. Os corpos dos pingüins são fusiformes, e suas penas muito curtas, o que aumenta sua aerodinâmica (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006). Pinguins não possuem ossos pneumáticos, e possuem isolamento térmico corporal através de espessa camada de tecido adiposo no subcutâneo, que é responsável juntamente com as trocas de calor promovidas pelo sistema circulatório, como forma extremamente eficaz de termorregulação (FOWLER; FOWLER, 2001).

O Brasil tem quatro espécies de pinguins ocorrentes em seu território, destas, o pinguim-de-magalhães é a espécie mais registrada, frequentando desde a região sul do Rio Grande do Sul até o norte do Rio de Janeiro (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS,

2006; GARCIA-BORBOROGLU et al., 2006 CBRO, 2009). Esta espécie é a única classificada como visitante sazonal, enquanto as demais, pinguim-rei (*Aptenodytes patagônica*), pinguim-de-testa-amarela (*Eudyptes chrylophus*) e pinguim-de-penacho-amarelo (*Eudyptes chrysocome*), são classificadas como vagantes, ou seja, são consideradas espécies de ocorrência irregular no país (CBRO, 2009).

Algumas das espécies de pinguins estão severamente ameaçadas de extinção (ROOTS, 2006), havendo outras vulneráveis, ou ainda “quase ameaçadas”, que são as que despendem menor preocupação. O pinguim-de-magalhães é o único, entre os quatro do gênero *Spheniscus*, que está na classificação de “quase ameaçado”, com população composta por dois milhões e seicentos mil animais, havendo na maior pinguineira relatada, a pinguineira de Punta Tombo, na Argentina, cerca de 950.000 pinguins-de-magalhães (IUCN, 2009b). Porém a situação é preocupante, uma vez que a descarga de petróleo e crescente poluição dos mares, somadas à redução no pescado, tornam os animais mais susceptíveis a entrar na lista de aves em extinção (IUCN, 2009).

Quando os pinguins são forçados a ir para o litoral, suas amplas adaptações à vida marinha podem servir como fatores limitantes à sua vida em ambiente terrestre (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006). Quando petrolizados há a quebra da impermeabilidade das penas, forçando a permanência dessas aves nas praias, onde não conseguem obter alimento, e acabam entrando em um quadro de desidratação e desnutrição (MAZET, 2002; HALL, 2008).

Esses animais encontrados debilitados nas praias são conduzidos a centros de recuperação, a fim de serem reabilitados e reintroduzidos à natureza. As amplas adaptações ao ambiente aquático tornam-se um entrave, também, no que tange a manutenção destas aves em cativeiro (DIEBOLD; BRANCH; HENRY, 1999).

Por estarem debilitadas quando encaminhadas aos centros, e por adquirirem hábitos mais sedentários, existem algumas doenças de maior morbidade em pinguins em cativeiro, que acabam por funcionar como fatores limitantes à reabilitação destes animais (XAVIER et al., 2007).

3.2 - Reabilitação

A reabilitação consiste na ação planejada, que visa preparação e treinamento de animais que serão reintegrados ao ambiente natural ou cativeiro. Durante o período de reabilitação, os animais devem receber acompanhamento e avaliação clínica e comportamental (IBAMA, 2008), não podendo ser realizada a soltura de espécimes que apresentem incapacidade de sobrevivência ou adaptação à vida livre (IBAMA, 2008; WILDLIFE INTERNATIONAL, 2010).

A União Internacional para Conservação da Natureza – IUCN (2009) afirma que a re-introdução de animais a seus habitats naturais funciona como estímulo à conscientização conservacionista tanto nas populações quanto governos, que passam a dar maior atenção ao assunto.

O papel exercido por centros de recuperação e reabilitação é de extrema importância, tendo-se em vista o constante declínio das populações de diversas espécies de animais. Atualmente cerca de 16.928 espécies estão ameaçadas de extinção e 869 estão extintas ou extintas em vida livre. Porém, esta é uma análise realizada sobre 2,7% do número total de espécies encontradas em todo o mundo, envolvendo os *habitats* terrestre, marinho e de água doce, o que torna a quantidade total de espécies em situação crítica inestimável (IUCN, 2009a).

No ambiente marinho, um grande número de espécies sofreu perdas irreversíveis em função das mudanças climáticas, da sobrepesca, da exploração costeira, da invasão de espécies exóticas e da poluição dos mares, incluindo as contaminações por petróleo e produtos químicos (HALL, 2008; IUCN, 2009).

Atualmente existem 25 grupos entre Brasil e Argentina trabalhando com a reabilitação de animais marinhos doentes ou petrolizados, onde todos os grupos descrevem o pinguim-de-magalhães como o animal de maior ocorrência, e relatam o acometimento de um número significativo de exemplares petrolizados (GARCIA-BORBOROGLU et al., 2006), fator que vem reduzindo de forma crescente a população destas aves (GANDINI et al., 1994).

No Brasil, existe a atuação consistente do Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM) na reabilitação da Fauna Marinha. O CRAM pertence ao Museu

Oceanográfico “Professor Eliézer de Carvalho Rios”, da Fundação Universidade Federal do Rio Grande e está localizado na cidade de Rio Grande, Rio Grande do Sul (Fig. 1). O CRAM funciona desde 1996 na prática de recuperação da fauna marinha, com ênfase em despetrolização.



Figura 1 – CRAM sob dois pontos de vista. A) Vista de dentro da Lagoa dos Patos. B) Vista aérea.

A finalidade do Centro é recuperar, reabilitar e promover a soltura de animais marinhos encontrados debilitados ao longo da costa do Rio Grande do Sul, por vezes recebendo também animais de centros de recuperação ou zoológicos localizados em todo o território brasileiro.

O Centro está localizado à beira da Lagoa dos Patos (32°03'S, 52°08'W), compreendendo uma área de 308m², que abrange um prédio com áreas interna e externa. O ambiente interno é composto por áreas de manejo de alimentos, ambulatório e despetrolização, enquanto o ambiente externo é composto por quatro recintos, todos com piso de cimento¹. Destes, três possuem tanques abastecidos com água da Lagoa dos Patos através de um sistema de bombas que permite total renovação da água em um período de 24 horas. Dois destes tanques tem capacidade para 180.000 litros de água, e o terceiro para 2.000 litros. A área seca total dos quatro recintos é de 172m².

O CRAM anualmente recebe muitos animais, entre mamíferos, quelônios e aves, tanto de ocorrência sazonal quanto permanente em território nacional. Entre as espécies de maior ocorrência no CRAM estão *Spheniscus magellanicus*, *Artocephalus*

australis (lobo-marinho-do-sul), *Otaria flavescens* (leão-marinho-do-sul), *Chelonia mydas* (tartaruga-verde), *Caretta caretta* (tartaruga-cabeçuda), *Larus dominicanus* (gaivotão), *Larus macullipenis* (gaivotinha de capuz), e aves dos gêneros *Fulmarus* (petréis), *Thalassarche* (albatrozes) e *Sterna* (trinca-réis).

Desde a criação do Centro, as aves constituíram o maior número de indivíduos recebidos, tendo os pinguins-de-magalhães especial relevância entre elas, uma vez que somam cerca de mil os exemplares recebidos desta espécie. Porém, já foram registrados no CRAM dois exemplares de pinguim-rei e dois pinguins-de-penacho-amarelo (Fig. 2).

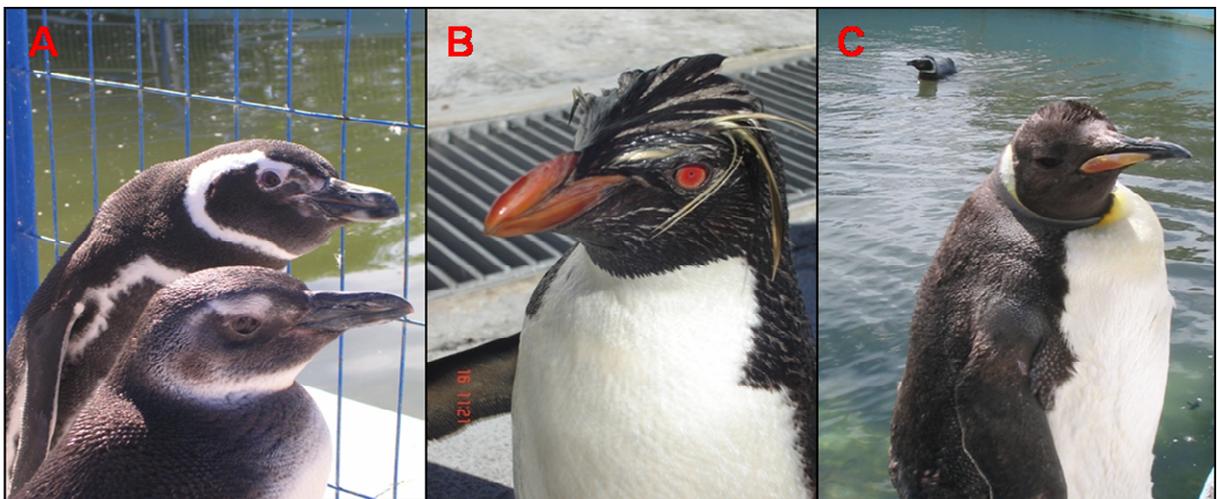


Figura 2 – Espécies de pinguins recebidas pelo CRAM. A) Pinguim-de-magalhães. À frente um exemplar juvenil, ao fundo um adulto. B) Pinguim-de-penacho-amarelo. C) Pinguim-rei.

Todos os pinguins recebidos para reabilitação no CRAM são avaliados clinicamente e destinados ao cativeiro interno, onde são divididos em grupos de no máximo cinco animais e mantidos em cercados de 1,5m², sobre piso coberto por jornais. Quando considerados recuperados, os animais são manejados para o cativeiro externo, sobre piso de cimento, com acesso à piscina, onde é finalizado o processo de reabilitação. Todos os pinguins destinados à soltura são provenientes do cativeiro externo.

3.2.1 - Principais doenças de pinguins em cativeiro

Durante o processo de reabilitação muitas das doenças que acometem pinguins estão associadas aos patógenos locais e aos fatores estressantes do cativeiro e da captura (CLARKE; KERRY, 1993).

Dentre as doenças de maior importância nessas aves em recuperação estão a aspergilose, a malária e o *bumblefoot*. Porém outras desordens tanto infecciosas quanto não infecciosas, como traumas, desidratação, intoxicação por óleo, distúrbios nutricionais e caquexia interferem e dificultam o processo de reabilitação (CLARKE; KERRY, 1993; FOWLER; CUBAS, 2001;).

A aspergilose é a doença fúngica mais comum em pinguins de cativeiro, causada por *Aspergillus* spp., sendo o *A. fumigatus* responsável por 90-95% dos casos (CLARKE; KERRY, 1993; CARRASCO, 2001; FOWLER; CUBAS, 2001). Aves marinhas são particularmente susceptíveis à aspergilose, e adquirem a enfermidade em ambiente terrestre. Os conídios, forma infectante do fungo, penetram no organismo principalmente por via aérea, afetando o sistema respiratório destas aves marinhas (BERCHIERI; MACARI, 2000).

A malária, doença causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, transmitida pela picada da fêmea do mosquito do gênero *Anopheles*, é a parasitose mais importante em pinguins de cativeiro, sendo os pinguins juvenis mais suscetíveis à infecção, porém há maior número de relatos de malária em pinguins-de-pata-preta (*Spheniscus demersus*) na África do Sul, por se tratar de uma área endêmica (DIEBOLD; BRANCH; HENRY, 1999).

O *bumblefoot*, ou pododermatite, síndrome caracterizada por afecções podais, está intimamente relacionado a situações de cativeiro (HALL, 2008). A afecção é de alta morbidade em pinguins, e geralmente ocorre em função de trauma causado no coxim plantar em função do sedentarismo associado ao alto peso corporal e a pisos mais firmes e rugosos do que os encontrados em situação de liberdade (FOWLER; FOWLER, 2001; GIRLING, 2003; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006). O traumatismo do coxim plantar promove uma solução de continuidade que se caracteriza por uma porta de entrada para contaminação secundária da lesão por microorganismos, podendo evoluir para septicemia e óbito (COOPER, 2002).

3.3 – *Bumblefoot*

Bumblefoot, ou pododermatite, é o termo utilizado para caracterizar processos inflamatórios podais, com etiologia multifatorial (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994; COOPER, 2002; SANTOS; NUNES; BAIÃO, 2002; SHANE, 2005; RAMIS, 2006; BERK, 2007; CUSTODIS; HAFEZ, 2007). Alguns autores classificam a síndrome como “doença bacteriana” (FRIEND, 1999; FOWLER; FOWLER, 2001; GIRLING, 2003; CUBAS; GODOY, 2004; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006; TOVAR, 2006; KELECOM, 2008;), enquanto outros atribuem “fatores traumáticos” ou “não-infecciosos” como responsáveis pelo desencadeamento do *bumblefoot* (CLARKE; KERRY, 1993; RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994; COOPER, 2002; SANTOS; NUNES; BAIÃO, 2002; SHANE, 2005; TEIXEIRA, 2008; MARQUES et al, 2009). Porém, todos estes estudos relacionam a ocorrência de infecção bacteriana com a evolução da síndrome.

O *bumblefoot* é geralmente de curso progressivo, havendo piora no quadro clínico de acordo com seu tempo de evolução (COOPER, 2002; SANTOS; NUNES; BAIÃO, 2002; RAMIS, 2006). Ele é caracterizado por qualquer lesão inflamatória ou degenerativa, com ou sem envolvimento de microorganismos patogênicos (COOPER, 2002; RAMIS, 2006), indo desde o simples enrijecimento ou tumefação podal até abscessos crônicos com afecção do tecido adjacente (SANTOS; NUNES; BAIÃO, 2002; TOVAR, 2006), podendo evoluir para osteomielite e septicemia (REIDARSON; McBAIN; BURCH, 1999; GIRLING, 2003; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006; TOVAR, 2006; MARQUES et al., 2009). A afecção é considerada por Clarke e Kerry (1993) como o maior problema em aves de cativeiro, sendo maior a sua ocorrência em aves sob esta condição - tanto em zoológicos e centros de reabilitação, quanto domiciliadas como *pets*, ou em aviários de produção - do que em aves de vida livre, onde é considerada rara (COOPER, 2002) ou com pouca relevância (RAMIS, 2006). Porém, em estudo publicado por Kelecom em 2008, foi diagnosticado entre as aves atendidas com afecções de membros inferiores, 45,5% de pododermatite nos animais de vida livre, contra 57,7% nos de gaiola, mostrando uma diferença pouco substancial entre ambos os grupos.

A síndrome *bumblefoot* acomete diferentes espécies de aves, e sua progressão clínica varia conforme a espécie da ave e os fatores predisponentes à ocorrência da

afecção (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994), que tem maior relevância em rapinantes, aves aquáticas, *galiformes*, *psitacíformes* (RAMIS, 2006) e *passeriformes* (MARQUES et al., 2009). Entre as principais causas para a ocorrência da síndrome está o trauma causado por superfície inadequada (SANTOS; NUNES; BAIÃO, 2002; TOVAR, 2006; TEIXEIRA, 2008), que é a principal causa para sua ocorrência em rapinantes, aves aquáticas e *galiformes*, porém para *passeriformes* e *psitacíformes* pode-se atribuir o *bumblefoot*, em muitos casos, à má nutrição e insuficiência hepática, por causarem hiperqueratose do coxim plantar (RAMIS, 2006). Outro fator relevante para aves grandes é a pressão causada pelo alto peso corporal sobre determinadas regiões do coxim (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006; TOVAR, 2006; BERK, 2007). Shane (2005) afirma que na produção de frangos, por exemplo, os machos são mais acometidos por pododermatite do que as fêmeas, por se tratar de uma categoria com peso corporal mais elevado.

Aves sedentárias, que dispensam pouco tempo nadando ou em vôo, depositam o peso corporal por um tempo maior do que o habitual sobre os membros inferiores, o que acarreta hipóxia, morte e necrose celular em função do comprometimento circulatório na região de apoio, onde há o depósito da sobrecarga de peso (FOWLER; FOWLER, 2001; GIRLING, 2003). Esses fatores somados a pisos inadequados, de material firme e rugoso, diferentes dos encontrados pelas aves quando em vida livre, favorecem o aparecimento da pododermatite, uma vez que possibilitam o surgimento de lesões por escarificação, como relatado por Marques et. al (2009) em um estudo realizado com 13 aves aquáticas mantidas em um aviário comercial, em recinto com acesso à água para nadar. No estudo, os autores descrevem lesões podais em 100% das aves, e atribuem o surto ao piso utilizado na margem da piscina, feito com cimento abrasivo, que foi considerado responsável pela lesão primária na pele podal.

A Patogênese exata do *bumblefoot* em diversas espécies de aves permanece ainda indeterminada, por este motivo tantas possíveis causas para sua ocorrência vem sendo discutidas (CUSTODIS; HAFEZ, 2007). Outro fator, ainda, incluído nas causas para ocorrência da síndrome são as lesões severas por poxvírus, com contaminação bacteriana secundária (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994).

O *bumblefoot* tende a ser bilateral, uma vez que quando um membro apresenta-se lesionado, o animal diminui o apoio sobre ele, enquanto o oposto passa a suportar sobrecarga de peso (COOPER, 2002; KELECOM, 2008).

As infecções bacterianas são citadas como um fator agravante ao *bumblefoot* (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994; COOPER, 2002; GIRLING, 2003; RAMIS, 2006; OSÓRIO et al., 2008; TEIXEIRA, 2008; MARQUES et al. 2009) ou ainda há autores que classificam a síndrome como “pododermatite bacteriana”, considerando *bumblefoot* somente as lesões infectadas (KELECOM, 2008). As bactérias mais frequentemente associadas aos casos de *bumblefoot* são as do gênero *Staphylococcus* (COOPER, 2002; CUBAS; GODOY, 2004; FRIEND, 2007), porém outros microorganismos como *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli* (GIRLING, 2003; STOUTE et al., 2009) e *Proteus* sp. (COOPER, 2002) também são relacionadas com a síndrome. Poucos são os estudos com o intuito de identificar os microorganismos relacionados à pododermatite. Teixeira (2008) confirma esta informação ao mencionar que não encontrou estudos anteriores ao seu que identificassem as espécies bacterianas relacionadas aos casos de *bumblefoot*.

