

IDENTIFICAÇÃO DE *Edwardsiella tarda* EM PROCESSO SEPTICÊMICO EM *Spheniscus magellanicus* (SPHENISCIFORMES: SPHENISCIDAE) - RELATO DE CASO*

Sabrina Destri Emmerick Campos¹⁺, Ananda Müller Pereira¹, André Luiz Paiva Sena Maia², Carlos Henrique Campello Costa³, Helena Magalhães³ e Nádia Regina Pereira Almosny⁴

ABSTRACT. Campos S.D.E., Pereira A.M., Maia A.L.P.S., Costa C.H.C., Magalhães H. & Almosny N.R.P. [Identification of septicemia by *Edwardsiella tarda* in *Spheniscus magellanicus* (Sphenisciformes: Spheniscidae) - Case report]. Identificação de *Edwardsiella tarda* em processo septicêmico em *Spheniscus magellanicus* (Sphenisciformes: Spheniscidae) - Relato de caso. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(3):224-228, 2013. Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, RJ 24230-360, Brasil. E-mail: s.destri@gmail.com

The Magellanic penguins are seabirds that migrate through the Brazilian continental shelf and may be lost reaching the beaches of Rio de Janeiro. The rescued birds became weakened and susceptible to opportunistic infections. *Edwardsiella tarda*, a bacterium of the Enterobacteriaceae, is a pathogenic species which can cause intestinal and extra intestinal disorders. The marine fauna is regarded as its reservoir. Thus, the aim of this study was to report a case of septicemia due to *E. tarda* in one Magellanic penguin of the Niterói Zoo. The animal presented marked emaciation, dyspnea, diarrhea, pale mucosa and died, being submitted for necropsy, histopathology and bacteriology. The heart blood was properly collected and used for blood culture. Microscopy identified colonization of gastric and intestinal mucosa by bacteria. It was possible the isolation and identification of *E. tarda* in the culture of heart blood. Possibly there was widespread opportunistic infection by the etiological agent, a hypothesis supported by clinical, histopathological and blood cultures.

KEY WORDS. Magellanic penguin, *Edwardsiella tarda*, bacteriology, blood culture.

RESUMO. Os pinguins-de-Magalhães são aves marinhas migratórias que passam pela plataforma continental brasileira e podem se perder atingindo as praias do Rio de Janeiro. As aves resgatadas se apresentam enfraquecidas e susceptíveis a infec-

ções oportunistas. *Edwardsiella tarda*, bactéria da família Enterobacteriaceae, constitui espécie patogênica podendo causar distúrbios intestinais e extra intestinais. A fauna marinha é considerada seu reservatório. Assim, objetivou-se relatar um caso

*Recebido em 17 de junho de 2012.

Aceito para publicação em 19 de julho de 2013.

¹ Médica-veterinária, MSc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal), Faculdade de Veterinária (FV), Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, RJ 24230-360, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: s.destri@gmail.com, E-mail: ananda_muller@yahoo.com.br

² Médico-veterinário, Fundação Zoológico de Niterói, Alameda São Boa Ventura, 770, Niterói, RJ 24.120-191. E-mail: andresenamaia@uol.com.br

³ Médico-veterinário, Laboratório de Biologia Animal, Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro, LBA, PESAGRO-RIO, Alameda São Boa Ventura, 770, Niterói, RJ 24120-191. E-mail: chcampello@yahoo.com.br / magalhaesih@gmail.com

⁴ Médica-veterinária, DSc, Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, FV, UFF, Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, RJ 24230-360. E-mail: almosny@gmail.com

de septicemia por *E. tarda* em pinguim-de-Magalhães na Fundação Zoológico de Niterói. O animal apresentava acentuada magreza, dispnéia, diarreia e palidez da mucosa oral, quando veio a óbito e foi remetido para necropsia, exame histopatológico e bacteriológico. O sangue cardíaco foi devidamente coletado e utilizado para hemocultivo. A microscopia identificou colonização da mucosa gástrica e intestinal por bactérias. Obteve-se o isolamento e identificação de *E. tarda* na cultura do sangue cardíaco. Possivelmente houve infecção oportunista disseminada pelo agente, hipótese sustentada pela clínica, histopatologia e hemocultivo.

PALAVRAS-CHAVE. Pinguim-de-Magalhães, *Edwardsiella tarda*, bacteriologia, hemocultivo.

