

## Diagnóstico de Aspergilosis en charabones de *Rhea americana* (ñandú)

Boris M<sup>1</sup>, Sanmartin A<sup>2</sup>, Solari G<sup>3</sup>, Zunino P<sup>4</sup>.

### RESUMEN

Se realizaron necropsias de 46 charabones de entre 5 a 15 días de edad procedentes de tres establecimientos de cría de la especie *Rhea americana*. Los signos y síntomas previos así como las lesiones de diversa gravedad encontradas en sacos aéreos y pulmones eran compatibles con las producidas por hongos del género *Aspergillus*. Se tomaron muestras de las lesiones las cuales fueron colocadas y aplastadas sobre un portaobjeto y tratadas con hidróxido de potasio (KOH) al 20% durante 30 minutos.

La confirmación del diagnóstico se realizó por la visualización al microscopio óptico de formaciones compatibles con aquellas típicas de *Aspergillus* spp., tomadas directamente de lesiones en los animales afectados. El hongo también fue recuperado en medios artificiales a partir de las lesiones típicas en los órganos afectados.

**Palabras clave:** *Rhea americana*, aspergilosis, hongo, diagnóstico, mortalidad.

### SUMMARY

Necropsies of 46 Rhea chicks of between 5 and 15 days of age, coming from 3 breeding farms of the specie *Rhea americana* have been done. The previous signs and symptoms, as well as the wide variety of lesions found in air sacs and lungs, are compatible with those caused by fungus belonging to the *Aspergillus* genus. Samples from the lesions were taken, placed and smashed on an object-holder and treated with potassium hydroxide (KOH) at a concentration of 20 % during 30 minutes.

The confirmation of the diagnosis was done through visualisation under optic microscope of formations compatible with those typical of *Aspergillus*, taken directly from the lesions in the affected animals. The fungus was also recovered on artificial media from typical lesions present in the affected organs.

**Keywords:** *Rhea americana*, aspergilosis, fungus, diagnosis, mortality.

### INTRODUCCIÓN

Son pocos los seres vivos que pueden encontrarse en lugares tan diversos como los hongos y prácticamente cualquier ambiente puede resultar propicio para su desarrollo. Los hongos y sus esporas se encuentran en el aire, suelo y agua además de plantas, animales y el hombre.

La aspergilosis es una enfermedad infecciosa, no contagiosa (9), de distribución mundial, causada por hongos del género *Aspergillus*.

Es considerada de origen ambiental ya que el agente es un habitante normal del medio ambiente.

En caninos y felinos se describen casos de aspergilosis nasal, la forma diseminada de la enfermedad en varios órganos (5) y provocando lesiones cutáneas (8). También es causa relativamente frecuente de aborto en bovinos, suinos y equinos (1).

El ser humano también es afectado aumentando su incidencia en pacientes inmunodeprimidos. La inhalación de conidios de *Aspergillus* spp. por el ser humano no suele producir manifestaciones clínicas, pero en determinados pacientes puede asociarse con una amplia variedad de presentaciones clínicas que van desde el aspergiloma a la aspergilosis invasiva, diversos tipos de cuadros alérgicos como la aspergilosis broncopulmonar, rinitis y sinusitis alérgica y la alveolitis alérgica extrínseca (7). En la aspergilosis invasiva, que presenta una letalidad de alrededor de 50%, pueden observarse diferentes presentaciones clínicas que tienen en común su dificultad diagnóstica (4).

Recientemente también se ha identificado a la aspergilosis como un serio problema nosocomial en centros hospitalarios en distintas regiones (11).

La afección más conocida y característica es la del aparato respiratorio de toda

clase de aves (12), tanto silvestres, de compañía y producción (9). Los dos agentes principales causantes de aspergilosis en las aves domesticas, son *A. flavus* y *A. fumigatus* (3). Los casos con *Aspergillus fumigatus* son más frecuentes porque el tamaño de las esporas es menor y tienen mayor probabilidad de llegar y colonizar los tejidos pulmonares. Las producciones avícolas pueden sufrir grandes pérdidas económicas por muerte de animales y bajas en la postura e incubabilidad. Se la conoce también como "neumonía de la incubadora", "neumonía de la nacedora", o "neumonía silenciosa".

Los signos y síntomas observados en charabones de ñandú son variados (2).

A pesar de ser una enfermedad que provoca lesiones casi exclusivamente en el aparato respiratorio predominan los signos y síntomas de deterioro general antes de los respiratorios.

<sup>1</sup> Ejercicio liberal. Amazonas 16 21 a, Montevideo Uruguay; C.P: 11411; e-mail: mboris@adinet.com.uy.