Em seu estudo, Teixeira (2008) selecionou 23 pés de frangos com lesões de pododermatite por ele classificadas como severa. O autor identificou crescimento de bactérias gram positivas dos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Enterococcus*, onde a última apresentou-se em maior número de isolados. Neste estudo também foram isoladas bactérias gram negativas, classificadas presuntivamente como enterobactérias. Em um estudo mais recente, com 13 aves aquáticas mantidas em cativeiro, em contato com piso abrasivo, relacionou-se o *S. aureus* com um caso de pododermatite (MARQUES et al., 2009).

Fungos também podem estar relacionados com os casos de *bumblefoot* (TEIXEIRA, 2008), sendo citada a levedura *Candida* sp., que segundo Ritchie, Harrison e Harrison (1994) pode ser isolada de abscessos em casos crônicos de pododermatite, sendo encontrado na literatura consultada poucos estudos que pesquisem o envolvimento de agentes fúngicos na patogenia da doença. Stoute et al. (2009) relatou um caso de pododermatite micótica em peru, observando a infecção por hifas e células leveduriformes ao exame histopatológico, identificando à cultura *Cryptococcus saitoi*, *Cladosporium* sp., *Cudoniella* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus flavus* e

Arxiozyma telluris, incluindo espécies bacterianas, como *E. coli* e *Salmonella* sp., porém o agente causal da infecção primária foi considerado o *C. saitoi*.

O *bumblefoot* é considerado uma doença de alta morbidade, porém de difícil tratamento (REIDARSON; McBAIN; BURCH, 1999; FOWLER; FOWLER, 2001; GIRLING, 2003; CUBAS; GODOY, 2004), sendo rara a cura em casos muito avançados (COOPER, 2002). O tratamento da síndrome é baseado no estágio clínico da lesão, para tanto é necessário que se classifique a pododermatite em diferentes estágios, ou graus, a fim de permitir a correta intervenção (CUBAS; GODOY, 2004; KELECOM, 2008). A prevenção é considerada a chave para controlar o *bumblefoot* (FOWLER; FOWLER, 2001; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006), e esta se dá basicamente em melhorias de ambiente e manejo. Em zoológicos e aquários norte-americanos reduziu-se a morbidade do *bumblefoot* ao modificar o tipo de piso utilizado nos recintos, aumentar a frequência das limpezas deste piso e aplicar um bom esquema de monitoramento dos animais, a fim de identificar precocemente os casos de pododermatite (DIEBOLD; BRANCH; HENRY, 1999).

A classificação do *bumblefoot* quanto aos seus graus de severidade foi proposta em diferentes formatos, por diferentes autores. Kelecom (2008), em estudo realizado com aves de gaiola, dividiu as lesões em dois grupos, sendo incluídas no grupo I as lesões de leve a moderadas, e no grupo II as lesões mais graves, porém o autor não descreve quais os critérios utilizados para a determinação dos grupos. Teixeira (2008), utilizou a classificação de um matadouro-frigorífico de frangos, dividindo as patas em três grupos de acordo com as características macroscópicas do coxim plantar, onde grupo A não possuía lesões (sadia para *bumblefoot*), B possuía lesões brandas, com presença de edema e descamação da camada córnea, e C possuía lesões graves ou múltiplas, descamação intensa da camada córnea, acúmulo de material orgânico e focos de necrose. Baseado também nas características macroscópicas da lesão, Ritchie, Harrison e Harrison (1994) classificou o *bumblefoot* em sete graus, sendo o grau I é o menos, e o VII, o mais grave, e Hocking et al. (2007) propuseram escores de 0 a 4.

A classificação mais completa foi criada por Cooper (2002), onde para determinação do escore da afecção são considerados aspecto macroscópico da

lesão, sinais clínicos, aspecto da lesão à análise histopatológica e presença de contaminação secundária por microorganismos patogênicos. A classificação, porém, tem especial ênfase para a síndrome em rapinantes, que, de acordo com estes critérios é classificada em três tipos, onde o tipo I é o de melhor prognóstico, e o tipo III o de pior, conforme descrito abaixo.

- Tipo I:

Aspecto macroscópico: lesões brandas e localizadas que com frequência afetam um único dígito. A lesão pode ser proliferativa, com presença de calo em relevo, ou degenerativa, com aplanamento do epitélio ou, em alguns casos, com hiperemia, que leva à erosão ou ulceração. Tanto as lesões proliferativas quanto degenerativas evoluem para uma lesão de aspecto crostoso.

Infecção bacteriana: na maioria dos casos, não está relacionado com contaminação por microorganismos, mas sim com poleiros mal confeccionados ou pisos abrasivos.

Sinais clínicos: alguns casos de *bumblefoot* tipo I podem apresentar discreta claudicação e aumento de temperatura do membro ao toque, porém, algumas lesões podem não vir acompanhadas de sintomatologia clínica.

Achados histopatológicos: algumas lesões proliferativas de origem viral podem ser identificadas ao exame histopatológico como papiloma benigno. Porém na grande maioria das lesões observa-se espessamento do epitélio, podendo haver crostas sobre pequeno foco de infecção.

A presença de crosta no coxim plantar ou nos dígitos normalmente indica que houve ou há infecção sob ela, portanto pode-se considerar sua presença como um estágio intermediário entre *bumblefoot* tipo I e tipo II.

- Tipo II:

A maioria dos casos de *bumblefoot* tipo II ocorre como evolução do tipo I, porém alguns animais apresentam a síndrome primariamente em grau II, como nos casos de falcões que, em poleiros muito estreitos, lesionam a porção plantar

da pata com as garras, ou, outras aves, que quando contidas contraem os dedos, em posição de “agarrar” e acabam por lesionarem-se com suas unhas.

Aspecto macroscópico: as lesões são mais extensas, apresentando aumento de volume geralmente no coxim plantar, podendo-se constatar inchaço também em um ou mais dígitos. Esse aumento de volume pode conter material caseoso e drenar exsudato seroso.

Muitos casos de pododermatite em tipo II são atribuídas a corpos perfurantes, portanto, a lesão pode se apresentar com este padrão, ou ainda podem ser visualizados estes corpos estranhos no coxim plantar.

Infecção bacteriana: o tipo II do *bumblefoot* é, na maioria das vezes associado à contaminação bacteriana. Na maioria dos casos isola-se *S. aureus*, mas outros microorganismos também podem ser associados ao estágio da síndrome. O isolamento de *E. coli* ou outros bacilos entéricos gram negativos sugere enteroinfecção, o que torna o tratamento mais dificultoso.

Sinais clínicos: há aumento de temperatura e presença de dor ao exame das lesões. Os animais despendem maior tempo deitados ou parados, sem apoio no membro lesado.

Achados histopatológicos: lesão inflamatória, apresentando reação crônica, fibrose tecidual e células mononucleares, organizando um abscesso que contém uma massa de material caseoso, composto de fibrina, células sanguíneas e bactérias.

- Tipo III:

O *bumblefoot* de tipo III é essencialmente de caráter crônico e decorrente de evolução do tipo II, onde há maior preocupação com o envolvimento de infecção bacteriana sistêmica.

Aspecto macroscópico: a lesão apresenta aspecto semelhante a do tipo II, porém o autor não a descreve.

Infecção bacteriana: está presente, causada pelos mesmos microorganismos descritos no tipo II, porém, infectando tecidos mais profundos.

Sinais clínicos: há presença de dor e aumento de intermitente de temperatura na lesão, e os animais geralmente não conseguem utilizar o membro de forma satisfatória.

Achados histopatológicos: pode-se observar a formação de abscessos, com o material infeccioso cercado por formação de tecido fibroso.

A síndrome do tipo III pode comprometer o sistema locomotor, com danos aos tendões e artrites nas falanges e articulação tíbio-társica, havendo a necessidade de avaliação óssea, uma vez que este tecido também pode ser acometido, acarretando em osteomielite.

Para o correto tratamento do *bumblefoot* é necessário que se conheça o escore da síndrome. Para infecções leves, sem contaminação por microorganismos, situação em que as aves seriam classificadas dentro do Tipo I, pode-se apenas corrigir o manejo, retirando as causas predisponentes ao aparecimento do *bumblefoot*, desta forma há a regressão espontânea das lesões (COOPER, 2002). Pode-se também associar proteção podal, com o uso de bandagens, e acompanhamento das lesões (CUBAS; GODOY, 2004). Alguns autores sugerem ainda tratamento tópico com anti-séptico, (HITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994; KELECOM, 2008). As lesões com indicação de contaminação bacteriana, como presença de cáseo e secreção, devem ser tratadas com antibioticoterapia, tópica e sistêmica, e antiinflamatório tópico (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994; COOPER, 2002; CUBAS; GODOY, 2004).

As afecções mais severas, com contaminação por microorganismos patogênicos, devem ser tratadas com antibioticoterapia, preferencialmente depois de um teste de sensibilidade frente aos antimicrobianos, porém antibióticos com boa resposta frente a bactérias do gênero *Staphylococcus*, como cloxacilina, flucloxacilina, lincomicina, cefalosporina, fluoroquinolonas podem ser utilizados de forma sistêmica, enquanto clindamicina e gentamicina podem ser aplicadas na forma tópica, juntamente com um esteróide, sugerindo-se o DMSO (COOPER, 2002), ou ainda uma solução composta por 1,0g de piperaciclina mais 4,0mg de dexametasona em 10 ml de

DMSO (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994). Espera-se a redução dentro de um período de cinco a sete dias, porém caso o tratamento falhe, pode ser necessário intervir com debridamento cirúrgico da lesão (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994; COOPER, 2002).

Quando houver osteomielite o tratamento deve iniciar com sete dias de antibioticoterapia sistêmica e rescisão cirúrgica completa da lesão cutânea. Deve-se, a partir da remoção do abscesso, identificar os microorganismos envolvidos. Em seguida devem ser realizadas limpezas com Iodo povidona e soro fisiológico estéril, colocando-se gazes estéreis contendo esta solução sob as bandagens que necessitam ser trocadas em intervalos de dois a três dias, pelo período mínimo de uma semana. Após a cura deve-se instaurar um sistema de prevenção que evite recidiva (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994).

4 – Material e métodos

4.1 – Locais de trabalho

O estudo foi realizado no CRAM – FURG, e no Laboratório de Doenças Infecciosas, Setores de Micologia e Bacteriologia, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (FaVet – UFPel) em conjunto com o Laboratório Regional de Diagnósticos (LRD – FaVet – UFPel).

4.2 – Amostra de estudo / Avaliação clínica

Durante o período de dois anos, compreendidos entre 2008 e 2009, todos os pinguins-de-magalhães recebidos para reabilitação no CRAM foram avaliados quanto à presença ou ausência de *bumblefoot* no momento do ingresso. Destes, 129 pinguins recepcionados, ao longo dos dois anos, sem lesões podais foram incluídos no estudo, e avaliados para pododermatite durante todo o período em que estiveram em reabilitação.

As avaliações clínicas foram realizadas em 26 (20,16%) pinguins durante período de manutenção em cativeiro interno, sobre piso liso coberto com folhas de jornal dispostas em três camadas (Fig. 3), e 103 (79,84%) durante período de recuperação em cativeiro externo, com piso de cimento e acesso à piscina para nadar (Fig. 4).

Todos os animais eram provenientes de vida livre, estando no Centro para período de reabilitação e posterior soltura. As análises realizadas foram anotadas em fichas clínicas, elaboradas para avaliação dos animais (Apêndices).



Figura 3 – Pinguim-de-magalhães juvenil em reabilitação no CRAM mantido em cativeiro interno sob piso liso coberto com três camadas de jornal.



Figura 4 – Cativeiro externo no CRAM. Pinguins mantidos sobre piso de cimento, com acesso à piscina. Em destaque, com seta, um pinguim com *bumblefoot*.

A avaliação clínica se deu tanto pelas condições gerais dos pinguins quanto pela análise podal. Foram avaliados condição nutricional, postura, lesão por permanência em decúbito, apoio podal, aspecto e localização das lesões.

A amostra de estudo compreendeu 129 pinguins, submetidos a diferentes avaliações, porém nem todos os animais foram submetidos a todas as análises (Fig. 5), em função do manejo do CRAM, da adoção de novas metodologias e de fatores externos.

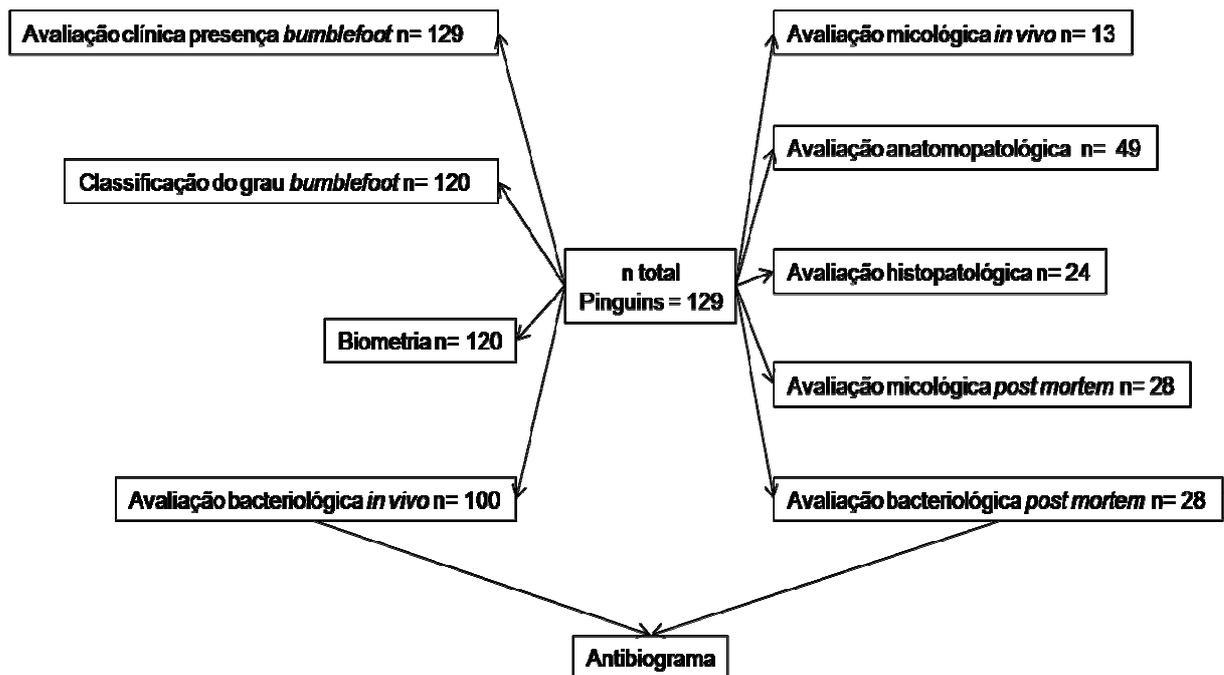


Figura 5 – Organograma das análises realizadas em pinguins-de-magalhães em uma população de 129 animais mantidos em cativeiro para período de reabilitação.

4.3 – Classificação do *bumblefoot*

Os pinguins avaliados foram divididos em dois grupos: com pododermatite, e saudáveis para *bumblefoot*, estes últimos apresentando-se sem lesões podais. Os animais com pododermatite foram divididos de acordo com o escore da lesão, que foi de I a III, sendo grau I considerado o mais leve, e grau III o de maior gravidade. Os graus de *bumblefoot* foram adaptados da classificação proposta por Cooper (2002).

Alguns dos padrões avaliados durante a classificação dos graus estão demonstrados nas figuras 6, 7 e 8.

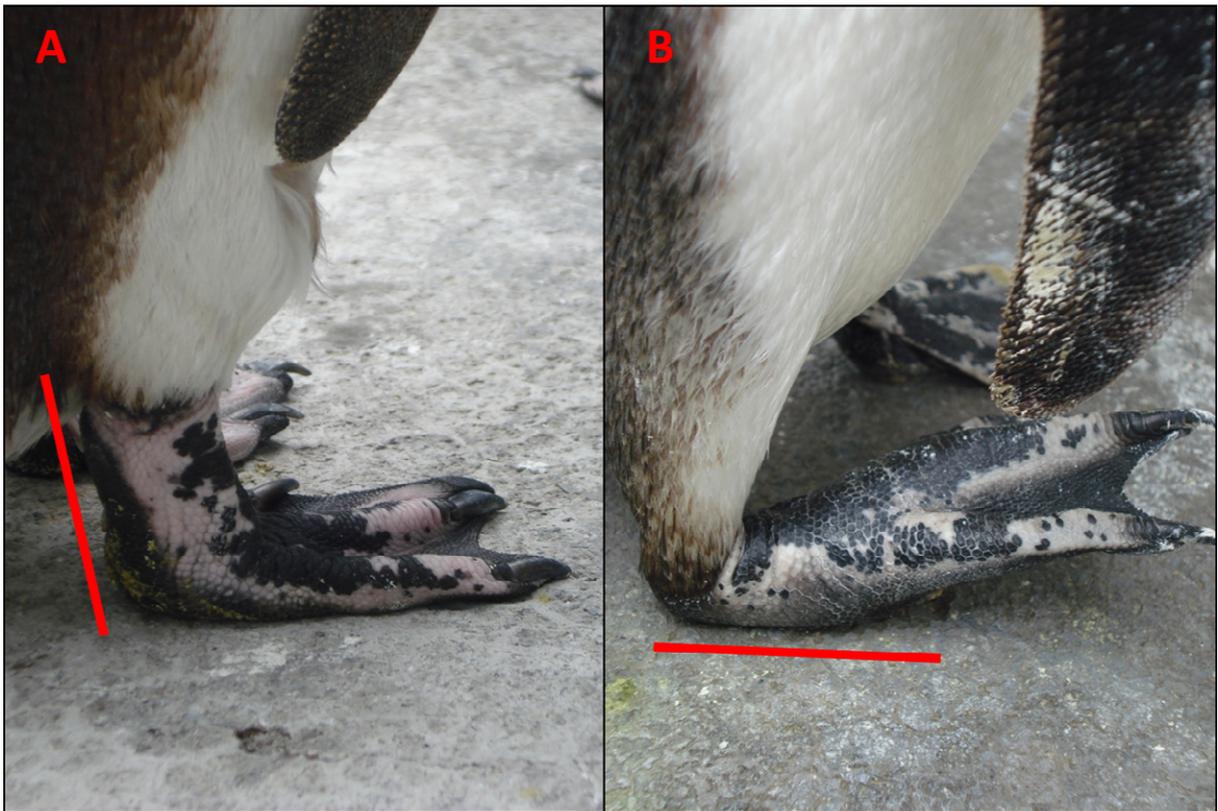


Figura 6 – Pinguins de magalhães. A: apoio normal para a espécie. B: Apoio anormal, sobre a articulação do tornozelo.