INTRODUÇÃO

Os pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) são aves marinhas migratórias que habitam a costa atlântica da Argentina (Silva Filho & Ruoppolo 2007, Serafini et al. 2010). Estas aves não estão ameaçadas de extinção, no entanto, em função da poluição dos mares e da pesca comercial predatória, são consideradas desde 2004 “quase ameaçadas” pela União Internacional de Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN, 2011).

Na busca por alimento, os animais passam pela plataforma continental brasileira, contudo, nesse trajeto, os jovens, podem se perder do grupo e alcançar áreas costeiras cada vez mais distantes do habitual, como as praias dos estados do Rio de Janeiro, onde eventualmente são vistos encalhados (Ruoppolo et al. 2004, Silva Filho & Ruoppolo 2007, Serafini et al. 2010).

Após o resgate, as aves estão enfraquecidas pelas longas distâncias percorridas e dificuldade na obtenção de alimento, que associados aos fatores estressantes do cativeiro, as tornam susceptíveis a infecções oportunistas (Ruoppolo et al. 2004). Pensa-se que as enterites bacterianas causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. e *Edwardsiella* spp., interferem e retardam a recuperação desses animais (Fowler & Fowler 2001, Silva Filho & Ruoppolo 2007).

O gênero *Edwardsiella* foi proposto como membro da família Enterobacteriaceae primeiramente por Ewing et al. (1965). Atualmente, o gênero é composto por três espécies que apresentam ampla distribuição geográfica, em especial nas áreas tropicais e subtropicais (Farmer 1981, Schlenker & Surawicz 2009). *Edwardsiella tarda* é considerada

a espécie mais importante, mais comumente isolada e a única reconhecidamente patogênica para humanos, podendo causar distúrbios intestinais e extra intestinais (Jordan & Hadley 1969, Koshi & Lalitha 1976, Wang et al. 2005, Schlenker & Surawicz 2009, Arya et al. 2011). Em 1979, Carter relatou essa espécie em gaivota, pinguim, bezerro, gambá e veado.

A fauna marinha é considerada seu reservatório (Koshi & Lalitha 1976, Goldstein et al. 1981, White 1984, Leotta et al. 2009). A doença assemelha-se às infecções por *Salmonella* spp. e outros enteropatógenos toxigênicos, sendo mais comum a gastroenterite com diarreia aquosa profusa (Jordan & Hadley 1969, Nagel et al. 1982, Schlenker & Surawicz 2009).

O objetivo deste trabalho foi relatar um caso de septicemia com isolamento de *E. tarda* durante a investigação sobre óbito de um exemplar jovem de *Spheniscus magellanicus* na Fundação Zoológico de Niterói, RJ.

HISTÓRICO

O animal do presente estudo foi resgatado em uma praia do litoral fluminense e encaminhado para acompanhamento ambulatorial na Fundação Zoológico de Niterói, RJ. Contudo, com poucos dias de acompanhamento, este animal apresentava acentuada magreza, dispnéia, diarreia e palidez da mucosa oral, vindo a óbito na própria instituição. A carcaça foi prontamente remetida para necropsia, sendo considerada adequada para exame histopatológico e bacteriológico. Outros testes laboratoriais não foram procedidos.

Imediatamente após abertura da carcaça foi realizada a ligadura dos grandes vasos cardíacos e o sangue do coração foi drenado com uso de seringa e agulha estéril. Também se procedeu coleta do fluido pericárdico observado à necropsia. Ambos foram utilizados em exame bacteriológico, cuja identificação foi realizada de acordo com as características morfológicas, tintoriais e bioquímicas das culturas.

As alterações macroscópicas foram caracterizadas por hepatomegalia e congestão das mucosas, gástrica e intestinal. Amostras de pulmão, fígado, baço, mucosa gástrica e mucosas intestinais foram obtidas, fixadas em formaldeído 10% e processadas pelas técnicas histológicas padronizadas de inclusão em parafina, cortes de 5 µm e coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE). De acordo com o exa-

me microscópico foi identificado hiperemia gástrica e intestinal, com colonização da mucosa por bactérias em forma de bastonete, além de hemossiderose hepática. Não foram observadas alterações dignas de nota no cérebro.

