

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PREVALÊNCIA DE *Chlamydophila* sp. E QUADRO
HEMATOLÓGICO DE *Ara ararauna* E *Amazona aestiva* EM
CENTRO DE REABILITAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRES
EM CAMPO GRANDE/MS**

**Prevalence of *Chlamydophila* sp. and hematology of *Ara ararauna* and *Amazona aestiva*
in wild animals rehabilitation center in Campo Grande/MS**

Tatiana Mieko Ono

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
MARÇO 2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PREVALÊNCIA DE *Chlamydophila* sp. E QUADRO
HEMATOLÓGICO DE *Ara ararauna* E *Amazona aestiva* EM
CENTRO DE REABILITAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRES
EM CAMPO GRANDE/MS**

Tatiana Mieko Ono

Prof. Dr. Alfredo Sampaio Carrijo
Dr. Flávio Ribeiro de Araújo

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, como requisito
à obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Saúde Animal.

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
MARÇO 2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Coordenadoria de Biblioteca Central – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

O58p Ono, Tatiana Mieko.
Prevalência de Chlamydophila sp. e quadro hematológico de Ara ararauna e Amazona aestiva em centro de reabilitação de animais silvestres em Campo Grande, MS / Tatiana Mieko Ono. -- Campo Grande, MS, 2009.
53 f. ; 30 cm.

Orientador: Alfredo Sampaio Carrijo.
Co-orientador: Flávio Ribeiro de Araújo.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

1. Chlamydophila. 2. Arara - Doenças. 3. Papagaio (Ave) - Doenças. 4. Hematologia veterinária. I. Carrijo, Alfredo Sampaio. II. Araújo, Flávio Ribeiro. III. Título.

CDD (22) – 636.0896959

Tatiana Mieko Ono

"Prevalência de *Chlamydophila spp* e quadro hematológico de *Ara ararauna* e *Amazona aestiva* em centro de reabilitação de animais silvestres em Campo Grande-MS"

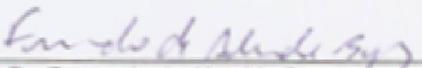
"Prevalence of *Chlamydophila spp* and hematology of *Ara ararauna* and *Amazona aestiva* in wild animals rehabilitation center, Campo Grande-MS"

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre.
Área de concentração: Saúde Animal

APROVADA: 27/03/2009



Dr. Alfredo Sampaio Carrijo
Orientador



Dr. Fernando de Almeida Borges



Dra. Lenita Ramires dos Santos

AGRADECIMENTOS

À FUNDECT pela bolsa de mestrado.

Ao Fabio Pellegrini pelo auxílio e parceria em todos os projetos em execução.

Ao Prof. Dr. Alfredo Sampaio Carrijo pela aceitação como sua orientada, pela amizade e paciência.

Ao Dr. Flávio Ribeiro de Araújo pela coorientação no projeto e pelos ensinamentos. Profissional que aprendi a admirar.

À Dra. Fátima Soares Motta Noronha por conceder DNA de *Chlamydophila* sp, utilizado como controle positivo.

Ao Carlos Ramos e Daniel Guedes pela dedicação, tempo e paciência, atrasando por vezes seus projetos para me auxiliarem. Ao técnico Renato Marçal pela presteza, pelo ensinamento e também pela preparação da Solução de Natt e Herrick, extremamente essencial para as análises hematológicas.

Ao Dr. Luiz Eduardo Tavares que orientou brilhantemente nas análises estatísticas.

Ao técnico Sandro do Laboratório de Patologia Clínica da UFMS pela iniciação em hematologia. Ao Dr. Prof. Pachaly pelo conhecimento passado e por sempre responder aos *emails* prontamente.

À Msc. Anahí Souto Vieira pela amizade e auxílio em todos os aspectos vividos.

Às médicas veterinárias Cristina Carrijo e Juliana Marcondes Rezende por permitirem o uso dos Laboratórios de Análises Clínicas para as análises hematológicas.