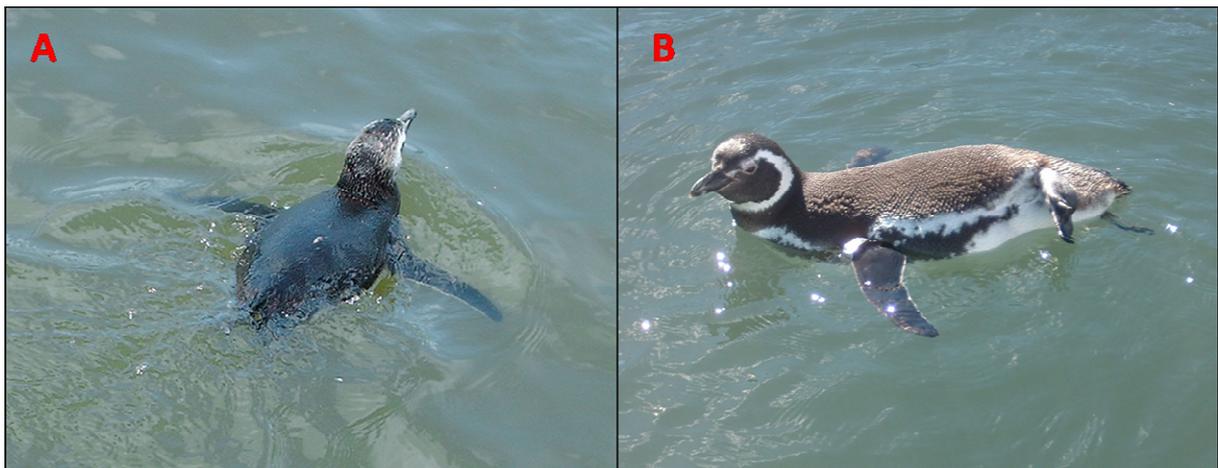


Figura 7 – Pinguins de magalhães. A: postura normal ao nadar, utilizando ambos os membros posteriores. B: postura anormal, com membro recolhido.



Figura 8 – Pinguins de magalhães. Demonstrando aumento crescente de volume nos coxins plantares demonstrados da figura A para C

Em grau I foram incluídos os pinguins que apresentavam lesão plantar leve, com a pele íntegra geralmente mostrando descoloração do coxim plantar e aumento de temperatura ao exame clínico. Nenhum dos animais apresentava sinais de infecção, como formação de cáseo, sangramento ou secreções (Fig. 9).

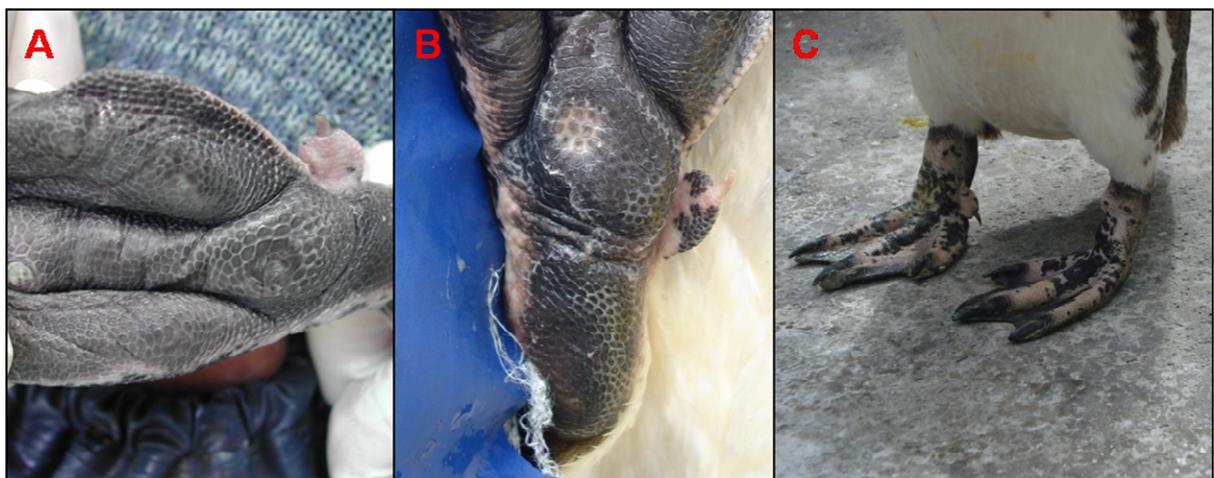


Figura 9 – Pinguins-de-magalhães com lesão classificada em grau I. A) e B) Lesão com descoloração do coxim plantar sem sinais de infecção. C) Apoio podal normal para a espécie.

Os pinguins classificados em grau II apresentavam lesões com sinais de contaminação por microorganismos, necessariamente com a quebra da integridade cutânea (Fig. 10). Porém, sem sinais de lesões articulares, ou seja, sem lesões externas na articulação do tornozelo e com movimento articular normal para a

espécie. Podendo, no entanto, apresentar apoio normal do membro sobre as falanges, ou anormal, sobre a articulação do tornozelo, geralmente não apoiando-se sobre as vértebras caudais e pigóstilo. Essas aves apresentavam aumento de volume podal e claudicação, porém mantinham o membro funcional, permitindo-lhes sua movimentação ao nadar. Quando em estação, algumas aves mantinham-se inclinadas, apoiando o peso corporal sobre o membro sadio ou com lesão mais recente, e de menor grau. A presença de dor e aumento de temperatura no local da lesão estavam presentes.



Figura 10 – Pinguins classificados com grau II de *bumblefoot*. A) e B) Lesões com sinais de infecção, com presença de cáseo no coxim plantar, e sem lesão na articulação do tornozelo. C) Pinguim-de-magalhães em estação, com apoio normal sobre os membros. Pata direita com edema evidente, sem alteração postural. D) Postura normal ao nadar.

Os pinguins considerados com grau III de *bumblefoot* apresentavam lesões infectadas por microorganismos, aumento de volume exacerbado e presença de lesões articulares externas ou internas, que acarretavam em perda parcial da função do membro, e apoio anormal sobre a articulação do tornozelo, estando frequentemente apoiados também sobre as vértebras caudais, com pigóstilo

encostado no piso. Em estação, as aves apresentavam-se inclinadas, evitando apoiar o peso sobre o membro mais lesado, porém outro indicativo da gravidade da lesão apresentava-se através de lesões de pena na região do osso peitoral (“quilha esternal”), pelo excesso de tempo em decúbito. Animais com grau III não apresentavam movimentação do membro à natação (Fig. 11).

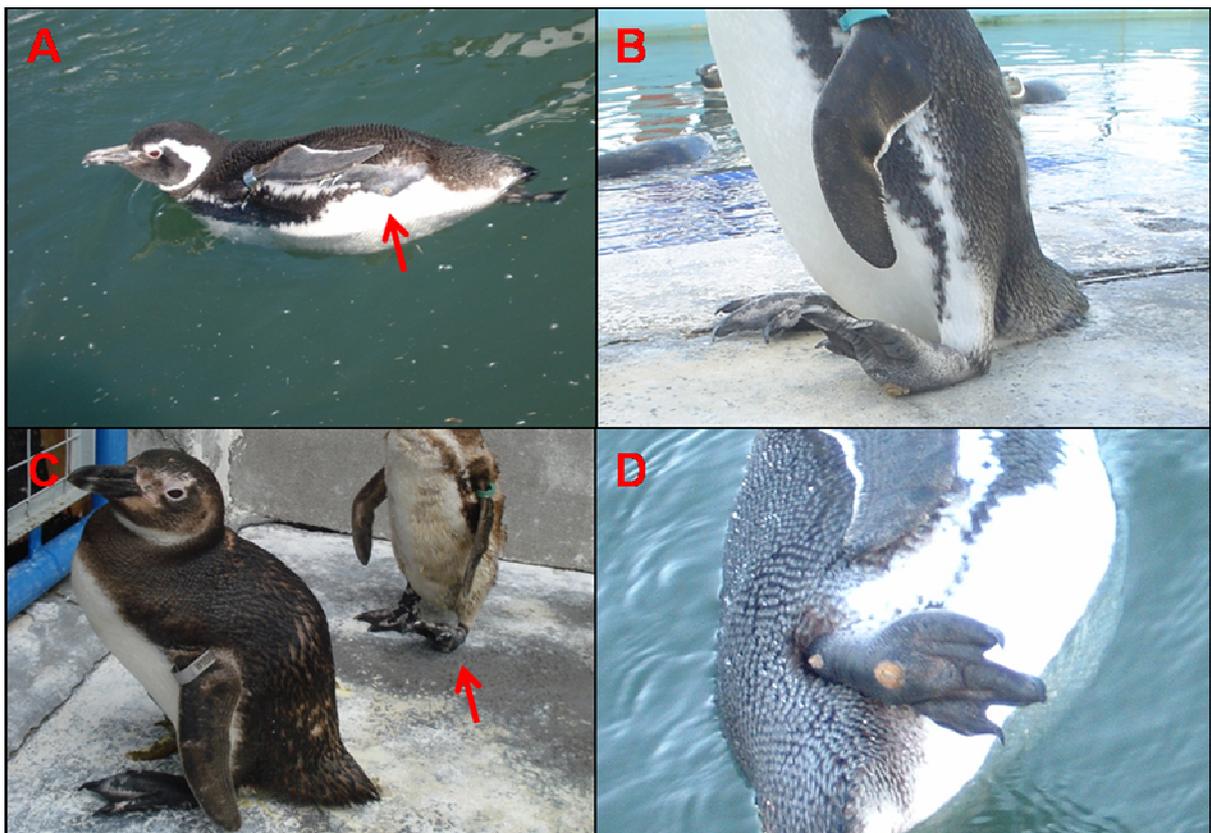


Figura 11 – Pinguins-de-magalhães classificados com lesão de *bumblefoot* grau III. A) Mudança de postura ao nadar, com membro posterior esquerdo recolhido. No detalhe, a lesão plantar. B) Apoio anormal, sobre articulação do tornozelo. Vértex caudais e pigóstilo apoiados no chão. C) Mudança de postura, evitando o apoio do peso sobre o membro com lesão em maior extensão. Ao fundo outro pinguim com pododermatite. D) Lesão com formação de cáseo em coxim e na articulação do tornozelo.

4.4 – Biometria do coxim plantar

Em todos os pinguins avaliados quanto ao grau da lesão (n=120 pinguins) foi realizada a medição da altura e largura do coxim plantar direito e esquerdo na altura

do primeiro dígito, com o auxílio de um paquímetro, como demonstrado na Fig. 12, a fim de mensurar as dimensões dos coxins plantares em animais saudáveis e nos diferentes graus de *bumblefoot*.

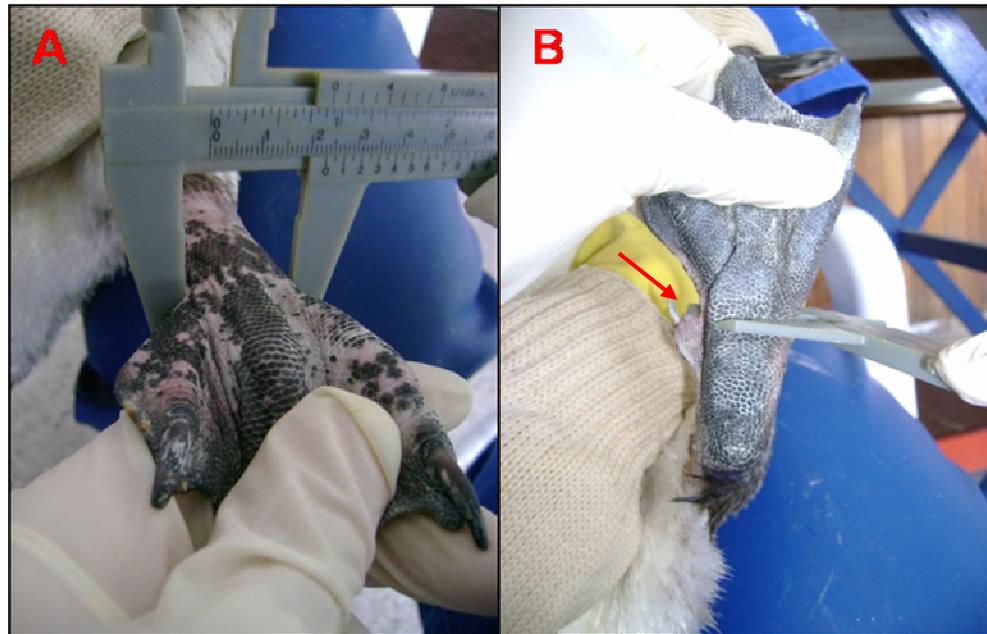


Figura 12 – Biometria do coxim plantar de pinguim-de-magalhães na altura do primeiro dígito (seta). A) Medida de largura. B) Medida de altura.

4.5 – Colheita de Amostras

4.5.1 – *In vivo*

As análises clínicas dos coxins plantares (n=129) e as colheitas de amostras para avaliação microbiológica podal dos pinguins (n=100 pinguins) foram realizadas durante as contenções para as avaliações clínicas dos animais. A contenção foi realizada por profissionais do CRAM, devidamente capacitados e experientes na área, utilizando-se o método de contenção descrito por Cubas, Silva e Catão-Dias (2006). Realizou-se a colheita de material dos membros direito e esquerdo dos coxins com e sem pododermatite, através da fricção de *swab* estéril no coxim plantar após limpeza local com gaze estéril (Fig. 13). No caso de lesões localizadas somente nos dígitos, a colheita foi feita no local da lesão.

Os *swabs* foram armazenados em tubos de ensaio com solução salina estéril, a fim de evitar o ressecamento das amostras, que foram encaminhadas para o Laboratório de Doenças Infecciosas, Setores de Micologia e Bacteriologia (FaVet – UFPel) no período máximo de 24 horas.

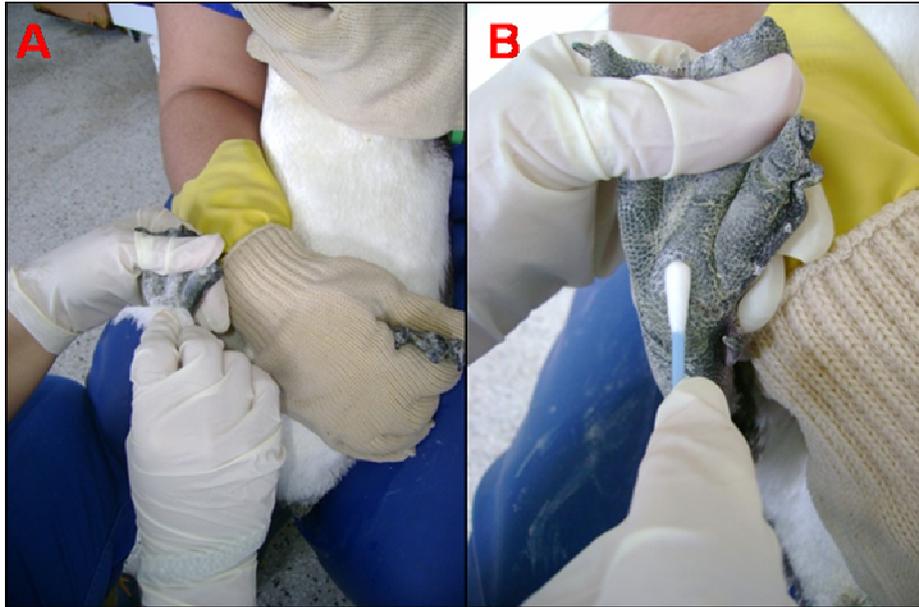


Figura 13 – Colheita de material de coxim plantar de pinguim-de-magalhães. A) Limpeza prévia com gaze estéril. B) Coleta através da técnica de fricção por *swab* estéril.

4.5.2 – *Post mortem*

Dos pinguins que vieram a óbito durante período de estudo (n= 85 pinguins) foi colhido um fragmento do coxim plantar (Fig. 14), bem como dos órgãos (rins, pulmão, coração, baço e fígado) das aves que apresentaram lesões em graus II e III, para avaliação microbiológica (n= 28 pinguins) e histopatológica (n= 24 pinguins) . As amostras para histopatologia foram mantidas em formalina 10% até seu processamento, enquanto que as amostras para microbiologia foram imediatamente processadas ou mantidas sob congelamento a -18°C até o processamento.



Figura 14 – Coxins plantares com pododermatite. A) Aspecto da lesão ao corte. B) Colheita de fragmento do coxim plantar.

4.6 – Processamento das amostras

4.6.1 – Setor de Micologia

No Setor de Micologia da FaVet – UFPel, foi processado o material proveniente de colheitas *pós morte* e *in vivo*, sendo semeados coxim plantar e órgãos em face não contaminada, após corte com lâmina de bisturi estéril, expondo a porção interna da lesão ou órgão.

O material foi semeado pela técnica de esgotamento em placas de petri contendo ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e encubadas a 37° C por até 14 dias, com observação diária das colônias. Após seu crescimento, foi realizado o repique, quando necessário, para obtenção da cultura pura.

4.6.1.1 – Identificação de fungos filamentosos

Os fungos filamentosos foram identificados a partir da observação do tempo de crescimento das colônias, de suas características morfológicas macroscópicas, como textura, topografia e coloração do verso e anverso, e de sua micromorfologia, através de uma alçada da colônia entre lâmina e lamínula com lactofenol azul de algodão, nos aumentos de 100X e 400X, observando-se estrutura de esporulação, tipo de propágulo, como blastoconídeos, artroconídios, clamidoconídios e esclerócitos, e coloração das hifas, sendo hialinas ou demáceas, e sua estrutura,

podendo ser contínuas ou septadas, e ainda uninucleadas, binucleadas ou multinucleadas.

4.6.1.2 – Identificação de fungos leveduriformes

As leveduras foram avaliadas quanto às características do verso e anverso das colônias, de suas bordas, consistência, coloração e textura. Para avaliação dos aspectos micromorfológicos foi realizado exame direto através de esfregaço dos cultivos corado pelo método de Gram com posterior visualização em aumento de 1000X com óleo de imersão. As espécies classificadas dentro do gênero *Candida* foram submetidas à prova do tubo germinativo.

4.6.2 – Setor de Bacteriologia

No Setor de Bacteriologia da FaVet – UFPel, foram processadas todas as amostras, provenientes tanto de coletas *in vivo*, quanto *pós mortem*. Do material proveniente de necropsia foram semeados coxim plantar e órgãos em face não contaminada, após corte com lâmina de bisturi estéril, expondo a porção interna da lesão ou órgão.