Para exame bacteriológico, as amostras foram cultivadas em Caldo Nutriente, Ágar Eosina-Azul de Metileno (Teague), Ágar Hektoen, ágar contendo 5% de sangue de carneiro (Ágar Sangue) e Tetracionato de Kauffmann. Colorações de Gram também foram realizadas. As colônias suspeitas foram inoculadas em meio de triagem, Monteverde – CV (Costa & Vernin 1955) e provas bioquímicas foram adotadas conforme recomendações de Costa & Hofer (1972).

O isolamento e a identificação de *E. tarda* foi obtida na cultura do sangue cardíaco (hemocultura). Não houve isolamento de *E. tarda* do líquido pericárdico, o que não excluiu a possibilidade de que a bactéria tenha contribuído para a formação da efusão. Ambas as amostras foram negativas para *Salmonella* spp.

Embora se saiba que *E. tarda* tenha provável eliminação fecal não foram coletadas amostras de fezes para exame bacteriológico, o que de fato não exclui a possibilidade de colonização intestinal por este agente etiológico neste estudo.

Em Ágar Sangue cresceram pequenas colônias hemolíticas e lisas e a bacterioscopia do esfregaço foram evidenciados bastonetes Gram-negativos. O meio de CV apresentou certa alcalinidade no ápice, presença de gás sulfídrico e motilidade. Para a diferenciação de *Edwardsiella* e de outros gêneros produtores de H₂S, como *Salmonella* e *Citrobacter*, procedeu-se a realização das provas bioquímicas de Manitol, Indol, Lisina e KCN de acordo com Costa & Hofer (1972).

DISCUSSÃO

Todas as enterobactérias crescem em meio de Ágar Sangue e Ágar MacConkey e estes são usados rotineiramente para o isolamento; entretanto, o Ágar Eosina-Azul-de-Metileno (Teague), utilizado nesse estudo, pode substituir o meio Ágar MacConkey, pois permite uma diferenciação preliminar entre enterobactérias e outras bactérias gram-negativas (Farmer 1981). A utilização do meio de CV foi útil na caracterização de *E. tarda*, uma vez que este meio produz características compatíveis com o meio de TSI (Tríplice açúcar com ferro), para a mesma bactéria (Linder 2002).

As reações bioquímicas foram importantes na caracterização e auxílio na diferenciação entre *E. tarda* e outras enterobactérias, conforme já disposto por Costa & Hofer (1972) e Linder (2002). As provas de motilidade e indol positivas, além de produção de H₂S também já foram encontradas em trabalhos sobre *E. tarda* em trutas arco-íris (Alexandrino 1998) e tilápias (Muratori et al. 2001), o que corrobora com os resultados do presente estudo.

Microrganismos do gênero *Edwardsiella* não são raros em ambientes aquáticos (Janda & Abbott 2006), sendo *E. tarda* considerada um habitante comum da microbiota intestinal normal de animais aquáticos, incluindo pinguins (McBee 1960, White 1984, Leotta et al. 2009, Nimmervoll et al. 2011), que em certas circunstâncias, pode causar infecções intestinais e extra-intestinais (Janda & Abbott 1993, Baya et al. 1997). Ainda pode ser responsável por infecção oportunista em animais da fauna marinha doentes ou imunocomprometidos (Coles et al. 1978).

Há relato de *E. tarda* em pinguim-de-penacho-amarelo (*Eudyptes chrysocome*) causando enterite crônica (Cook & Tappe 1985), e em pinguim-de-adélia (*Pygoscelis adeliae*) associada com infecção subcutânea por *Clostridium* (Nievas et al. 2007). Janda & Abbott (2006) descreveram um caso de isolamento de *E. tarda* em pinguins enfermos e Bonnedahl et al. (2008) relataram a presença desse gênero na microbiota fecal de pinguins Gentoo (*Pygoscelis papua*) saudáveis. Leotta et al. (2009) isolaram *E. tarda* em 15,1% de 1855 amostras fecais de animais antárticos, incluindo petréis, skuas, gaivotas e pinguins. Na ocasião, nenhum dos animais avaliados tinha sinais clínicos da infecção, resultado que difere do presente relato. Nimmervoll et al. (2011) identificaram *E. tarda* em pinguim africano jovem em cativeiro na Suíça.