Aos técnicos do CRAS: Álvaro Cavalcanti e Vinicius Lopes, por ceder os animais, auxiliar nas coletas e abrir as portas do Centro. Aos técnicos João, Genivaldo e Vandir que sempre auxiliaram com muita sabedoria e presteza.

Aos amigos da Embrapa.

Ao Felipe Pellegrini pelo auxílio com a tradução.

À secretária Marilete que sempre nos atendeu com muito carinho e atenção.

Ao Antônio José Sabino por transmitir sua experiência na hematologia aviária.

Ao Dr. Aramis Pinto pelos artigos enviados e pela disponibilidade e presteza em auxiliar.

À Dra. Tânia Raso pelas informações fornecidas.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Centro de reabilitação de animais silvestres.....	11
2.2 Psitacídeos.....	13
2.3. Clamidiose.....	15
2.3.1 Aspectos Epidemiológicos.....	15
2.3.2 Patogênese.....	17
2.3.3 Aspectos Clínicos.....	19
2.3.4 Diagnóstico.....	20
2.4 Hematologia em aves.....	21
2.4.1 Hematologia e Clamidiose.....	24
3. REFERÊNCIAS	26
4. ARTIGO	34
Prevalência de <i>Chlamydophila</i> sp. e quadro hematológico de <i>Ara ararauna</i> e <i>Amazona aestiva</i> em centro de reabilitação de animais silvestres em Campo Grande/MS	
Resumo.....	35
Abstract.....	35
Introdução.....	36
Material e Métodos.....	37
Hematologia.....	38
Extração de DNA genômico e amplificação dos fragmentos de genes.....	38
Clonagem e seqüenciamento dos fragmentos de genes.....	40
Análise estatística.....	40
Resultados e Discussão.....	41
Conclusão.....	46
Referências.....	47
APÊNDICE	49

LISTA DE ABREVIATURAS

μL	- Microlitros
CE	- Corpúsculo elementar
cm	- Centímetros
CRAS/MS	- Centro de Reabilitação de Animais Silvestres em Campo Grande, Mato Grosso do Sul
DNA	- Ácido desoxirribonucléico
EDTA	- Ácido etilenodiaminotetracético
fL	- Fentolitros
g	- Gramas
IBAMA	- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
LCL	- Levinthal-Colles-Lillie
pb	- Pares de base
PCR	- Reação em cadeia de polimerase
PP	- Proteína plasmática
PPT	- Proteína plasmática total
RENTAS	- Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres
VCM	- Volume corpuscular médio
VG	- Volume globular

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Achados clínico-patológicos associados com Clamidiose.....	25
Tabela 2	Avaliação das seqüências de DNA dos fragmentos gênicos de <i>ompA</i> de <i>Chlamydophila</i> sp. submetidos aos algoritmos Blastn.....	43
Tabela 3	Valores médios das variáveis estudadas nas espécies <i>Ara ararauna</i> e <i>Amazona aestiva</i> submetidas à pesquisa molecular para <i>Chlamydophila</i> sp., oriundas do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres, do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.....	44

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Gel de agarose a 2%, corado com Syber Gold, demonstrando a segunda reação da semi-nested PCR para *Chlamydophila* sp., com 165 pb..... 41
- Figura 2 Percentual de psitacídeos positivos e negativos para *Chlamydophila* sp., submetidos à pesquisa molecular, no período de maio a setembro de 2008, oriundos do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres, do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul..... 42