<sup>2</sup> Ejercicio liberal. Rivera 4136, Montevideo Uruguay; C.P: 11411.

<sup>3</sup> Ejercicio liberal. Luis de la Torre 536, Montevideo Uruguay; C.P: 11300; e-mail: gsolari@adinet.com.uy.

<sup>4</sup> Jefe Laboratorio de Microbiología IIBCE; e-mail: pablo@iibce.edu.uy.

Se aprecia retraso marcado del crecimiento y del peso de los animales afectados respecto a los del lote.

Entre los síntomas se pueden incluir: anorexia y adelgazamiento, sensorio deprimido, plumón erizado y desperejo sin brillo, cabeza apoyada en espalda, ataxia por debilidad, disnea, respiran con pico abierto, alas extendidas y abdomen contra el suelo. También se han observado cuadros nerviosos puros con torticolis, temblores, ataxia e incoordinación. La mortalidad presentada es variable.

Uruguay es el país con mayor desarrollo y avances tecnológicos en la explotación comercial del ñandú en el mundo. (2)

Desde la aparición de los primeros criaderos en la década del 90 se han observado grandes cambios en las diferentes etapas del ciclo de producción. Al comienzo se adoptó un sistema similar al modelo sudafricano de cría del avestruz. Luego se fue evolucionando y adoptando variantes con el correr de los años buscando una modalidad que se adapte a las características propias de esta especie (2).

La aparición y diagnóstico de diferentes enfermedades, algunas provocando elevada mortalidad sobre todo en animales de corta edad (charabones), han llevado a modificar y tratar de perfeccionar los diferentes sistemas de cría de esta especie.

La falta de experiencia e incipiente investigación relacionada con la especie determinan la diversidad de criterios existentes en cuanto a manejo sanitario y bioseguridad de los criaderos. Las posibilidades de cometer errores vinculados con aspectos sanitarios aumentan la probabilidad de aparición de determinadas patologías bien controladas en otras explotaciones avícolas.

Las enfermedades respiratorias en las diferentes categorías son frecuentemente reportadas pero en pocas oportunidades es confirmada su etiología. El objetivo del presente trabajo es reportar el diagnóstico de aspergilosis como causa de mortalidad en charabones de ñandú.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales y necropsias

Se realizan necropsias de 46 charabones de entre 5 a 15 días de edad procedentes de tres establecimientos de cría, uno de ciclo completo y dos especializados en la etapa de cría de charabones

### Análisis microscópico

De la totalidad de charabones necropsiados se tomaron muestras para el análisis microscópico. A partir de los nódulos y

placas observadas en pulmones y sacos aéreos se tomaron muestras las cuales fueron colocadas y aplastadas sobre un portaobjeto y posteriormente tratadas con hidróxido de potasio (KOH) al 20% durante un lapso de 30 minutos. (10)

### Cultivo

A partir de muestras extraídas de tres charabones se realizó el cultivo en un medio específico para hongos y levaduras.

El cultivo se realizó en el medio PDA (Potato Dextrose Agar), a 37 °C durante 3 días, partiendo de muestras de lesiones de pulmón. Se realizaron frotis de las colonias obtenidas y se trataron con KOH al 20% (6).

## RESULTADOS

### Características de presentación

En el cuadro 1 se presentan los porcentajes de mortalidad hasta los 15 días de edad, en forma detallada por lote y por establecimiento. Es de destacar que la totalidad de las muertes se corresponden con los diagnósticos de aspergilosis descritos en el presente trabajo.

**Cuadro 1.** Cantidad de charabones por criadero y mortalidad.

Criadero		n	mt	%	Zafra
A ciclo parcial		104	4	3.8	2002 / 2003
B ciclo parcial		186	28	15	2003 / 2004
C ciclo completo	Lote 1	74	4	5.4	2003 / 2004
	Lote 2	73	5	6.8	2003 / 2004
	Lote 3	64	3	4.6	2003 / 2004
	Lote 4	67	2	2.3	2003 / 2004
TOTAL		568	46		

Zafra - Se le denomina al período de nacimiento de charabones, Noviembre a Marzo aproximadamente.

n - Corresponde a la cantidad total de charabones por lote.

mt - Corresponde a la totalidad de charabones muertos y necropsiados de cada lote hasta los 15 días de edad.

% - Porcentaje de mortalidad de cada lote hasta los 15 días de edad.

### Hallazgos de necropsia

Se observaron formaciones en forma de placas, de aspecto caseoso, blanco amarillentas de tamaño variable en sacos aéreos (figura 1). En parénquima pulmonar se evidenciaron gran cantidad de nódulos de aspecto granulomatoso, blanquecinos, parcialmente enucleables compatibles con los "aspergilomas" descritos en otras especies de aves (figura 2).