Provavelmente, os sinais clínicos no pinguim do presente estudo decorreram da infecção oportunista de *E. tarda*. A constatação de hiperemia da mucosa gástrica e presença, em sua superfície, de bactérias com característica de bastonetes, são achados compatíveis com invasão e disseminação de *E. tarda*, contribuindo para o diagnóstico de septicemia, sustentado ainda pelo isolamento da bactéria em hemocultura.

Com relação à hemossiderose, Cubas (2008) descreveu tal alteração como o depósito de ferro em órgãos parenquimatosos, podendo ser considerada de etiologia multifatorial em animais selvagens. O

mesmo autor relatou ainda hemossiderose associada a infecções bacterianas e bacteremia.

O desencadeamento da edwardsielose no presente estudo possivelmente esteve relacionado a situação de estresse crônico, decorrente do ambiente de cativeiro, subnutrição e debilidade física em que o animal estava.

Ao participar da microbiota normal desses animais, *E. tarda* possivelmente tem eliminação fecal, sendo este o principal mantenedor de uma fonte de infecção para exemplares mantidos no mesmo recinto. Ainda, um manejo sanitário inadequado dos animais e de suas instalações representam um fator de alerta, uma vez que tal bactéria possui reconhecido potencial zoonótico. Quanto ao componente septicêmico de *E. tarda* possa estar relacionado ao estresse porão qual os animais estavam submetidos ao confinamento aumentando desta maneira os índices de mortalidade. Em humanos, são relatados índices de mortalidade superiores a 40% nos casos de infecção extra-intestinal (Schlenker & Surawicz 2009).

Concluiu-se que houve disseminação sistêmica de *E. tarda* pela circulação, sendo esta a *causa mortis* deste animal. A realização de exames histopatológico e bacteriológico confirmam a importância no diagnóstico, uma vez que os pinguins-de-Magalhães são potenciais reservatórios desta bactéria e quando imunodeprimidos podem ser alvo de infecção grave.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandrino A.C., Okumura M.P.M., Baldassi L., Tabata Y.A., Pauli A.O.S., Araujo A.P. & Rosa M.B. Ocorrência de infecção por *Edwardsiella tarda* em truta Arco-Iris (*Oncorhynchus mykiss*) em cultivo intensivo. *Bol. Inst. Pesca*, 25:121-123, 1998/1999.
- Arya A.V., Rostom A., Dong W.F. & Flynn A.N. Crohn's Disease Exacerbation Induced by *Edwardsiella tarda* Gastroenteritis. *Case Rep. Gastroenterol.*, 5:623-627, 2011.
- Baya A.M., Romalde J.L., Green D.E., Navarro R.B., Evans J., May E.B. & Toranzo A.E. Edwardsiellosis in wild striped bass from the Chesapeake Bay. *J. Wildl. Dis.*, 33:517-525, 1997.
- Bonnedahl J., Olsen B., Waldenström J., Broman T., Jalava J., Huovinem P. & Österblad M. Antibiotic susceptibility of faecal bacteria in Antarctic penguins. *Polar Biol.*, 31:759-763, 2008.
- Carter G.R. *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. 3^a ed. C.C. Thomas, Springfield, 1979. 484p
- Coles B.M., Stroud R.K. & Sheggeby S. Isolation of *Edwardsiella tarda* from three Oregon sea mammals. *J. Wildl. Dis.*, 14:339-341, 1978
- Cook R.A. & Tappe J.P. Chronic enteritis associated with *Edwardsiella tarda* infection in Rockhopper penguins. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 187:1219-1220, 1985.
- Costa G.A. & Hofer E. *Isolamento e identificação de enterobactérias*. IOC, Rio de Janeiro, 1972. 120p.
- Costa G.A. & Vernin C.S. Sobre uma modificação do meio Monteverde. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 55:115-120, 1955
- Cubas Z.S. *Siderose hepática em tucanos e araçaris*. Dissertação (Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008. 159p. (Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/14723/1/Siderose%20hep%C3%A1tica%20em%20tucanos%20e%20ara%C3%A7aris_Zalmir%20S%20Cubas.pdf>)
- Ewing W.H., Mcwhorter A.C., Escobar M.R. & Lubin A.H. *Edwardsiella*, a new genus of Enterobacteriaceae based on a new species, *E. tarda*. *Int. Bul. Bacteriol. Nomenclat. Taxon.*, 15:33-38, 1965.
- Farmer J.J. The genus *Edwardsiella*, p.1135-1139. In: Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Balows A. & Schlegel H.G. (Eds), *The Prokaryotes*. Springer-Verlag, Berlin. 1981.
- Fowler G.S. & Fowler M.E. Order Sphenisciformes. (Penguins), p.53-64. In: Fowler M.E. & Cubas Z.S. (Eds), *Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals*. ISU Press, Iowa, Ames. 2001.
- IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2. (Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: Mar. 2012.
- Janda J.M. & Abbott S.L. Infections associated with the genus *Edwardsiella*: the role of *Edwardsiella tarda* in human disease. *Clinic. Infect. Dis.*, 17:742-748, 1993.
- Janda J.M. & Abbott S.L. *The enterobacteria*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, DC, 2006. 411p.
- Jordan G.W. & Hadley W.K. Human infection with *Edwardsiella tarda*. *Ann. Int. Med.*, 70:283-288, 1969.
- Koshi G. & Lalitha M.K. *Edwardsiella tarda* in a variety of human infections. *Indian J. Med. Res.*, 64:1753-1759, 1976.
- Leotta G.A., Piñeyro P., Serena S. & Vigo G.B. Prevalence of *Edwardsiella tarda* in Antarctic wildlife. *Polar Biol.*, 32:809-812, 2009.
- Mcbee R.H. Intestinal Flora of some Antarctic birds and mammals. *J. Bacteriol.*, 79:311-312, 1960.
- Muratori M.C.S., Martins N.E., Peixoto M.T.D., Oliveira A.L., Ribeiro L.P., Costa A.P.R., Silva M.C.C. & Leite R.C. Mortalidade por "septicemia dos peixes tropicais" em tilápias criadas em consorciação com suínos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53:658-662, 2001.
- Nagel P., Serritella A. & Layden T.J. *Edwardsiella tarda* gastroenteritis associated with a pet turtle. *Gastroenterology*, 82:1436-1437, 1982.
- Nievas V.F., Leotta G.A. & Vigo G.B. Subcutaneous clostridial infection in Adelie penguins in Hope Bay, Antarctica. *Polar Biol.*, 30:249-252, 2007.
- Nimmervoll H., Wenker C., Robert N. & Albin S. Septicemia caused by *Edwardsiella tarda* and *Plesiomonas* in captive penguin chicks. *Schweizer Archiv Tierheilkund*, 153:117-121, 2011.
- Ruoppolo V., Adornes A.C., Nascimento A.C. & Silva Filho R.P. Reabilitação de pinguins afetados por petróleo. *Clinic. Vet.*, 9:78-83, 2004.