Todas as amostras foram semeadas em duplicata pela técnica de esgotamento em placas de petri contendo ágar sangue a 5% de sangue ovino e ágar MacConkey, incubadas a 37° C por 24-48 horas. Após esse período foi realizado repique para obtenção das culturas puras, quando necessário.

4.6.2.1 – Identificação de bactérias

Foi realizado exame direto de todas as colônias através da coloração de Gram, onde os microrganismos foram classificados em cocos, bacilos ou coco-bacilos e em Gram positivos ou Gram negativos, através de suas características micromorfológicas. Para classificação da espécie, as colônias foram submetidas a diversas provas bioquímicas, como teste de CAMP, teste de oxidação de carboidratos, provas da esculina, da gelatina, da uréia, nitrato e SIM. Além do bioquimismo foram avaliadas características como capacidade de hemólise, produção de catalase e coagulase.

4.6.3 – Setor de Patologia

No Setor de Patologia (LRD-FV-UFPel) foi realizado o exame histopatológico dos tecidos obtidos à necropsia através da fixação dos tecidos em formol a 10%, inclusão em parafina, e coloração de Hematoxilina-eosina (HE). As lâminas foram observadas em sub-macroscopia e microscopia para exame de alterações teciduais e avaliação da presença de microorganismos nos tecidos.

4.6.3.1 Classificação do grau de *bumblefoot* conforme avaliação histopatológica

De acordo com a extensão das lesões ao corte e com a profundidade dos tecidos afetados visualizados na histopatologia, fez-se uma nova classificação dos graus de *bumblefoot* nestes animais que foram a óbito. A classificação em grau I incluiu fragmentos de coxim plantar em que se observava a presença de hiperqueratose e descoloração da epiderme, sem a presença de foco infeccioso. As lesões classificadas em grau II apresentavam-se até a camada da epiderme com focos infecciosos, podendo haver sinais sistêmicos, como vasculite. A classificação em grau III incluiu todas as patas que apresentavam lesões profundas, ultrapassando a derme, e/ou animais com sinais de septicemia.

As classificações clínicas dos coxins quanto aos graus de *bumblefoot* foram comparadas com a classificação obtida ao exame necroscópico, pelo aspecto e profundidade da lesão ao corte, e ao exame histopatológico, podendo-se constatar com exatidão a extensão destas lesões.

4.7 – Testes de sensibilidade *in vitro* frente a antimicrobianos

As bactérias isoladas foram submetidas a teste de sensibilidade *in vitro* frente aos antimicrobianos enrofloxacina, cefalosporina, penicilina e, através da técnica de difusão em ágar. Para realização dos testes foram preparados inóculos bacterianos em solução salina estéril a partir de uma alçada da colônia, ajustados na escala 1 de McFarland. Os inóculos foram semeados com o auxílio de *swab* estéril, em toda superfície de uma placa de Petri contendo meio de cultivo Muller Hinton, e após decorrido tempo necessário para absorção pelo ágar (5 minutos) foram distribuídos os discos de papel impregnados com antibiótico em alta concentração, correspondendo a 10UI de penicilina, 30µg de cefalotina, 5µg de enrofloxacina, 10µg

de estreptomicina. As placas foram incubadas a 37°C por 24 a 48 horas, e a leitura dos resultados foi realizada através da medida do diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano, confrontado com uma tabela pré-estabelecida de valores de eficácia da droga frente a determinados microrganismos, determinando resultado de resistência, sensibilidade ou resistência intermediária.

4.8 – Comparação das classificações clínicas e histopatológicas

As classificações do grau de pododermatite dos animais conforme análise clínica e exame histopatológico foram confrontadas, a fim de averiguar a confiabilidade da análise clínica para a determinação do escore das lesões de *bumblefoot* sem a necessidade de realização de procedimento invasivo como biópsia para comprovação.

Todas as classificações das lesões pela análise histopatológica foram realizadas pelo mesmo observador. As lâminas receberam numerações diferentes das dos animais avaliados à necropsia, a fim de que o observador não tomasse conhecimento da classificação do grau de pododermatite pela avaliação anatomopatológica. Tornando, dessa forma, as análises mais confiáveis.

4.9 – Análise estatística

Para os valores de largura e altura podais, foi feita análise de variância através do procedimento General Linear Models do pacote estatístico SAS 8.0 (2001) procurando verificar estatisticamente as diferenças entre os graus: 0 (ausência de lesão); I; II e III. As variáveis que apresentaram diferença estatística ao teste F foram submetidas ao teste de Tukey ($P < 0,05$) procurando identificar diferenças entre as médias dos graus.

5 - Resultados

Dos 129 pinguins-de-magalhães incluídos no estudo, 97 possuíam *bumblefoot* em uma ou ambas as patas, o que demonstra uma incidência de aproximadamente 75% da doença nestes animais quando mantidos em cativeiro temporário para período de reabilitação. Os 32 animais restantes não apresentavam lesões nos membros inferiores.

Dos 129 animais avaliados, 20,16% (26/129) estavam mantidos em cativeiro interno sobre piso liso com três camadas de jornal, e 79,84% (103/129) em cativeiro externo, com piso de cimento e acesso à água para nadar.

Entre os animais mantidos em cativeiro interno a maioria apresentava-se saudável para *bumblefoot* (Fig. 15). Para os animais mantidos em cativeiro externo, os dados foram invertidos, prevalecendo os pinguins com *bumblefoot* em pelo menos um dos membros (Fig. 16).

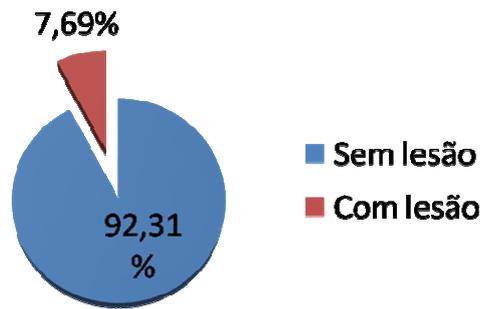


Figura 15 – Relação dos animais com e sem lesão podal mantidos em cativeiro interno para reabilitação no CRAM.

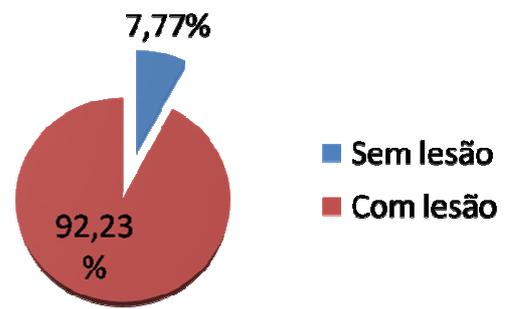


Figura 16 – Relação dos animais com e sem lesão podal mantidos em cativeiro externo para reabilitação no CRAM.

Dos 97 animais com *bumblefoot*, 88 foram avaliados quanto ao grau, de acordo com análise clínica. Entre estes, aproximadamente 90% (79/88) apresentava lesão bilateral (Fig. 17), contra cerca de 10% (9/88) com lesão em apenas um dos membros.

Ao todo, 32 pinguins não possuíam *bumblefoot*, 28 apresentavam o grau I da síndrome como o mais elevado, 42, o grau II e 18 o grau III. As associações entre graus de pododermatite estão discriminadas na tab. 1, onde grau zero representa membro saudável.

Tabela 1 – Distribuição de pinguins-de-magalhães de acordo com as associações dos graus de *bumblefoot* em membros inferiores direito e esquerdo.

Associação entre graus	Número de animais
0 – 0	32
0 – 1	7
0 – 2	2
1 – 1	21
1 – 2	10
1 – 3	2
2 – 2	30
2 – 3	13
3 – 3	3
TOTAL	120

0 – membro sem pododermatite. 1 – membro com grau I de pododermatite. 2 – membro com grau II de pododermatite. 3 – membro com grau III de pododermatite



Figura 17 – Pinguim-de-magalhães com *bumblefoot* bilateral. Lesão em grau II no membro direito, e grau III no esquerdo).

As medidas de altura dos membros mostrou diferença estatística significativa ($P < 0,0001$) entre todos os graus. Como demonstrado na Fig. 18, onde observa-se o aumento das medidas de altura dos coxins plantares em conformidade com o aumento da severidade da lesão. Da mesma forma, as medidas de largura dos coxins plantares foram diferentes estatisticamente ($P < 0,0001$), exceto na interação entre grau II e III ($P > 0,005$), embora estes tenham demonstrado tendência a acompanhar o escore da lesão, como demonstrado na Fig. 19.

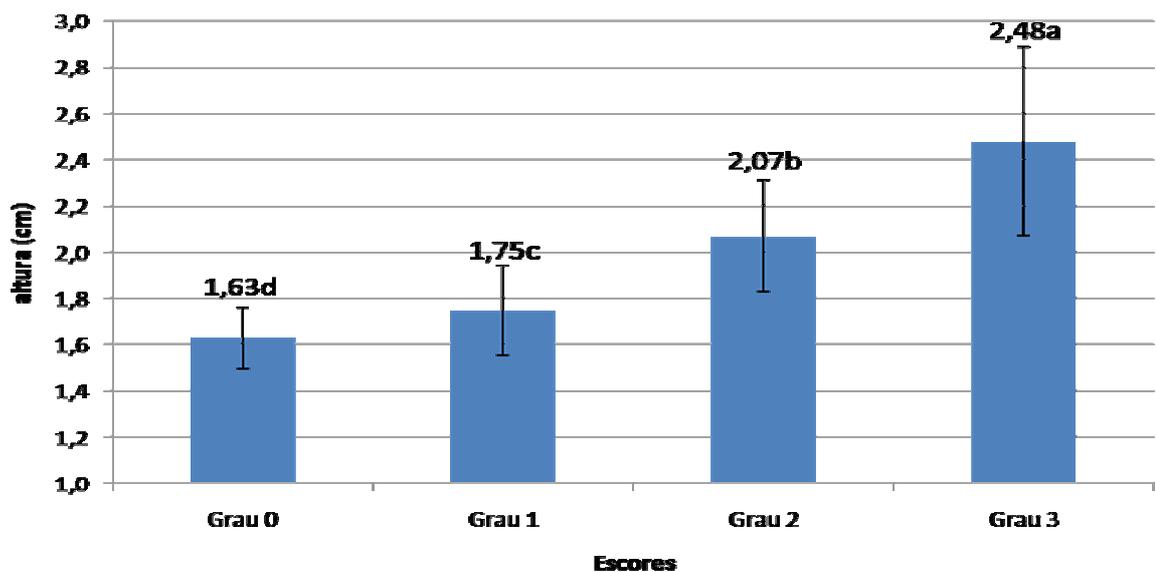


Figura 18 – Médias e desvio padrão das alturas de coxins plantares de pinguins-de-magalhães conforme os escores de *bumblefoot*. Letras diferentes representam diferença estatística ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

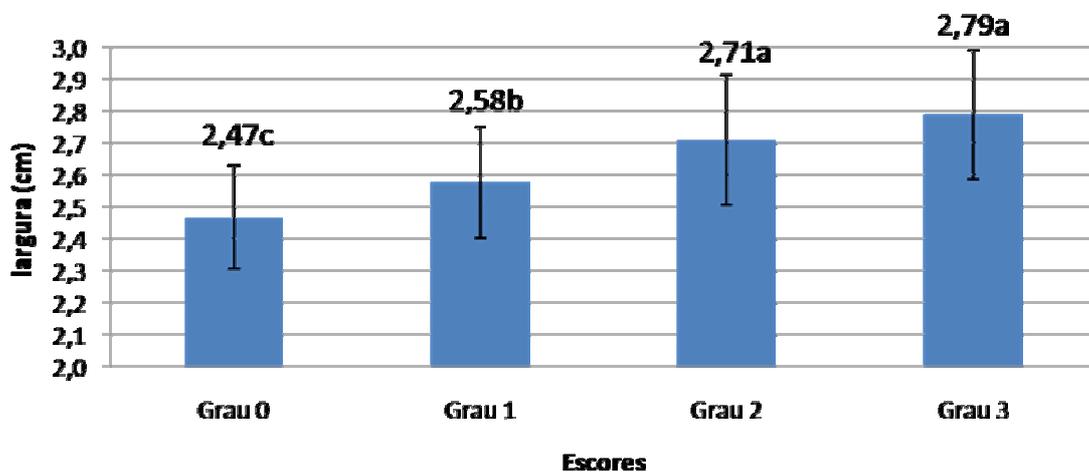


Figura 19 – Médias e desvio padrão das larguras de coxins plantares de pinguins-de-magalhães conforme os escores de *bumblefoot*. Letras diferentes representam diferença estatística ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Quanto ao crescimento microbiano das colheitas realizadas *in vivo*, foram avaliados 100 animais (200 patas) de acordo com a presença de bactérias, entre essas análises, 13 (26 patas) também foram avaliadas quanto à presença de fungos.

Entre as patas avaliadas quanto ao crescimento fúngico, não houve isolamento em 88,46% (23/26) das amostras. Os 26 coxins plantares foram divididos em grupos 1 e 2, sendo o primeiro composto pelos membros com *bumblefoot* grau zero (sem lesões) e I, e o segundo composto por membros com lesões em graus II e III, ou seja, sem e com processo infeccioso, respectivamente.

O Grupo 1 foi composto por 8 patas e não obteve crescimento fúngico, correspondendo a 30,77% das amostras (8/26). No Grupo II houve isolamento de fungos em 16,67% dos coxins plantares (3/18), sendo identificado *Candida albicans* em 100% deles, estando em um caso (33,33%) associada ao crescimento de *Aspergillus fumigatus*.

Dos 200 coxins plantares avaliados *in vivo* quanto à presença de agentes bacterianos, 85% (170/200) apresentou crescimento, independente da presença ou ausência de lesões e de seus graus. As 200 amostras foram divididas em dois grupos, da mesma forma que os coxins avaliados quanto à presença de fungos, sendo o primeiro grupo composto pelos 101 membros com ausência de processo infeccioso (graus zero e I), e o segundo pelos 99 membros com infecção instalada (graus II e III).

No Grupo 1, houve crescimento bacteriano em 84 amostras (83,17%) obtendo-se 101 isolados (fig. 20). Destas 84 amostras, em 31 (36,9%) foram encontradas associações bacterianas, com oito diferentes padrões: 17 com crescimento de poliflora; seis com interação de *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp.; cinco com diferentes cepas de *Staphylococcus* sp.; dois com *Staphylococcus* sp. associado a *Kurthia* sp.; dois com *Staphylococcus* spp. e poliflora; um com *Staphylococcus* sp. associado à *E. coli* e um com *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp..

No Grupo 2, isolou-se bactérias em 86 amostras (88,89%) (fig. 21). Entre elas, 26 (30,26%) apresentaram crescimento de mais de uma espécie, havendo três diferentes tipos de interação: crescimento de poliflora em 12 membros, interação de *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. em 11, e crescimento de diferentes cepas do gênero *Staphylococcus* em três coxins plantares.

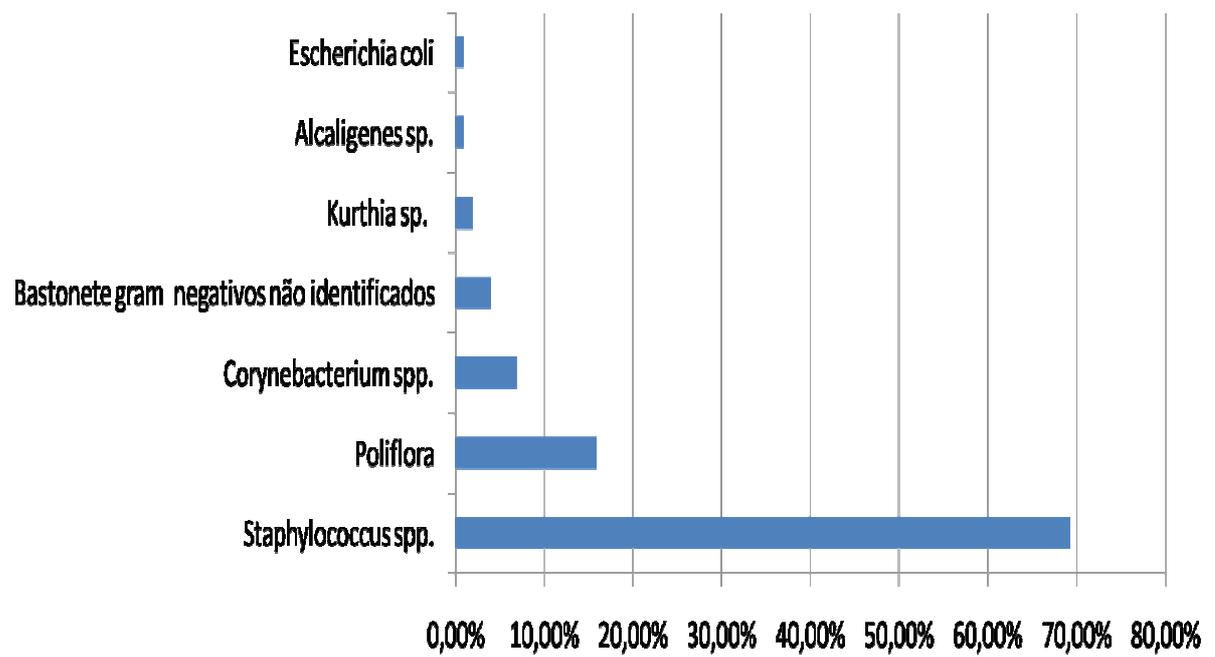


Figura 20 – Crescimento bacteriano a partir das colheitas *in vivo* dos coxins plantares saudáveis e com lesão em grau I (sem infecção bacteriana).