Figura 1. Placas en sacos aéreos

### Características microscópicas

Las muestras tratadas con KOH obtenidas en forma directa de los órganos afectados fueron analizadas al microscopio óptico, con un aumento de 600 X, pudiéndose observar conjuntos de hifas delgadas, septadas, ramificadas formando micelios, junto a gran cantidad de conidios característicos de *Aspergillus* sp. (figuras 3 y 4).

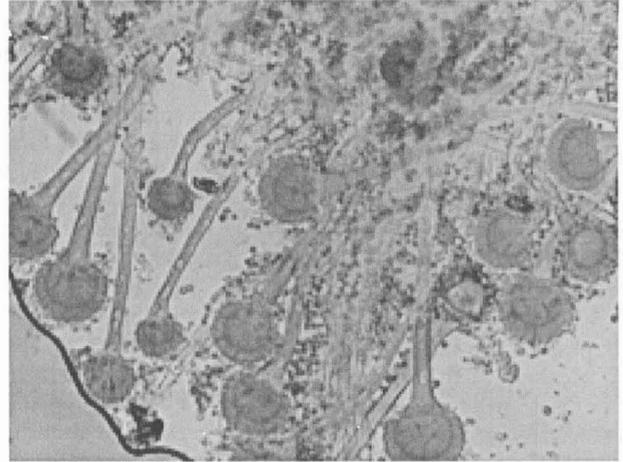


Figura 3. Micelio de *Aspergillus* sp. en KOH, (600X).

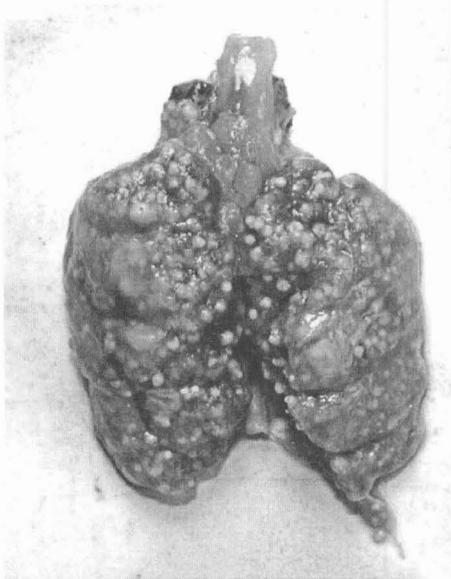


Figura 2. Nódulos en parénquima pulmonar.

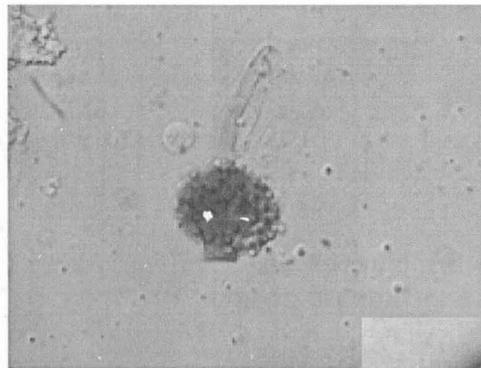


Figura 4. Detalles microscópicos de *Aspergillus* sp. en KOH, (600X).

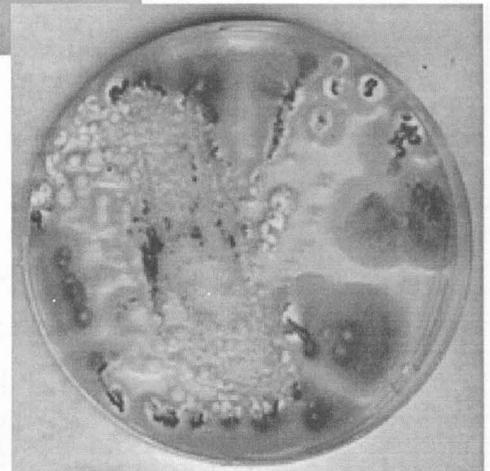


Figura 5. Colonias macroscópicas en medio PDA.

## DISCUSIÓN

Durante todo el ciclo de producción existe la posibilidad de desarrollo del hongo y acción de sus esporas.

Las observaciones personales de los autores indicarían que la aspergilosis es una de las causas frecuentes de mortalidad en la primera semana de vida en esta especie.

No se presentaron en los animales estudiados síntomas o hallazgos de necropsias compatibles con otras causas posibles de muerte.