- Schlenker C. & Surawicz C.M. Emerging infections of the gastrointestinal tract. *Best Pract. Res. Clinic. Gastroenterol.*, 23:89-99, 2009.
- Serafini P.P., Gomes A.L.M., Maranhão A., Fernandes A., Mader A., Altieri B.L., Matias C.A.R., Niemeyer C., Kolesnikovas C.K.M., Guerra F., Dantas G.P.M., Vivekananda G., Nunes G.T., Oberg I., Simão Neto I., Fausto I.V., Araújo J., Catão-Dias J.L., Barros J.A., Cardoso L.G., Barbosa L.A., Duarte M.V., Barragana M., Labarthe N., Baldassin P., Maracini P., Vanstreels R.E.T., Velozo R.S., Silva-Filho R.P., Freitas R.R., Campos S.D.E., Serra S.D., Raso T.F., Muraoka T.R., Garcia T.F., Ruoppolo V. & Carniel V.L. Projeto Nacional de Monitoramento de Pinguim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*). CEMAVE (ICMBio), Brasília, 2010. 36p
- Silva Filho R.P. & Ruoppolo V. Sphenisciformes (Pinguim), p.309-323. In: Cubas Z.S., Silva J.C.R. & Catão-Dias J.L. (Eds), *Tratado de Animais Selvagens*. Roca, São Paulo. 2007.
- Wang I.K., Kuo H.L., Chen Y.M., Lin C.L., Chang H.Y., Chuang F.R. & Lee M.H. Extraintestinal manifestations of *Edwardsiella tarda* infection. *Int. J. Clin. Pract.*, 59:917-921, 2005.
- White F.H. *Edwardsiella tarda*, p.83-92. In: Hov C.L., Frye F.L. & Jacobson E.R. (Eds), *Diseases of amphibians and reptiles*. Plenum Press, New York. 1984.