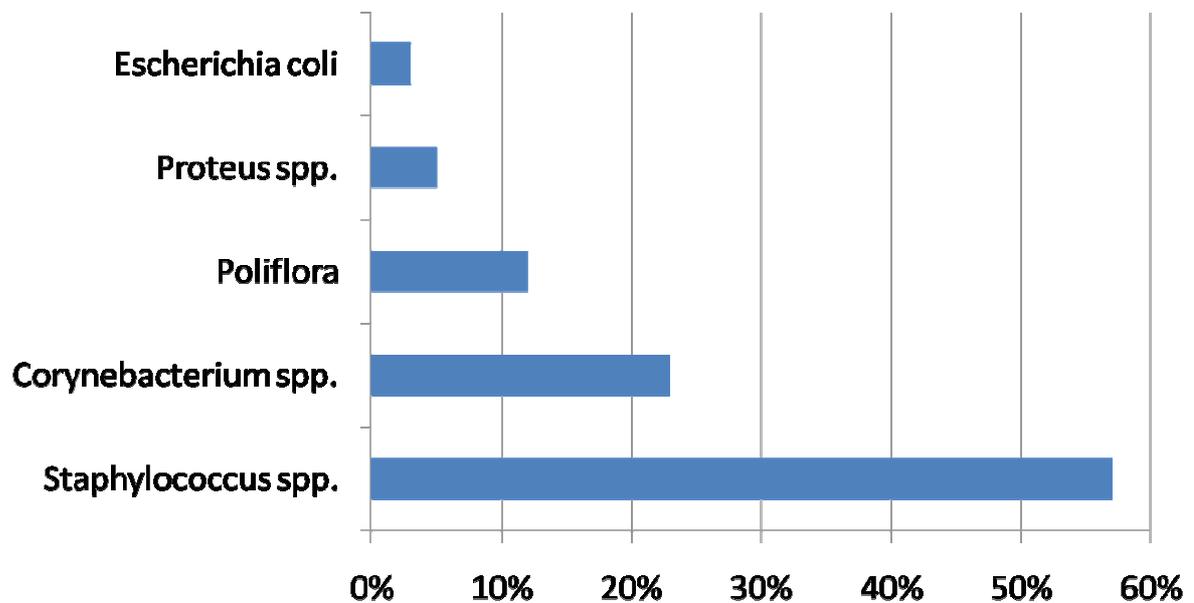


Figura 21 – Crescimento bacteriano a partir das colheitas *in vivo* dos coxins plantares com lesões em grau II e III (com infecção bacteriana).

As análises anatomopatológicas realizadas durante o período de estudos envolveram 49 animais (98 coxins) com *bumblefoot* em pelo menos um dos membros. Destes, três possuíam lesão unilateral, o que significa que um de seus membros era sadio para pododermatite, correspondendo a 3,06% (3/98) do total de coxins avaliados. A freqüência de lesões de *bumblefoot* correspondeu nos graus I, II e III a 9,18% (9/98), 59,18% (58/98) e 31,63% (31/98), respectivamente.

As análises histopatológicas foram realizadas em 48 coxins plantares com lesão, escolhidos de forma a obter-se grupos representativos de cada grau (fig. 22).
A

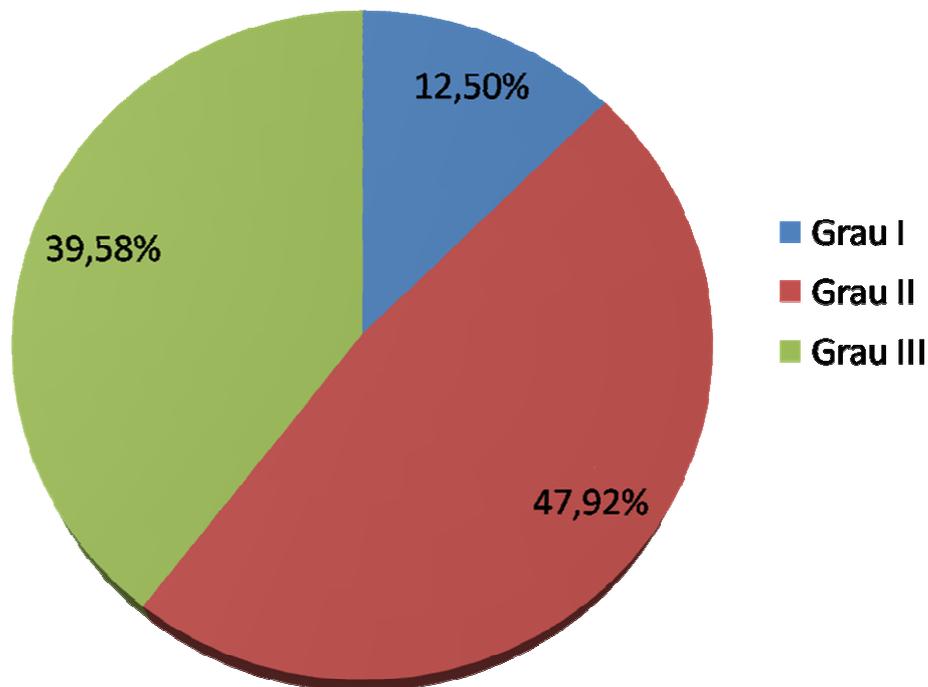


Figura 22 – Análise histopatológica de 48 coxins plantares com pododermatite, demonstrando a distribuição do percentual de amostras correspondendo a cada grau de lesão.

Entre os coxins plantares classificados em grau I, não foi observada a presença de infiltrado perivascular, já entre os coxins plantares de grau II diversas amostras apresentaram infiltrado perivascular de células polimorfonucleares e mononucleares, além de focos de infecção bacteriana na derme. Da mesma forma, os coxins de grau

III apresentaram infiltrado perivascular, além de lesões profundas e, em alguns casos colônias bacterianas no interior de vasos sanguíneos e dos órgãos analisados. Na maioria destes coxins classificados com grau III de *bumblefoot* havia formação de abscesso, caracterizando a cronicidade do processo.

As alterações encontradas nos coxins plantares com lesões classificadas em graus II e III estão representadas nas figuras 23, 24, 25, 26, 27, 28 e 29.



Figura 23 – Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com *bumblefoot* grau II, demonstrando perda da camada de *rete ridges* (setas vermelhas), presença de ulceração até a camada da epiderme, e colônias bacterianas intralesionais (setas verdes). No detalhe, sub-macroscopia da lesão.

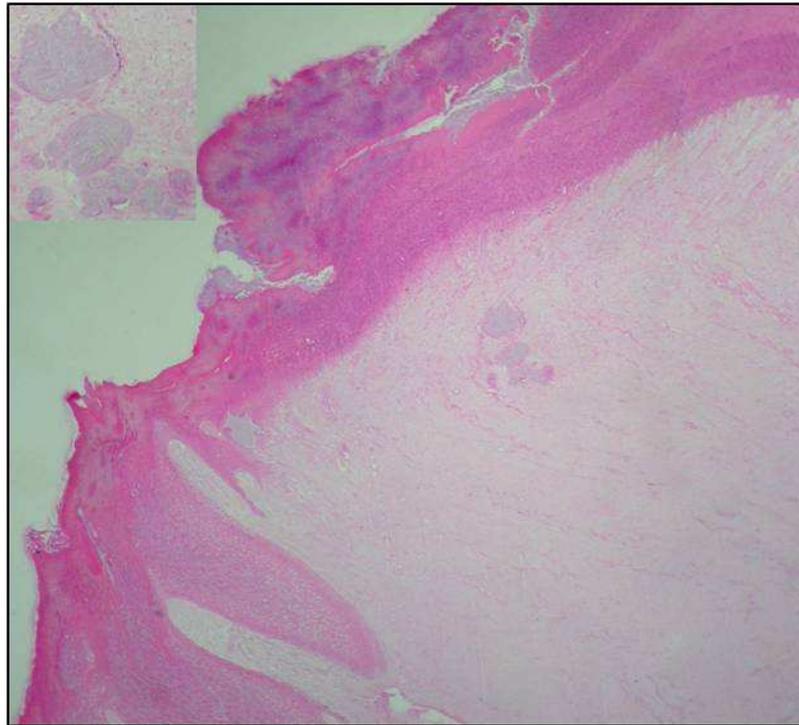


Figura 24 – Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com *bumblefoot* grau II, mostrando no detalhe presença de colônias bacterianas na derme.

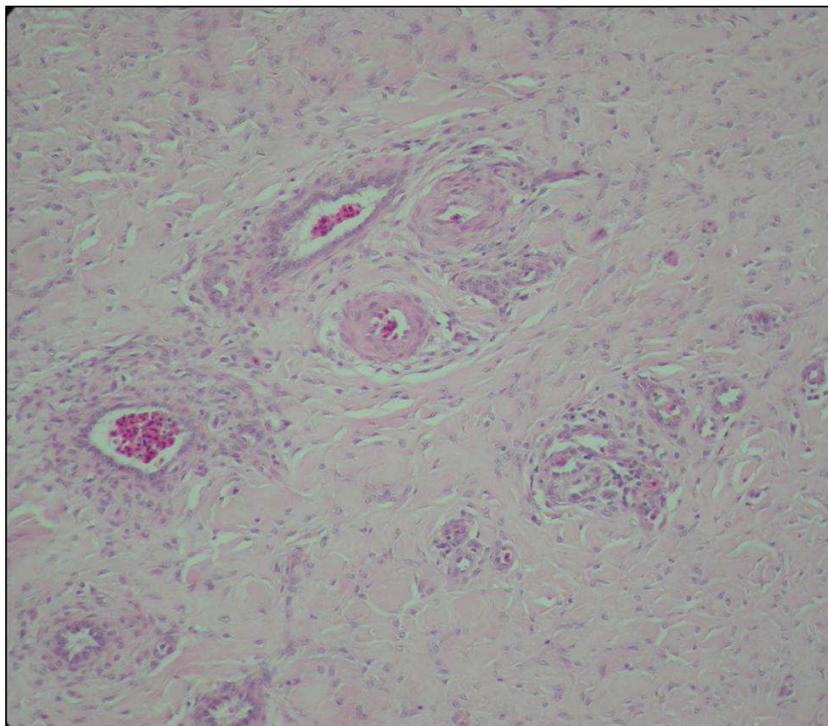


Figura 25 – Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com grau II de *bumblefoot*, apresentando vasculite em vasos da derme.

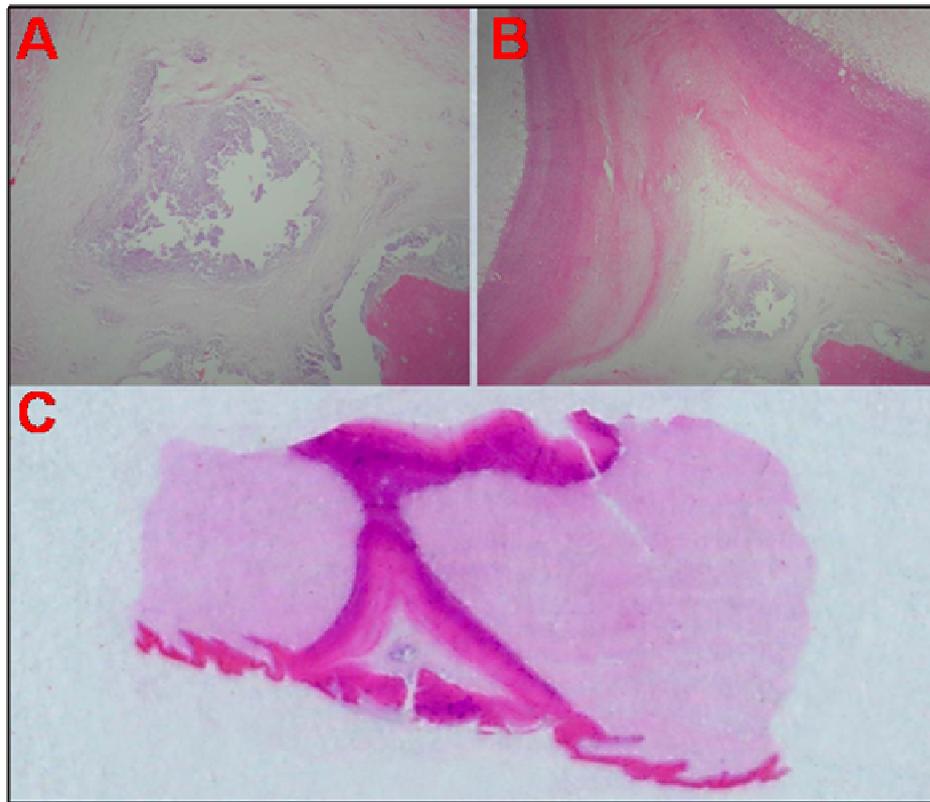


Figura 26 – Coxim plantar de pinguim-de-magalhães com *bumblefoot* em grau III. A) Detalhe do abscesso. B) Úlcera profunda, com presença de necrose caseosa. C) Extensa área de ulceração e grande massa de necrose caseosa na derme. Orifício de cerca de 0,3cm com colônias bacterianas ao redor.

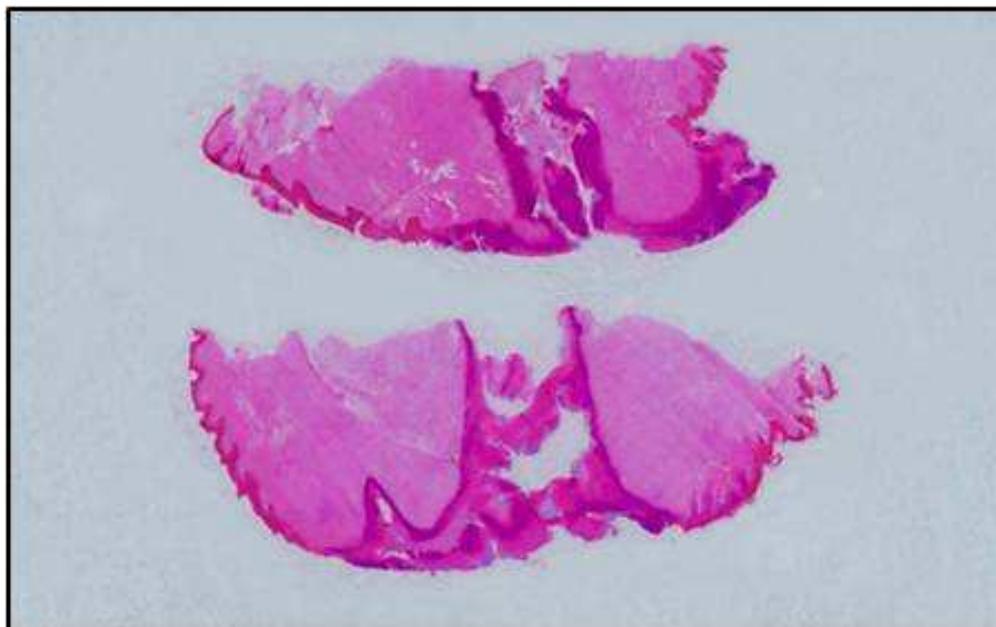


Figura 27 – Sub-macroscopia de coxim plantar de pinguim-de-magalhães com *bumblefoot* em grau III, mostrando extensa ulceração atingindo tecido subcutâneo, com grande área de necrose e presença de colônias bacterianas.

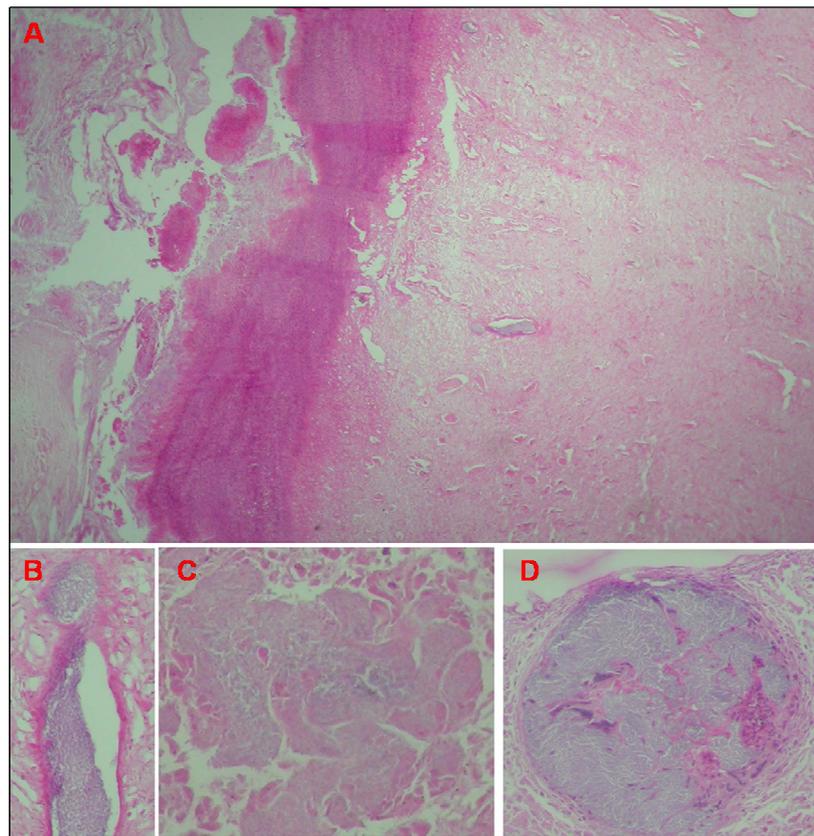


Figura 28 – *Bumblefoot* grau III. Demonstrando em A vaso sanguíneo na derme com colônias bacterianas (seta), aparecendo em foco em B, e exuberante descamação da camada de queratina. Presença de colônias bacterianas no fígado com diferentes tempos de infecção, onde C, é a colonização mais recente, e D, a mais antiga, evidenciado pela discreta proliferação de tecido conjuntivo.

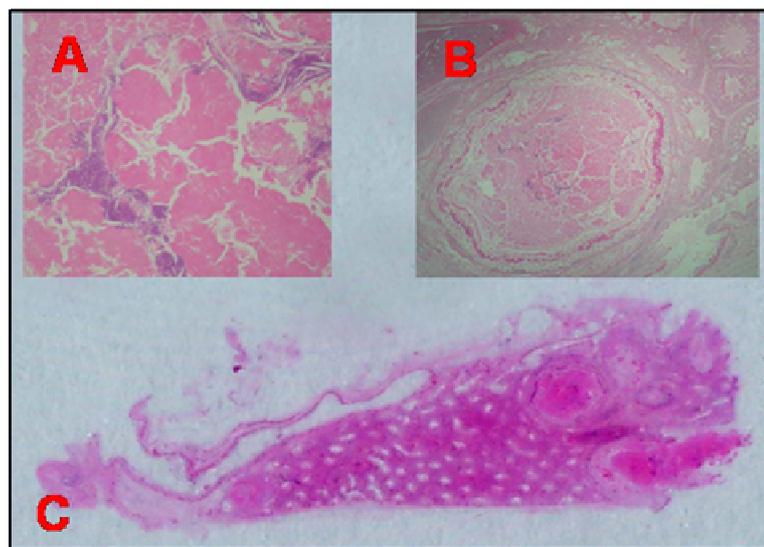


Figura 29 – Abscessos bacterianos em pulmão de pinguim-de-magalhães (B e C) apresentando septicemia com lesão plantar em grau III como causa primária. Pode-se observar o a presença de bactérias e restos celulares no interior do abscesso (A).