El rango de mortalidad encontrado en la mayoría de los lotes (2,3 – 6,8), es similar al porcentaje reportado en otras aves (12).

Diferencias en el manejo aplicado respecto a los otros establecimientos explicarían la mortalidad de un 15% presentada en uno de los lotes.

El cierre casi permanente de puertas y ventanas con la intención de mantener niveles de temperatura ambiente constantes, contribuyeron a disminuir la ventilación y el intercambio de aire dentro de estas instalaciones. De esta forma se habría favorecido el aumento de las es-

poras en el ambiente y la inhalación por parte de los charabones.

No tenemos datos acerca de la incidencia de este agente sobre la incubabilidad de los huevos. Teniendo en cuenta que los mismos son depositados en el suelo y pueden permanecer varias horas antes de ser recolectados, es posible la contaminación y pasaje a través de los poros de la cáscara con la consiguiente muerte embrionaria (Esquema 1).

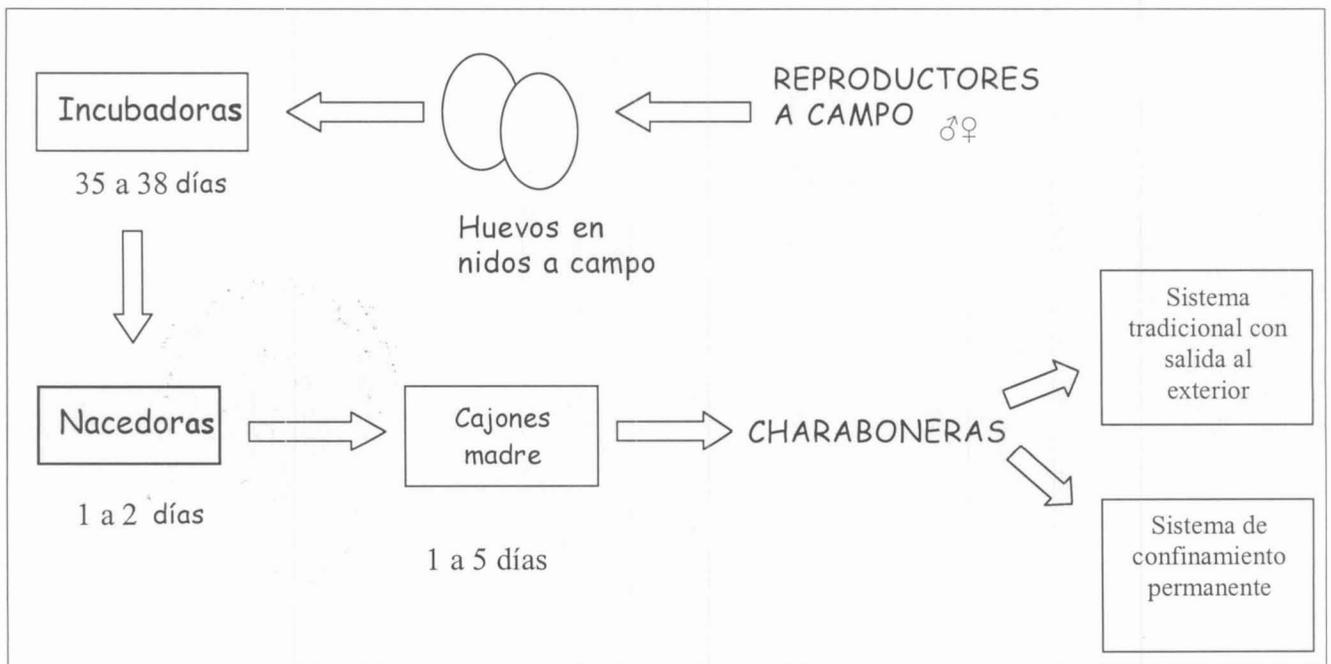
En la incubación no se emplean condiciones de bioseguridad con el alto grado de especialización que tiene la avicultura hoy en día. En general los productores no cuentan con un asesoramiento técnico a la hora de planificar la bioseguridad y la desinfección, limitándose a la extrapolación de experiencias de otros productores o de prácticas de avicultura tradicional. Gran parte de los sistemas de incubación consisten en una pieza o galpón acondicionados para alojar incubadoras y nacedoras junto a los cajones madre; es decir que en una misma sala se encuentran al mismo tiempo huevos en diferentes estados de desarrollo con charabones recién nacidos. La planificación de una desinfección adecuada es muy

complicada y se aumentan los riesgos de contaminación.

Dentro de las incubadoras existen condiciones de temperaturas (36-37 °C) y humedad (46 a 50 % HR) propicias para el crecimiento de hongos.