RESUMO

As araras e papagaios, pertencentes à família Psittacidae, e são as aves que mais sofrem com o tráfico de animais silvestres. Em Mato Grosso do Sul, o Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS/MS) recebe os animais apreendidos do tráfico, desenvolvendo um importante papel para a conservação da fauna. A clamidiose aviária, enfermidade causada por *Chlamydophila psittaci*, é frequentemente diagnosticada nos psitacídeos em todo o mundo. Por ser uma grave zoonose, um diagnóstico preciso é requerido para que ações preventivas, relativas à saúde pública, sejam tomadas. O hemograma é um exame amplamente utilizado na clínica médico-cirúrgica dos animais, atuando com uma importante ferramenta nos diagnósticos, entretanto na clínica de aves não são comumente realizados. Os objetivos deste trabalho foram verificar a prevalência de clamidiose nas espécies *Ara ararauna* e *Amazona aestiva* em reabilitação no CRAS/MS, no município de Campo Grande, Brasil, e apontar as possíveis alterações hematológicas associadas a esta enfermidade. Foram amostradas 75 aves (*A. ararauna*, n=27; *A. aestiva*, n=48), realizando-se os seguintes procedimentos: exame clínico, coleta de sangue e *swabs* cloacais e aferição do peso corpóreo. O diagnóstico de clamidiose foi obtido através da reação em cadeia da polimerase, analisando os *swabs* cloacais. Os animais foram divididos em dois grupos: positivos e negativos para clamidiose, calculando-se a média e o desvio padrão de cada variável estudada. A prevalência de clamidiose foi de: 55,56% para *A. ararauna* e 35,42% para *A. aestiva*, esta enfermidade foi associada à redução das taxas de volume globular e peso corpóreo na espécie *A. ararauna*. Na espécie *A. aestiva* não foram observadas diferenças entre os animais positivos e negativos para clamidiose nas condições estudadas. Foi observado hemoparasitose por *Haemoproteus* sp. em uma arara-canindé pertencente ao grupo dos pássaros negativos. A presença de *Chlamydophila* sp. nas espécies *Ara ararauna* e *Amazona aestiva* indicam a existência de portadores assintomáticos e sintomáticos para a clamidiose no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Palavras-chave: clamidiose, hematologia, arara-canindé, papagaio-verdadeiro.

ABSTRACT

The macaws and parrots belong to family Psittacidae, which are the avian that most suffer with the trafficking of wild animals. In the state of Mato Grosso do Sul, the Centro de Reabilitação de Animais Silvestres - CRAS/MS (Wild Animals Rehabilitation Center) receives animals seized from smugglers, thus being an important center to the conservation of the animals. The avian chlamydiosis, disease caused by *Chlamydophila psittaci*, is frequently diagnosed in psittacines worldwide. It's a serious zoonosis and a specific diagnosis is required to prevent actions to the public health from being realized. The hemogram is frequently utilized in the animals' clinic as an important tool in the diagnosis, however in the birds' clinic aren't commonly realized. The objectives in this work were to verify the prevalence of the chlamydiosis in *Ara ararauna* and *Amazona aestiva* species in rehabilitation at the CRAS/MS, in the city of Campo Grande, in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil, and point out the possible hematological disorder associated with the disease. Seventy-five birds were sampled (*A. ararauna*, n=27; *A. aestiva*, n=48), realizing the following procedures: clinical examination, blood collection, cloacal swabs and weight analyses. The diagnosis of psittacosis was obtained by polymerase chain reaction. The animals were divided in two groups: positives and negatives by chlamydiosis, calculating the average and standard derivation to each variable studied. The prevalence of chlamydiosis was: 55,56% to *A. ararauna* and 35,42% to *A. aestiva*. This disease was associated with reduction of the packed cell volume and body weight in the *A. ararauna*. In the *A. aestiva* there were no differences observed between the positive and negative birds to chlamydiosis in the studied conditions. A single case of blood parasites by *Haemoproteus* sp. in blue-and-yellow macaw was detected in a bird that was negative to chlamydiosis. The presence of the *Chlamydophila* sp. in the *Ara ararauna* and *Amazona aestiva* species indicate the existence of asymptomatic and symptomatic birds at the CRAS/MS.

Key-words: chlamydiosis, hematology, blue-and-yellow macaws, blue-fronted-parrot.

1. INTRODUÇÃO

A clamidiose aviária é causada por *Chlamydophila psittaci* (*C. psittaci*), bactéria gram negativa, obrigatoriamente intracelular. A doença em pássaros é na maioria das vezes sistêmica e ocasionalmente fatal (VAN LOOCK et al. 2005). Em 1893, Morange descreveu um agente infeccioso transmitido por papagaios que causava, em humanos, infecção no trato respiratório semelhante à gripe e a denominou de psitacose, da palavra grega “psittacus”, papagaio (MOSCHIONI et al. 2001).