Após a classificação histológica das lesões, estas foram confrontadas com a classificação clínica. Dos 48 coxins plantares avaliados à histopatologia, 93,75% (45/48) corresponderam à avaliação clínica, e 6,25% obtiveram classificações diferentes. Estes foram três coxins plantares com lesões em grau III constatado ao exame microscópico, e classificados em grau II à avaliação clínica.

A análise microbiológica das amostras *post mortem* foi realizada em 56 coxins plantares, identificando-se agentes fúngicos e bacterianos.

Houve septicemia com *bumblefoot* como causa primária (confirmado à histopatologia e à análise microbiológica) em seis animais com lesões em grau III causados por cepas de *Staphylococcus* sp., *Corynebacterium* sp, *Streptococcus* spp. e *E. coli*, como demonstra a fig. 30.

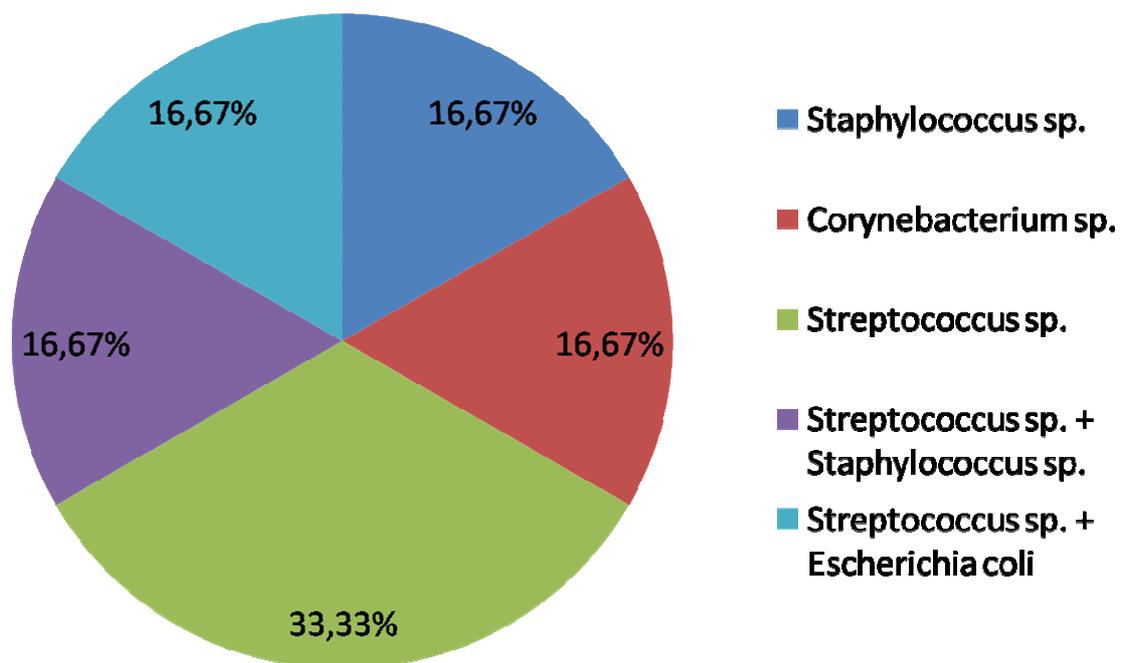


Figura 30 – Isolados bacterianos de 6 casos de septicemia em pinguins-de-magalhães, tendo como causa primária *bumblefoot*.

Nos 22 animais (44 coxins plantares) sem infecção sistêmica, isolou-se das lesões podais de em ordem decrescente *Staphylococcus* spp.; *E. coli*; bastonete gram negativo não identificado, poliflora, *Corynebacterium* spp.; *Streptococcus* spp., e cocobacilo gram negativo não identificado. Placas sem crescimento bacteriano representaram 11,36% do número total de amostras.

Referente à avaliação micológica, 33,93% (19/56) dos 56 coxins plantares com *bumblefoot* coletados à necropsia, não apresentaram crescimento; sendo isolados, em ordem decrescente *Aspergillus fumigatus*; *Rhodotorula* spp.; *Candida albicans*.; e *A. flavus*.

Cepas de *A. fumigatus* foram isoladas das lesões podais de 15 animais, entre os quais 10 tiveram como causa *mortis* a aspergilose causada por *A. fumigatus* (Fig. 31). De outros seis animais que vieram a óbito por aspergilose, não isolou-se o fungo de lesões plantares.



Figura 31 – Colheita de amostras de lesão podal de pinguim-de-magalhães com aspergilose. Em A observa-se a formação de colônias de *A. fumigatus* em saco aéreo, em B pode-se observar a profundidade da lesão de grau III, atingindo tecidos adjacentes.

Os antibiogramas de todas as bactérias isoladas tanto de lesões *in vivo* quanto *post mortem* resultaram em maior sensibilidade das cepas frente ao antibiótico cefalosporina, seguido de enrofloxacina, estreptomicina e penicilina. Estes valores estão descritos em tab. 2.

Tabela 2 – Susceptibilidade dos microorganismos isolados de coxins plantares de pinguins-de-magalhães à cefalosporina, enrofloxacin, estreptomicina e penicilina.

Microorganismo	Cefalosporina (%)			Enrofloxacin (%)			Estreptomicina (%)			Penicilina (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Gênero <i>Staphylococcus</i>	100	0	0	93,2	0	6,8	54,1	6,6	39,3	34,7	0	65,3
▪ <i>Staphylococcus</i> hemolítico	100	0	0	33	0	67	0	100	0	0	0	100
▪ <i>Staphylococcus</i> não hemolítico	100	0	0	100	0	0	50	0	50	50	0	50
▪ <i>Staphylococcus</i> coagulase positive	100	0	0	100	0	0	50	0	50	50	0	50
▪ <i>Staphylococcus</i> coagulase negative	100	0	0	100	0	0	88,9	0	11,1	30,8	0	69,2
▪ <i>S. intermedius</i>	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100
▪ <i>S. aureus</i>	100	0	0	50	0	50	0	50	50	0	0	100
▪ <i>Staphylococcus</i> sp.	100	0	0	97,9	0	2,1	43,7	0	56,3	38	0	62
<i>Corynebacterium</i> sp.	92,9	0	7,1	61,5	23,1	15,4	66,7	13,3	20	50	0	50
<i>Kurthia</i> sp.	100	0	0	100	0	0	0	0	100	0	0	100
<i>Alcaligenes</i> sp.	100	0	0	0	100	0	0	0	100	100	0	0
<i>E. coli</i>	0	33,3	66,7	100	0	0	33,3	0	66,7	0	0	100
TOTAL	95,3	3,5	1,2	88,2	4,3	7,5	55,5	6,2	38,3	36,7	0	63,3

S = Sensível; I = Intermediário; R = Resistente

Quanto aos resultados dos testes de sensibilidade *in vitro* das colônias bacterianas de animais com infecção instalada (graus II e III) e sem infecção instalada (graus 0 e I), obteve-se, para todos os antibióticos testados, maior sensibilidade por parte das cepas provenientes de membros não infectados, conforme demonstrado na tab. 6.

Tabela 3 – Relação de sensibilidade dos microorganismos isolados de coxins plantares com e sem infecção, frente a antibióticos de uso rotineiro em medicina veterinária.

Antimicrobiano	Origem Microorganismo	
	Com infecção	Sem infecção
Cefalosporina	94,12%	95,45%
Enrofloxacina	82,76%	91,89%
Estreptomicina	34,1%	65%
Penicilina	32,76%	45,1%

6 - Discussão

Todos os pinguins recebidos pelo CRAM e avaliados no estudo encontravam-se saudáveis para *bumblefoot* no momento da captura, porém quando realizadas análises clínicas em período de cativeiro, aproximadamente 75% das aves apresentou lesões podais, o que demonstra pouca ou nenhuma relevância da enfermidade nestas aves em vida livre, e sua alta morbidade em cativeiro. Segundo Clarke e Kerry (1993), muitas das patologias de pinguins são diagnosticadas em cativeiro em função de fatores e patógenos locais, não sendo encontradas em animais de vida livre. Os autores consideram ainda, o *bumblefoot* como o principal problema de aves mantidas em recintos, e Diebold, Branch e Henry (1999), descrevem a síndrome como uma entre as três enfermidades mais comuns em pinguins mantidos em zoológicos.

Em estudos realizados com rapinantes, foi observado que menos de 3% das aves oriundas de vida livre apresentava pododermatite, e que cerca de 16% dos animais saudáveis desenvolviam a síndrome após período de cativeiro (RODRIGUEZ-LAINZ et al., 1997). Os resultados obtidos com pinguins-de-magalhães no CRAM são ainda mais graves, uma vez que 100% dos pinguins recebidos oriundos de vida livre estava saudável para *bumblefoot*, porém quando em cativeiro, o percentual de morbidade foi quase cinco vezes superior ao encontrado em rapinantes.

Em outras espécies de aves, o *bumblefoot* também é relatado como doença predominantemente de cativeiro (RODRIGUEZ-LAINZ et al., 1997; DIEBOLD; BRANCH; HENRY, 1999; RAMIS, 2006; MARQUES et al., 2009), o que vai de acordo com os resultados obtidos no presente estudo. Porém, Kelecom em 2008,

após a avaliação de 65 “aves de gaiola” atribuiu morbidades muito semelhantes a aves mantidas em vida livre e em cativeiro, sendo em ambas próximo de 50%, o que demonstra resultados avessos aos obtidos com os pinguins-de-magalhães recebidos para reabilitação no CRAM.

Tal discordância provavelmente se deva aos hábitos aquáticos dos pinguins, que na natureza frequentam ambiente terrestre por curtos períodos, utilizando os membros inferiores mais como leme, à natação, do que como apoio, em estação (FOWLER; FOWLER, 2001; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006). Enquanto que pequenas aves em vida livre estão frequentemente apoiadas sobre os coxins plantares, estando mais susceptíveis a traumatismos (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006). Outro fator que também deve ser levado em consideração é que em passeriformes muitos casos de pododermatite são atribuídos à má nutrição e insuficiência hepática, por causarem hiperqueratose do coxim plantar, podendo este ser um dos motivos da alta morbidade do *bumblefoot* em vida livre (RAMIS, 2006).

Quando realizada a avaliação da frequência da pododermatite de acordo com o tipo de cativeiro, houve predominância da enfermidade em aves mantidas sobre piso de cimento, com resultados superiores a 90% de animais com *bumblefoot*, enquanto que em animais mantidos sobre piso liso coberto com jornal, a incidência caiu para menos de 8%. Hall (2008) atribui o piso inadequado como um dos principais fatores predisponentes à pododermatite em aves aquáticas quando em cativeiro. A autora descreve o piso de cimento como inadequado, assim como o piso coberto por jornais. No presente estudo a superfície coberta por três camadas de jornal apresentou bons resultados no controle do *bumblefoot*. Porém o piso de cimento mostrou-se como principal fator predisponente à ocorrência da síndrome, como já relatado em estudo com 13 aves aquáticas, onde 100% dos animais apresentou pododermatite em função de abrasão podal por este tipo de superfície (MARQUES et al., 2009).

De acordo com o manejo do CRAM, os pinguins são recepcionados e destinados ao cativeiro interno, porém todos passam para o cativeiro externo em algum período de sua reabilitação. Por este motivo, os dados obtidos quanto à incidência do *bumblefoot* em cativeiro externo (92%), são mais significativos no momento da soltura, do que a incidência geral de *bumblefoot* no CRAM (75%), envolvendo os

dois tipos de piso, uma vez que todas as aves anteriormente à liberação passam por período no recinto externo.

Em diversos estudos descreve-se a tendência da pododermatite em gerar lesões bilaterais a partir de lesão unilateral, uma vez que a ave passa a depositar o peso corporal sobre o membro sadio (COOPER, 2002; SHANE, 2005; TOVAR, 2006; CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006; BERK, 2007; KELECOM, 2008), o que vai de acordo com os dados obtidos a partir da avaliação dos pinguins com *bumblefoot* no CRAM, onde cerca de 90% apresentou lesão bilateral. Destes, 100% dos animais com lesão em grau III teve *bumblefoot* bilateral, enquanto que a maior incidência de lesões unilaterais foi obtida em pinguins apresentando grau I, o que demonstra a tendência progressiva da síndrome. Em espécies de rapinantes, é descrita a lesão de *bumblefoot* em grau II como primária (COOPER, 2002), porém nos pinguins estudados observou-se a evolução da síndrome a partir do grau I até o III, sendo em todos, de curso progressivo, indicando cronicidade conforme o aumento do escore da lesão.

As biometrias realizadas demonstraram que a altura do coxim plantar é um método auxiliar bastante eficaz na determinação clínica do grau da lesão, uma vez que houve diferença estatística significativa entre todos os escores. Já as medidas de largura do coxim mesmo mostrando-se maiores, conforme o aumento dos graus, não demonstraram diferença estatística significativa entre as lesões II e III, portanto as medidas de altura são mais confiáveis do que as de largura. Não foram encontrados na literatura consultada estudos que referenciassem a mensuração de edema através da biometria do coxim plantar em nenhuma espécie de ave com *bumblefoot*, sendo este trabalho pioneiro na utilização do método.

O aumento de volume é descrito por uma série de autores sendo geralmente referido em lesões mais graves, a partir do grau II (COOPER, 2002; TOVAR, 2006; TEIXEIRA, 2008), porém, ao estudar os pinguins do CRAM pôde-se constatar, através do método de biometria, aumento de volume estatisticamente significativo nas lesões a partir de grau I. O edema ocorreu em função de maior resposta inflamatória regional, conforme a gravidade das lesões com maior foco infeccioso, o que foi demonstrado às análises histopatológicas, podendo-se visualizar maior mobilização de células de defesa e maior morte celular nas lesões de grau III,

seguidas das de grau II, enquanto o grau I obteve resposta discreta à inflamação, e por este motivo, menor edema.

Em todas as amostras positivas provenientes de colheitas *in vivo* para análise micológica, isolou-se *C. albicans*, fungo habitante da microbiota da pele, mucosas, trato respiratório superior, trato gastrointestinal e parte do trato reprodutivo de todas as aves até então estudadas (SIDRIM; MOREIRA, 1999), o que justifica a presença do agente nas colheitas cutâneas em pinguins.

Embora a *C. albicans* não tenha sido identificada como agente causal do *bumblefoot*, sua presença no coxim plantar apresenta risco potencial de infecção, uma vez que esta ocorre geralmente por origem endógena, causada por cepas comensais (RAPOSO et al., 1995/1996; TOVAR, 2006; CLEFF et al., 2008), estando a alta concentração do microrganismo relacionada à maior probabilidade de desenvolvimento de candidíase (MULLER & KIRK, 1996; SIDRIM; MOREIRA, 1999; TOVAR, 2006; CLEFF et al., 2008). Fatores de risco, como o estresse do cativeiro e da captura, conforme relatado por Garcia e Blanco (2000) e a ocorrência de lesões podais, que rompem a barreira cutânea, promovendo uma porta de entrada para o fungo (MULLER & KIRK, 1996; TORTORA, 2000; CLEFF et al., 2009), e cujo tratamento se baseia na antibioticoterapia, que diminui a competição bacteriana, aumentam ainda mais as chances quanto à ocorrência de candidíase endógena (CLEFF; NASCENTE, 2009).

Houve, em um caso o isolamento associado de *C. albicans* com *A. fumigatus*, agente causador da aspergilose, principal doença fúngica em pinguins, bem como principal causa de mortalidade entre estas aves (CLARKE; KERRY, 1993; BROSSY et al., 1999; DIEBOLD; BRANCH; HENRY, 1999; ABUNDIS-SANTAMARIA, 2005; XAVIER et al., 2006; OSÓRIO et al., 2008). Os fungos do gênero *Aspergillus* são ubíquos, e fazem parte da microbiota ambiental (LACAZ, 2002), sendo, portanto, habitantes da flora comensal transitória da pele de animais, o que justifica seu isolamento do coxim plantar.

O CRAM utiliza um sistema de controle da aspergilose, com retirada da matéria orgânica, desinfecção do piso, ventilação e avaliações dos animais quanto aos sinais clínicos. Porém ainda há alta prevalência da micose no Centro, e por conta

disso maior propagação das estruturas infectantes do fungo, uma vez que uma única estrutura de esporulação (cabeça aspergilar) de *A. fumigatus* é capaz de liberar milhares de conídios no ambiente diariamente (LATGÉ, 1999). Em estudos anteriores avaliando a presença de fungos do gênero *Aspergillus* no CRAM, estes foram isolados em 1/3 das colheitas, sendo o *A. fumigatus* a espécie predominante entre as sete identificadas (XAVIER, 2008).

A análise micológica referente às amostras *post mortem* revelou maior percentual de isolados do que a das colheitas *in vivo*, obtendo-se cerca de 66% de amostras positivas para fungos. Entre estes, o que apresentou maior crescimento foi o *A. fumigatus*, sendo que a maioria dos pinguins submetidos ao exame anatomopatológico teve como causa *mortis* a aspergilose por *A. fumigatus*, e em muitas destas aves pôde-se observar a formação das colônias fúngicas nos sacos aéreos, conforme já descrito em estudos anteriores (XAVIER, 2007).

Os fungos do gênero *Aspergillus* se reproduzem através de fialoconídios pequenos e leves, facilmente veiculados pelo ar, que se depositam em qualquer objeto ou superfície, contaminando todo o ambiente (LATGÉ, 1999; FRAN-FISHER, 2001; LACAZ et al., 2002). Em vista desta realidade, o grande número de isolados deste fungo provavelmente tenha se dado pela disseminação dos propágulos oriundos das colônias fúngicas presentes nos órgãos.

Além do *A. fumigatus*, foram isolados em cerca de 32% das amostras *post mortem* *Rhodotorula* spp., *C. albicans* e *A. flavus*, listados de acordo com sua prevalência no estudo. A *Rhodotorula* spp. é considerada componente da microbiota fúngica do ar (MELLO, 2003), tendo sido isolada do ambiente de diversas cidades brasileiras, com percentuais que variaram entre 3 e 80% (LACAZ et al. 2002). Em animais, são poucos os relatos de infecção por *Rhodotorula* spp., porém estas leveduras já foram encontradas como parte da biota de aves híidas (MELVILLE et al., 2004). A levedura não foi identificada como agente causal de *bumblefoot* em nenhum dos pinguins avaliados durante o estudo, portanto, seu isolamento deveu-se provavelmente à sua presença na pele desses animais como parte da microbiota tegumentar permanente ou transitória, em função da sua presença no ambiente.