Cuando los charabones rompen la cáscara, tanto sus pulmones como el revestimiento ciliar del tracto superior que sirve de barrera frente a la entrada de gérmenes, no han alcanzado su total desarrollo. En este momento son altamente vulnerables y las esporas de *Aspergillus* spp. inhaladas alcanzan fácilmente los sacos aéreos y pulmones. Si la infección ocurre en la nacedora es de esperar que los síntomas y muertes aparezcan en los primeros días de vida del charabón.

La cáscara de arroz es el elemento más utilizado como cama en las charaboneras siendo muy difícil la desinfección antes de su utilización; junto a las condiciones de temperatura necesarias para los charabones (28-30 °C), la humedad ambiente, inadecuada ventilación y acumulación de materia fecal, se crean las condiciones ideales para el desarrollo del hongo y sus esporas.



Esquema 1. Esquema del ciclo de producción comercial de ñandú en el Uruguay.

Cuando la inhalación de las esporas ocurre en las charaboneras, la sintomatología y mortalidad se desplazaría hacia los 15 días de vida que es lo que hemos observado en la mayoría de los casos.

Se observa también un aumento de la incidencia de casos de aspergilosis coincidiendo con el pico de postura lo que se explicaría por:

1. Aumento del número de huevos a incubar.
2. Mayor número de nacimientos diarios y de animales por lote.
3. Menos tiempo dedicado a las prácticas de limpieza y desinfección.

Estos tres factores aumentan el riesgo de contaminación en la incubación y durante la etapa de crianza.

## CONCLUSIONES

La aspergilosis de los charabones como en otras especies aviares, se produciría por la inhalación de esporas presentes en las nacedoras, en los galpones de crianza, en las camas, o a partir de raciones enmohecidas.

La mala planificación de algunos sistemas de incubación sumada a inadecuadas prácticas de desinfección aumenta la casuística de la enfermedad en comparación a otras explotaciones avícolas con alto grado de desarrollo y especialización.

Bajar la incidencia de la enfermedad dependerá de la investigación, desarrollo e implementación de programas de limpieza

y desinfección adecuados a la realidad de este rubro.

## Agradecimientos

A los productores de ñandú que nos brindan el apoyo necesario para nuestro trabajo y al Laboratorio de Microbiología del IIBCE por la dedicación e interés en el desarrollo de la investigación en la cría de esta especie.

## Referencias bibliográficas

1. **Blood, D.C., Radostits, O.M.** (1992). Medicina Veterinaria, Cap. Enfermedades producidas por hongos, 7ª ed. Ed. Interamericana, p.1049.
2. **Boris, M.** (2004). Cría y sanidad del Ñandú (*Rhea americana*), Jornada de actualización técnica, DINARA-MGAP.
3. **Calnek, B.W.** (1995). Enfermedades de las Aves, Infecciones Micóticas, pp. 399-408.
4. **Denning, D.W., Evans, E.G; Kibbler, C.C; Richardson, M.D.; Roberts, M.M., Rogers, T.R.; Warnock, D.W ; Warren, R.E.** (1997). Guidelines for the investigation of invasive fungal infections in haematological malignancy and solid organ transplantation. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis; 16: 424-436.
5. **Greene, E.C.** (1993). Enfermedades infecciosas perros y gatos 2ª ed. Ed. Interamericana, p. 750.
6. **Hall, L.A.; Denning, D.W.** (1994). Oxygen requirements of *Aspergillus* species. J. Med. Microbiol. 41: 311-315.
7. **Kurup, V; Kumar, A.** (1991). Immunodiagnosis of aspergillosis. Clin. Microbiol. Rev; 4: 439-456.
8. **Muller, G; Kira R.** (1993). Dermatología en pequeños animales., 4ª ed. Ed. Intermédica, p. 367.
9. **Oglesbee B. L.; Birchard, S.; Sherding, R.** (1997). Manual Clínico de Pequeñas Especies. Vol. 2. Bishop, C. L. Cap. Enfermedades infecciosas de las aves, pp. 1499-1500.
10. **Orem, J.; Mpanga, L.; Habyara, E.** (1998). Disseminated *Aspergillus fumigatus* infection: case report. East Afr. Med. J. 75: 436-438.
11. **Pontón, J.; Cabañes, J.** (2000). *Aspergillus* y aspergilosis nosocomial. Rev. Iberoam. Micol.; 17: S77-S78
12. **Shwartz, D.L.** (1974). Manual de Sanidad Avícola. Cap. Enfermedades del Aparato Respiratorio, 1a. ed. Ed. Hispano-americana, p. 51.