Apesar de os quadros de infecção por *Rhodotorula* spp. terem baixa frequência entre os fungos oportunistas (ANVISA, 2004b), não sendo relatado na literatura consultada nenhum caso de rodotorulose em pinguins, fatores como a gravidade dos quadros clínicos associados à resistência antifúngica por parte destes microorganismos (TUON; COSTA, 2008) apresentam um quadro preocupante principalmente no que tange indivíduos imunocomprometidos, como frequentemente encontram-se os pinguins em período de reabilitação (MAZET, 2002; HALL, 2008).

A *C. albicans* foi isolada de cerca de 9% dos coxins plantares avaliados ao exame necroscópico, sem ser identificada como agente causal em nenhum deles. Como o agente é componente tanto da microbiota permanente do trato gastrointestinal e de mucosas, quanto, em menor frequência, da pele (GARCIA; BLANCO, 2000) seu isolamento provavelmente deveu-se à contaminação durante o exame anatomopatológico ou à sua presença não patogênica na pele, ou, ainda, aos dois fatores associados.

A espécie fúngica menos isolada foi o *A. flavus*, que assim como todos os outros fungos isolados não foi considerado agente causal da pododermatite. Assim como o *A. fumigatus*, o *A. flavus* é ubíquo e frequentemente isolado do ambiente, sendo menos relacionado à aspergilose do que o primeiro (LATGÉ, 1999; LACAZ, 2002; SIDRIM; ROCHA, 2004).

Em estudos realizados com colheitas ambientais em diferentes locais e situações de temperatura e umidade, o *A. flavus* esteve entre as três espécies mais isoladas (COOLEY et al., 1998; LEENDERS et al., 1999; XAVIER, 2007). Outro fator importante no isolamento de fungos desse gênero é a presença de excreta no ambiente de reabilitação, uma vez que elas são utilizadas para a sua nutrição (MEIRELES; NASCENTE, 2009). Desta forma, a presença do *A. flavus* no coxim plantar dos animais como parte da biota transitória deveu-se a todos esses fatos.

Quanto ao crescimento bacteriano nos coxins plantares sem infecção instalada, foram encontrados 17 diferentes padrões de interação entre espécies bacterianas, enquanto nas lesões não infectadas houve somente três diferentes interações. Tal fato é explicado quando considera-se que nas aves sem infecção instalada, todos os microorganismos isolados encontram-se em equilíbrio, como componentes da

microbiota transitória ou permanente, e nas infecções há o desequilíbrio entre estas bactérias, havendo o predomínio do agente causador da infecção (MULLER & KIRK, 1996). Por este motivo foram encontradas mais interações bacterianas, sem predomínio de uma única espécie nos animais sem lesão infectada.

Tanto nos Grupos 1 (graus zero e I) e 2 (graus II e III), das colheitas *in vivo*, quanto nas colheitas *post mortem* as bactérias que tiveram maior percentual de isolados foram as do gênero *Staphylococcus*, agentes cosmopolitas encontrados em todos os animais de sangue quente (ANVISA, 2004a). Estas bactérias habitam vias nasais e pele, principalmente em bordos mucocutâneos, ocorrendo também como parte da biota transitória do trato gastrointestinal (UNICAMP, 2010; TRABULSI, 1991), o que justifica o alto número de isolados deste gênero nas colheitas realizadas nos pinguins-de-magalhães em reabilitação no CRAM.

Avaliando-se somente os animais do Grupo 2, e das colheitas *post mortem* com infecção instalada onde o *Staphylococcus* spp. foi considerado agente causal do *bumblefoot*, os isolados desse gênero foram os mais prevalentes, o que vai de acordo com estudos anteriores, que relacionaram o *Staphylococcus* spp. com pododermatite em aves (CUBAS; GODOY, 2004; MARINHO; MEIRELES; SOUZA, 2004; BIBERSTEIN, HIRSH, 2003), e que consideram cepas do gênero como os agentes etiológicos mais comuns em infecções de pele (UNICAMP, 2010).

Em um pinguim avaliado durante o estudo, foi constatado septicemia por duas diferentes espécies de *Staphylococcus* a partir de lesão profunda de *bumblefoot* em grau III. Em indivíduos debilitados, a infecção local por *Staphylococcus* spp. pode evoluir para quadros de caráter sistêmico, sendo a septicemia decorrente de qualquer foco de infecção, disseminando via hematogênica, o agente para outros órgãos (UNICAMP, 2010; CUBAS; GODOY, 2004).

O *Corynebacterium* spp. foi o segundo agente mais isolado dos coxins plantares colhidos *in vivo*, e o terceiro mais isolado de colheitas *post mortem*. Em animais, estudos demonstraram a ocorrência do *Corynebacterium* spp. em trato respiratório inferior de cães hípidos (MELCHERT et al., 2008) e em ovos de nhandu (CAHNG, et al., 2001). E, ainda, a espécie *C. spheniscorum* foi descrita a partir de amostras de cloaca de pinguins-de-magalhães aparentemente saudáveis (GOYACHE et al., 2003), o

que poderia explicar o alto número de isolados de cepas do gênero *Corynebacterium*, porém, o presente estudo se limitou a classificar estas bactérias somente quanto ao gênero.

A provável causa do grande número de isolados de *Corynebacterium* spp. do coxim plantar de pinguins sem infecção instalada leva a crer que a bactéria seja habitante da flora normal da pele ou de outros sistemas de pinguins-de-magalhães, uma vez que não há estudos na literatura consultada que referenciem o gênero como parte da biota ambiental. E a alta frequência de isolados em animais com infecção instalada provavelmente seja em função da ação oportunista destes agentes, causando infecção quando existe a quebra de equilíbrio das defesas naturais do organismo (TORTORA, 2000; TRABULSI, 1991).

Um caso de septicemia por *Corynebacterium* spp. tendo como causa primária lesão plantar em grau III, foi diagnosticado durante o período do estudo, levando o pinguim a óbito. Ao exame necroscópico foram encontradas alterações em diferentes órgãos, de onde a bactéria foi isolada, demonstrando a alta patogenicidade da cepa e sua capacidade de disseminação hematogênica.

As enterobactérias isoladas dos coxins plantares de pinguins foram *E. coli*, e *Proteus* spp. O grupo das enterobactérias compõe a maior e mais heterogênea família de bactérias gram negativas de importância médica (ANVISA, 2004a). Elas são habitantes do trato gastrointestinal dos animais, compondo a biota residente ou transitória, ou ainda servindo como agentes de infecção. Apesar de diversos destes microorganismos poderem ser encontrados em diferentes *habitats*, geralmente sua origem é entérica (ROOTS, 2006; ANVISA, 2004a; TORTORA, 2000; TRABULSI, 1991). Existem 27 gêneros de enterobactérias, porém em 95% dos casos isolam-se poucas espécies, consideradas “clássicas” (ANVISA, 2004^a), entre elas *E. coli* e *Proteus* spp., conforme ocorreu no CRAM. Estas duas bactérias são, ainda, relatadas como causa de preocupação em zoológicos com presença de gaivotas peridomiciliadas, em função do transporte destas enterobactérias à outras espécies de aves (BRANCO; AZEVEDO JUNIOR; ACHUTTI, 2008).

No grupo 2 obteve-se percentual de isolados de *E. coli* superiores a três vezes os do Grupo 1, e nas lesões coletadas à necropsia, esse percentual aumentou para

mais de 13 vezes o obtido no Grupo sem infecção. O pequeno número de isolados em animais sadios para *bumblefoot* ou com lesões não infectadas provavelmente deva-se à remoção mecânica dos agentes no momento da limpeza com gaze estéril, anterior à colheita, uma vez que a *E. coli* presente na pele é de origem entérica, não sendo componente permanente da microbiota (ROOTS, 2006; ANVISA, 2004a; TORTORA, 2000; TRABULSI, 1991).

Já o alto número de isolados obtidos a partir das lesões infectadas, somado aos dois casos de septicemia com envolvimento de *E. coli*, confirma o potencial patogênico oportunista das cepas desta espécie, que juntamente com a *Klebsiella sp.* é responsável pela maioria dos casos de enterite em pinguins de cativeiro (CLARKE; KERRY, 1993). Da mesma forma, já foi isolada, juntamente com o *Staphylococcus sp.* em diversos casos de artrite supurada em frangos (FALLAVENA et al., 1991), sendo causa de preocupação em aviários de produção (SEGABINAZI et al., 2005).

O *Proteus spp.* foi isolado somente de animais com lesões plantares infeccionadas, tanto de colheitas *in vivo* quanto *post mortem*, não sendo identificado em nenhum animal com grau zero ou I de *bumblefoot*. Estes dados vão de acordo com o descrito por Cantón e Moreno (2006) que relatam a bactéria como incomum em indivíduos hígidos. Porém, o isolamento do *Proteus spp.* de pinguins com graus II e III de pododermatite pode ser explicada pela ampla distribuição desta bactéria na natureza, fazendo parte também da biota gastrointestinal de animais, incluindo as aves (SEGABINAZI et al., 2005; MARINHO, MEIRELES. SOUZA, 2004) sendo frequente causa de contaminação de feridas (TORTORA, 2000; TRABULSI, 1991).

Entre as colheitas realizadas *in vivo*, as bactérias *Alcaligenes sp.*, e *Kurthia sp.* corresponderam a cerca de 1% e 2% dos isolados do Grupo 1, respectivamente. O *Alcaligenes sp.* faz parte do grupo dos bastonetes não fermentadores, sendo pouco relacionado a casos clínicos (ANVISA, 2004a; TORTORA, 2000). Porém, representa fator de risco por possuir alto potencial patogênico, sendo, quando envolvido em casos clínicos, agentes causais de infecções graves e resistentes a um amplo grupo de antifúngicos (ANVISA, 2004a). No estudo dos pinguins em reabilitação no CRAM, não foi observado o envolvimento do *Alcaligenes sp.* nos casos de *bumblefoot*. A bactéria já foi relatada como parte da biota (transitória ou permanente) do trato respiratório de cães hígidos (MELCHERT et al., 2008), no presente estudo ela

comportou-se como parte da microbiota cutânea de pinguins, com envolvimento provavelmente transitório, em função do baixo número de isolados. Da mesma forma comportou-se a *Kurthia* sp., bactéria anteriormente relacionada com aves em estudo feito com isolamento de microorganismos de ovos de nhandu (CAHNG et al., 2001). A bactéria, porém, possui importância clínica questionável, uma vez que não há relatos recentes de isolamento de *Kurthia* sp. em casos infecciosos significativos (ANVISA, 2004a).

Bactérias do gênero *Streptococcus* não foram isoladas em colheitas realizadas *in vivo*, sendo, porém, isoladas de dois casos de septicemia, associadas à *E. coli* e de cerca de 4,5% das demais colheitas *post mortem*, estando em 100% destas associado ao *Staphylococcus* spp.. As bactérias do gênero *Streptococcus* são naturalmente patogênicas, e causam maior número de doenças do que qualquer outro grupo de bactérias, não sendo encontradas em animais saudáveis, (TORTORA, 2000) exatamente como relatado no presente estudo, em que a bactéria foi isolada somente de casos clínicos.

As cepas patogênicas tanto de *Staphylococcus* spp., quanto de *Streptococcus* spp. produzem metabólitos secundários responsáveis por diversas injúrias. Entre os fatores de patogenicidade dos dois gêneros está a destruição das células fagocitárias do hospedeiro, que permite maior proliferação da área de infecção, e invasão de outros tecidos. O *Streptococcus* spp. produz, ainda, enzimas que causam grande destruição tecidual (TORTORA, 2000), e o *Staphylococcus* spp. tem por característica causar lesões com presença de abscesso (BIBERSTEIN, HIRSH, 2003). Avaliando-se estes fatores e comparando-os ao aspecto das lesões encontradas nos pinguins com septicemia por *Staphylococcus* sp. associado a *Streptococcus* sp., obteve-se um quadro perfeito entre a relação da patogenicidade dos agentes e o aspecto e gravidade das lesões que causaram, uma vez que os dois animais apresentavam lesões plantares profundas, com envolvimento de tecidos adjacentes, formação de abscesso e extensa área de necrose, havendo envolvimento sistêmico, com alterações em diferentes órgãos, dos quais foram isoladas as bactérias dos dois gêneros.

A comprovação da eficácia do método de avaliação clínica para determinação do grau de *bumblefoot* foi comprovada pelos achados histopatológicos. A concordância

foi de 93%, demonstrando que se aliadas a análise clínica aqui proposta e o método de biometria do coxim plantar quanto, principalmente, à medida de altura, a determinação do grau de *bumblefoot* a partir de análise *in vivo* poderá ser obtida de forma confiável.

A sensibilidade das cepas bacterianas isoladas dos coxins plantares dos pinguins do CRAM apresentou-se de forma variada de acordo com o gênero da bactéria e a droga em questão. A resistência bacteriana atualmente é um importante problema, sendo considerada alta em populações de animais submetidas com frequência à antibioticoterapia, como ocorre na avicultura de produção (BACCARO et al., 2002). Resistências bacterianas a antimicrobianos tem sido relatadas também em muitas aves silvestres, sem tratamentos anteriores (SANTOS, 2008), como é o caso dos pinguins-de-magalhães em período de reabilitação no CRAM. Portanto, para o tratamento de qualquer doença bacteriana faz-se necessário conhecer o agente infeccioso, e basear a escolha do fármaco a partir do perfil de suscetibilidade da bactéria (LÓPEZ; OLIVEIRA, 2010).

A cefalosporina foi a droga que obteve maior atividade frente à maioria das cepas, sendo 100% dos isolados de *Staphylococcus* spp. e mais de 90% dos isolados de *Corynebacterium* spp. (os dois gêneros de maior frequência no estudo), sensíveis a este antibiótico. A cefalosporina, em estudos *in vivo* no tratamento de mastite em bovinos, apresentou percentual de cura superior a 80% nas infecções envolvendo estes agentes (MOREIRA; SILVA; MESQUITA, 2010). O antibiótico é também indicado no tratamento de colibaciloses (RITCHIE; HARRISON, 1994), porém, no presente estudo, o percentual de sensibilidade das cepas de *E. coli* foi nulo, o que discorda de estudos anteriores, que demonstraram entre 60% (VIEIRA et al., 2007) e 80% de sensibilidade (MOREIRA; SILVA; MESQUITA, 2010). Baccaro et. al. (2002) atribui a resistência de cepas de *E. coli* ao uso indiscriminado de antibióticos em Medicina Veterinária.

A enrofloxacin foi o segundo antibiótico com melhor resposta *in vitro*, seguido de estreptomicina e penicilina. A enrofloxacin, droga que possui boa difusão tissular e amplo espectro de ação (LÓPEZ; OLIVEIRA, 2010), apresentou-se eficaz frente a 100% das cepas de *E. coli*, apresentando ação frente a esse microorganismo, melhor do que esperado (BACCARO, 2002). O *Staphylococcus* spp. apresentou cerca de 7% de resistência, e o *Corynebacterium* spp. apresentou pouco mais de 15%,

representando menor resistência do que os dados encontrados na literatura (FABIANO et al., 2008).

A estreptomicina é uma droga indicada no tratamento de pododermatites causadas por *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. Porém, no presente estudo a droga não obteve bons resultados com as cepas testadas, apresentando, o *Staphylococcus* spp., pouco mais de 50% de sensibilidade, e o *Corynebacterium* spp. pouco mais de 65%, resultados inferiores ao obtidos com a cefalosporina e a enrofloxacina. As cepas de *E. coli* apresentaram pouco mais de 66% de resistência à estreptomicina, não sendo, nestes casos indicado o uso do fármaco, o que concorda com estudos anteriores, onde o percentual de resistência foi próximo de 100% (BACCARO, 2002).

O fármaco cujas cepas apresentaram maior percentual de resistência foi a penicilina, o que vai de acordo com estudos anteriores com bactérias do gênero *Corynebacterium* (ABREU et al., 2008), *Staphylococcus* (MOREIRA; SILVA; MESQUITA, 1997) e *E. coli* (BACCARO, 2002), que também demonstraram alta resistência de diferentes microrganismos frente a esta droga.

7 – Conclusões

Nas condições de manejo descritas neste estudo, a que eram submetidos os animais avaliados:

- Foi comprovada alta incidência de *bumblefoot* nos pinguins-de-magalhães em período de reabilitação no CRAM, correspondendo a 75%, sendo em sua maioria bilateral;
- a maioria dos animais avaliados clinicamente quanto ao escore das lesões foi classificado em grau II, seguidos de grau I e III, respectivamente;
- o piso de cimento demonstrou ser um importante fator predisponente ao desenvolvimento do *bumblefoot* em pinguins, uma vez que a incidência da síndrome neste piso foi cerca de 12 vezes maior do que no piso não abrasivo. Desta forma, deve-se evitar esse tipo de piso na reabilitaç;
- microorganismos fúngicos não foram relacionados com a patogenia do *bumblefoot*, sendo identificados apenas como parte da microbiota transitória, havendo predominância de *Rhodotorula* spp. e *Cândida albicans*. Em contrapartida, bactérias foram identificadas tanto como parte da microbiota permanente quanto transitória, bem como estiveram associadas a 100% dos casos de pododermatite. Os gêneros bacterianos mais prevalentes foram *Staphylococcus* e *Corynebacterium*;
- a eficácia do método de avaliação clínica para determinação do grau foi comprovada pelos achados histopatológicos, com concordância de mais de 90%. Foi demonstrado, ainda, que, se aliadas a análise clínica proposta com

o método criado de biometria a determinação do grau de *bumblefoot* a partir de análise *in vivo* pode ser obtida de forma confiável;

- a cefalosporina foi o antibiótico que obteve melhor atividade sobre as cepas avaliadas, com valores de sensibilidade próximos a 100%, seguida de enrofloxaxina e estreptomicina. Por outro lado, a penicilina foi o fármaco menos eficaz, sendo mais de 60% dos isolados resistentes ao fármaco.

8 - Considerações finais

A comprovação da alta incidência do *bumblefoot* e sua associação com tipo de piso como principal fator predisponente demonstra a necessidade de se implementar medidas de prevenção desta síndrome no CRAM.

Dentre estas medidas sugere-se a troca do piso por material liso, o que minimizaria a abrasão podal, responsável pela quebra da barreira cutânea, gerando uma porta de entrada para a instalação do processo infeccioso. O presente estudo já gerou resultados aplicados, uma vez que, desde seu início, o *bumblefoot* passou a ser tratado com maior ênfase no CRAM, sendo realizada a substituição do cimento do cativeiro externo, por piso liso, com área coberta por seixos, simulando o solo encontrado nas pinguineiras.

Além disso, a retirada de matéria orgânica, feita de duas a três vezes por dia, e a desinfecção ambiental já realizada no Centro possuem uma importância estabelecida, uma vez que minimizam a presença de microrganismos ambientais e de resíduos que podem servir como fontes nutricionais para proliferação destes.

Indica-se ainda a aplicação periódica dos exames clínicos podais dos pinguins conforme, descrito neste estudo, com intuito de realizar um diagnóstico precoce de pododermatite, uma vez que quanto menor o grau das lesões, mais fácil é o tratamento, e melhor o prognóstico. Os dados obtidos pela avaliação e exames clínicos propostos demonstraram a eficácia deste método, que pode ser mais

estudado no sentido de ser implementado nos protocolos de reabilitação de pinguins e de manutenção destas aves em cativeiro.

Sugere-se, ainda, proceder com a colheita de material para realização de testes de sensibilidade *in vitro* frente a antibióticos, uma vez que grande parte das drogas testadas apresentou atividade variada frente a diferentes isolados. Porém, para tratamento imediato, ou enquanto espera-se os resultados do antibiograma, sugere-se a administração de cefalosporina, antibiótico que apresentou melhor atividade frente às cepas testadas.

Espera-se, com a realização deste trabalho, diminuir a morbidade do *bumblefoot* através da utilização dos dados obtidos e da implementação de protocolos de manejo, profilaxia e avaliação clínica para pododermatite, e com isso aumentar o índice de reabilitação e posterior soltura dos animais à vida livre.

Referências Bibliográficas

ABUNDIS-SANTAMARIA, E., Aspergillosis in birds of prey. 2003. Disponível em www.aspergillus.man.ac.uk. Consulta em: 15-10-2005.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica, 2004. Módulo V. Disponível em www.anvisa.gov.br. Consulta em: 20-01-2010. a

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica, 2004. Módulo VII. Disponível em www.anvisa.gov.br. Consulta em: 20-01-2010. b

BACCARO, M.; MORENO, A.; M.; CORRÊA, FERREIRA, A.; J.; P.; CALDERARO, F.; F.. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. Arquivos do Instituto de Biologia, São Paulo, v. 69, p. 15-18, abr/jun, 2002

BERCHIERI, A.; J.; MACARI, M. Enfermidades Micóticas, Doenças das Aves. **FACTA – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Campinas, São Paulo, p. 369 – 375, 2000.

BERK, J. Can alternative kinds of litter reduce foot pad lesions in female turkeys? In: **Proceedings of the 4th International Symposium on Turkey production**, 21-23 junho 2007, Berlin, Germany, 2007.

BIBERSTEIN, Ernst L.; HIRSH, Dwight C. Estafilococos. In: ____ **Microbiologia Veterinária**. Ed. Guanabara, 2003. p.108-111

BRANCO, J.; O.; de AZEVEDO JÚNIOR, S.; M.; ACHUTTI, M.; R.; N.; G. Reprodução de *Larus dominicanus* (Aves, Laridae) em ambiente urbano. **Revista Brasileira de Ornitologia**. v. 16(3), p. 240-242, set., 2008.

BROSSY, J.; J.; PLÖS, A.; L.; BLACKBEARD, J.; M.; KLINE, A. Diseases acquired by captive penguins: what happens when they are released into the wild?. **Marine Ornithology**, v. 27, p. 185-186, 1999.

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

CAHNG, R.; E.; ROBLES, C.; A.; OLAECHEA, F.; V.; WILLEMS, P.; M.; Determinación de parámetros fisiológicos normales y principales problemas sanitarios de choiques criados em granjas. **Informe técnico PICT 8-356**, Bariloche. nov., 2001. 18p.

CANTÓN, R.; MORENO, M.; P.; S. *Proteus penneri*. **Microbiologia clínica**, p. 1-11, 2006. Disponível em: www.seimc.org. Acesso em 21-01-2010.

CBRO - Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (2009). Listas das aves do Brasil. 8ª Edição. In: www.cbro.org.br. Acesso em 01-01-2010.

CHITTY, J.; R., Avian Bacterial and Viral Skin Disease, Disponível em: <http://pcwww.liv.ac.uk/~timn/Avian%20Bacterial%20and%20Viral%20Skin%20Disease.doc> **Strathmore Veterinary Clinic**. Acesso em: 12-07-2006

CLARKE, J.; KERRY, K. R., Diseases and Parasites of penguins. **Korean Journal of Polar Research**, v. 4 (2) p. 79-96, 1993

CLEFF, M.; B.; SOARES, M.; P.; MADRID, I.; M.; MEINERZ, A.; R.; M.; XAVIER, M.; O.; ALBANO, A.; P.; N.; FONSECA, A.; O.; SILVEIRA, E.; MEIRELES, M.; C.; A. Candidíase cutânea em *Cebus apella* (macaco-prego). **Ciência Animal Brasileira**. v. 9, n. 3, p. 791-795, jul./set. 2008.

CLEFF, Marlete Brum; NASCENTE, Patrícia da Silva. In:_____ **Micologia Veterinária**. Ed. Editora e Gráfica Universitária, 2009, p. 73-84.

COOLEY, J.D.; WONG, W.C.; JUMPER, C.A.; STRAUS, D.C. Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome. **Occupational and Environmental Medicine**, v.55, p.579-584, 1998.

COOPER, John E. **Birds of Prey: Health and disease**. Ed. Blackwell, 2002. 345p.

CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos Ramos; CATÃO-DIAS, José Luiz. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**. Ed.Roca, 2006. 1354p.

CUBAS, Z. S.; GODOY, S. N., Algumas doenças de aves ornamentais, 2004. Disponível em: <http://canarilalmada.com/download/download/Dossierdoencas.pdf>. Acesso em 01-12- 2009.

CUSTODIS, P.; HAFEZ, H.; M. Foot pad dermatitis: a review on possible causes. In: **Proceedings of the 4th International Symposium on Turkey production**, 21-23 junho 2007, Berlin, Germany, 2007.

DIEBOLD, E.; N.; BRANCH, S.; HENRY, L. Management of penguin populations in north American zoos and aquariums. **Marine Ornithology**, v. 27, p.171-176, 1999.

FALLAVENA, L.; C.; B.; SALLE, C.; T.; P.; MORAES, H.; L.; S.; KRAHL, M.; REALI, E.; H.; SANTOS, G.; P.; COUTINHO, A.; FRANCO, J.; L.; K. Problemas locomotores em frangos de três linhagens do tipo corte: I. Aspectos clínicos, ocorrência de discondroplasia tibial e encurvamento do tibiotarso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 43, p. 37-47, ago. 1991.

FOWLER, Gene S.; FOWLER, Murray S. Order Sphenisciformes (Penguins). In: _____ **Biology, medicine and surgery of South American wild animals**. Ed. John Wiley Professio, 2001. p. 53 – 64.

FOWLER, M.; E.; CUBAS, Z.; S.. **Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals**, 1 ed. USA: 2001.

FRAN-FISHER, N.; B.; C. **Micologia: fundamentos e diagnósticos**. Ed. Revinter, 2001. p. 36-53.

FRIEND, Milton. **Bacterial Diseases (Field Manual of Wildlife Diseases**. Lincoln, EUA, 1999. 126f. Disponível em: www.digitalcommons.unl.edu/zoonoticpub/12. Acesso em: 12-01-2010

GANDINI, P.; BOERSMA, P.; D.; FRERE, E.; GANDINI, M.; HOLIK. T.; LICHTSCHEIN, V. Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) affected by chronic petroleum pollution along coast of Chubut, Argentina. **The auk**. 111 (1) p. 20-27, 1994.

GARCIA, M.; E.; BLANCO, J. L. Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 17, p.S2-S7, 2000.

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

GIRLING, Simon. **Veterinary nursing of exotic pets**. Ed. Blackwell, 2003. 314p.

GOYACHE, J.; VELA, A.; I.; COLLINS, M.; D.; BALLESTEROS, C.; BRIONES, V.; MORENO, J.; YORIO, P.; DOMÍNGUEZ, L.; HUTSON, R.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.; F. *Corynebacterium spheniscorum* sp. nov., isolated from the cloacae of wild penguins. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 43-46, 2003.

HALL, Elisabeth. Taronga Wildlife Hospital, Taronga Zoo, 8 de julho de 2008. In: **National Wildlife Rehabilitation Conference**, 21-25 julho 2008, Canberra ACT. p. 1-23, 2008.

HOCKING, P.; M.; MAYNE, R.; K.; ELSE, R.; W.; FRENCH, N.; A.; GATCLIFFE, J. Standardised footpad dermatitis scoring system for use in turkey processing plants. In: **Proceedings of the 4th International Symposium on Turkey production**, 21-23 junho 2007, Berlin, Germany, 2007.

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). **Instrução Normativa nº 179**, 25 de junho de 2008.

IUCN, 2009 – UICN 2009. 2009 Red List of Threatened Species. Disponível em: www.iucnredlist.org. Acesso em 28-01-2010.

UICN. La crisis de la vida silvestre es peor que la crisis económica – dice la UICN. 02 jul. 2009. In: www.uicnredlist.org. Acesso em 10-01-2010.

KELECOM, Philippe Marcel. Pododermatite em aves de gaiola. 2008. 17f. Monografia (Pós Graduação em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens e Exóticos) – Qualittas, UCB, Rio de Janeiro.

LACAZ, Carlos da Silva; PORTO, Edward; MARTINS, José Eduardo da Costa; HEINS-VACCARI, Elisabeth Maria; MELO, Natalina Takahashi. **Tratado de micologia médica – Lacaz**. Ed. Sarvier, 2002. 1104p.

LATGÉ, J.; P. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.2, p.310-350, 1999.

LEENDERS, A.; C.; A.; P.; BELKUM, A.; V.; BEHRENDT, M.; LUIJENDIJK, A.; VERBRUGH, H.; A.. Density and Molecular Epidemiology of *Aspergillus* in Air and Relationship to Outbreaks of *Aspergillus* Infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.6, p.1752-1757, 1999.

LÓPEZ, H.; S.; OLVERA, L.; G. Consideraciones farmacológicas de la antibioterapia en aves. **Colégio de veterinários Quito – Ecuador**. In: www.colveterinarios.com/doc/antibioticos_pollo.pdf. Acesso em: 10-01-2010.

MARQUES, M.; V.; R.; RESENDE, J.; S.; DONATTI, R.; V.; VILELA, D., A., R.; ECCO, R.; MARTINS, N.; R.; S. A bumblefoot outbreak and fatal septicemia in captive aquatic birds in Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n.6, p.1905-1907, set, 2009.

MARINHO, M.; MEIRELES, M.; V.; SOUZA, A.; V.; G. Determinação da microflora do trato gastrointestinal de avestruzes (*Struthio camelus*) criados na região noroeste do estado de São Paulo, submetidas à necropsia. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo. v. 71, n.3, p. 267-271, jul./set. 2004.

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

MEIRELES, Mário Carlos Araújo; NASCENTE, Patrícia da Silva. **Micologia Veterinária**. Ed. Editora e Gráfica Universitária, 2009. 456p.

MELCHERT, A.; MOTTA, Y.; P.; GIUFFRIDA, R.; LAPOSY, C.; B. Avaliação citológica e micobiológica do lavado broncoalveolar em cães hígidos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 157-164, jan/mar 2008.

MELLO, Luciana Rezende Bandeira. **Leveduras isoladas do ar de ambientes climatizados de dois hospitais do Recife e susceptibilidade a drogas antifúngicas**. 2003. 79f. Dissertação (mestrado em Biologia de Fungos – área microbiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

MELVILLE, P.; A.; COGLIATI, B.; MANGIATERRA, M.; B.; B.; C.; D.; PERES, M.; R.; MOURA, S.; C.; A.; MATSUDA, L.; KIM, A.; BENITES, N.; R. Determinação da microbiota presente na cloaca e orofaringe de avestruzes (*Struthio camelus*) clinicamente sadios. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.6, p. 1871 – 1876, nov/dez., 2004.

MOREIRA, P.; C.; SILVA, L.; A.; F.; S.; MESQUITA, A.; J. Resistência de *Staphylococcus* sp. isolados do leite de vacas com mastite clínica na bacia leiteira de Goiânia. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, vol. 27, nº 2, 1997.

MULLER & KIRK. **Dermatologia de pequenos animais** / Danny W. Scott, William H. Miller, Craig E. Griffin. Ed. Interlivros, 1996. 1142p.

OSÓRIO, L.; G.; LADEIRA, S.; XAVIER, M.; O.; CABANA, A.; L.; ALBANO, A.; P.; GUIOT, E.; SILVA-FILHO, R.; S.; MEIRELES, M.; C. Microbiota bacteriana do coxim plantar de pingüins em cativeiro. In.: **XVI Congresso de Iniciação Científica**, Pelotas, Nov. 2008.

RAMIS, Antonio J. Patologia cutânea em aves. Departament de Patologia Faculdade de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona. p. 1 – 9, 2006

RAPOSO, J.; B.; NOBRE, M.; O.; FERNANDES, C.; G.; PORTO, M. Candidíase cutânea em um canino. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 2/3, n.1, p. 11-17, 1995/1996.

REIDARSON, T.; H.; McBAIN, J.; BURCH, L. A Novel Approach to the Treatment of Bumblefoot in Penguins. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 13, n. 2, p. 124-127, jun. 1999.

RITCHIE, Branson W., HARRISON, Greg J.; HARRISON, Linda R. **Avian Medicine: Principles and application**. Ed. Wings, 1994. p. 457-478.

RODRIGUEZ-LAINZ, A.; J.; HIRD, D.; W.; KASS, P.; H.; BROOKS, D.; L. Incidence and risk factors for bumblefoot (pododermatitis) in rehabilitated raptors. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 31, p. 175-184, agosto, 1997.

ROOTS, Clive. **Flightless Birds**. Ed. Greenwood, 2006. 211p.

SANTOS, R.; L.; NUNES, V.; A.; BAIÃO, N.; C. Pododermatite de contato em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 6, dez. 2002.

SANTOS, Helton Fernandes. **Anticorpos contra vírus de aves em galinhas de terreiro e cracídeos. Identificação e susceptibilidade a antimicrobianos da microbiota de cracídeos cativos no RS, Brasil.** 2008. 55f. Dissertação (mestrado em medicina veterinária preventiva) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

SAS Institute. SAS User's guide: Statistics. Version 8.0 Edition. Cary, NC, 2001.

SEGABINAZI, S.; D.; FLÔRES, M.; L.; BARCELOS, A.; da S.; JACOBSEN, G.; ELTZ, R.; D. Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos de granjas avícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33 (1), p. 51-55, 2005.

SHANE, Simon M. **Handbook of Poultry Diseases.** Ed. American Soybean Association, 2005. 194p.

SIDRIM, José Júlio Costa; MOREIRA, José Luciano Bezerra. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica.** Ed. Guanabara, 1999. 287p.

SIDRIM, J.; J.; C.; ROCHA, M.; F.; G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 388p.

STOUTE, S.; T.; BICKFORD, A.; A.; WALKER, R.; L.; CHARLTON, B.; R. Mycotic pododermatitis and mycotic pneumonia in commercial turkey poultts in northern California. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 21, p. 554-557, 2009.

TEIXEIRA, Vinícius de Queiroz. **Anatomopatologia e bacteriologia da pododermatite em frangos de corte sob inspeção sanitária.** 2008. 51f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária – Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói.

TORTORA, Gerad J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **MICROBIOLOGIA.** Ed. Artmed, 2000. 827p.

TOVAR, D.; S. Medicina de aves rapaces diurnas (Ordem Falconiformes) Parte 2 – Enfermedades Infecciosas. **Memorias Del II Congreso de Rapace Neotropicales.** Argentina, 2006. 72p.

TRABULSI, Luiz Rachid. **MICROBIOLOGIA.** Ed. Atheneu, 1991. 386p.

TUON, F.; F.; COSTA, S.; F. *Rhodotorula* infection. A systematic review of 128 cases from literature. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 25, p. 135-140, 2008.

UNICAMP - MICROBIOLOGIA MÉDICA. Disponível em: www.fap.unicamp.br. Acesso em: 19-01-2010.

VIEIRA, J.; M.; S.; SARAIVA, R.; M.; C.; MENDONÇA, L.; C.; V.; FERNANDES, V.; O.; PINTO, M.; R.; C.; VIEIRA, A.; B.; R. Suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário Bettina Ferro de Souza, Belém – PA. **RBAC**, v. 39 (2), p. 119-121, 2007.

VITAL, M.; J.; S.; ABRANCHES, J.; HAGLER, A.; N.; MENDONÇA-HAGLER, L.; C. Mycocinogenic yeasts isolated from amazon soils of the Maracá Ecological Station, Roraima-Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 230-235, 2002.

WALKER, B.; G.; BOERSMA, P.; D.; WINGFIELD, J.; C. Habituation of Adult Magellanic Penguins to Human Visitation as Expressed through Behavior and Corticosterone Secretion. **Conservation Biology**, n. 1, v. 20, p. 146-154, jun. 2004.

WILDLIFE INTERNATIONAL. Disponível em www.wildlifeinternational.org. Consulta em: 22-01-2010.

XAVIER, M.; O.; SOARES, M.; P.; MEINERZ, A.; R.; M.; NOBRE, M.; O.; OSÓRIO, L.; G.; SILVA-FILHO R.; P.; MEIRELES, M.; C.; A. Aspergillosis: a limiting factor during recovery of captive magellanic penguins. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 480-484, 2007.

XAVIER, M.; O.; MEIRELLES-LEITE, A.; T.; SOARES, M.; P.; OSÓRIO, L.; G.; MARTINS, A.; ALBANO, A.; P.; CARAPETO, L.; P.; NOBRE, M.; O.; SILVA-FILHO, R.; P.; S.; MEIRELES, M.; C.; A. Aspergilose em Pingüim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*) Relato de Caso. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v.13, n.1, p.28-32, 2006.

XAVIER, Melissa Orzechowski. **Aspergilose em Pingüins em Cativeiro: Diagnóstico, Prevenção e Controle em Centro de Recuperação e Animais Marinhos. 2007. 92f.** Dissertação (mestrado em ciências – área de conhecimento: Sanidade Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Apêndices