A psitacose, também conhecida como ornitose, clamidiose ou febre do papagaio, tem sido um problema à saúde pública como zoonose e precauções devem ser tomadas quando houver o manuseio de pássaros infectados ou material contaminado. Esta doença ocorre em todo o mundo, com sua incidência e distribuição variando amplamente dependendo da espécie de pássaro e do sorotipo do organismo clamidial (VAN LOOCK et al. 2005).

Sabe-se que os psitacídeos são hospedeiros de *C. psittaci*, e quase sempre estão envolvidos nos surtos e/ou na transmissão desta doença. O Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS/MS) em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, recebe um grande número de araras e papagaios provenientes de apreensões de tráfico de animais selvagens. Estas aves recebem atendimento veterinário e zootécnico, sendo posteriormente reabilitadas e soltas na natureza.

Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), para evitar a introdução de doenças no meio ambiente, normas específicas devem ser seguidas para a reintrodução das aves na natureza. Dentre tais normas se preconiza o diagnóstico da clamidiose, assim como hemograma completo com pesquisa de hemoparasitos para aves cujo peso esteja acima de 120g (IBAMA, 2007).

A pesquisa de clamidiose já é realizada no CRAS/MS utilizando coleta de fezes dos recintos coletivos. Os materiais são enviados para laboratório privado e como método diagnóstico utiliza-se a reação em cadeia da polimerase (PCR). Quando um recinto apresenta resultado positivo para a clamidiose, todos os pássaros do viveiro recebem tratamento com doxiciclina. Utilizando-se antibioticoterapia em todos os indivíduos, fica impossibilitada de ser determinada a prevalência da clamidiose nas aves em reabilitação.

A hematologia de aves é um método rápido de baixo custo, mas pouco utilizado na rotina do CRAS/MS. Segundo Schmidt et al. (2007), as provas laboratoriais do sangue podem servir como ferramentas importantes para auxiliar no monitoramento da saúde das aves, no diagnóstico de doenças, na avaliação pré-operatória e na eficácia do tratamento. Os estudos dos parâmetros hematológicos e bioquímicos são essenciais para contribuir com o progresso da medicina aviária. A realização de estudos que permitam a interpretação adequada das respostas do organismo e do acompanhamento de casos clínicos pode tornar possível a adoção de medidas visando uma melhora no diagnóstico e na produção industrial.

Existem poucos relatos na literatura que indiquem alterações hematológicas de animais positivos para clamidiose. A partir do conhecimento desta hematologia pode ser possível estimar um perfil sanguíneo de aves positivas para *Chlamydophila* spp., devendo o hemograma ser utilizado como exame de rotina no manejo sanitário do CRAS/MS.

O objetivo deste trabalho foi verificar a prevalência de clamidiose nos psitacíformes em reabilitação no CRAS/MS e apontar as possíveis alterações hematológicas associadas a esta enfermidade nestas aves.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Centro de Reabilitação de Animais Silvestres

A captura de animais da natureza para abastecer o mercado de aves de estimação, somado à destruição ambiental, é um importante fator responsável pelo declínio das populações e pelo processo de extinção em que algumas espécies se encontram (SNYDER et al. 2004).

O tráfico de animais é considerado o terceiro maior comércio ilegal do mundo perdendo apenas para a comercialização de drogas e armas. No Brasil, estima-se que esta atividade ilegal seja responsável pela retirada anual de pelo menos 12 milhões de animais silvestres das matas brasileiras (RENCTAS, 2003).

Devido ao tráfico e a má utilização da fauna brasileira, foram criados os Centros de Reabilitação e Refúgios de Animais Silvestres, que recebem animais apreendidos no tráfico, fornecendo um manejo adequado para cada espécie. O CRAS/MS localiza-se no município de Campo Grande, e desde 1988 presta atendimento à fauna silvestre, realizando a recepção, triagem e destinação dos animais provenientes do comércio ilegal, vítimas de atropelamentos ou entregues pela comunidade.

Entre os animais recepcionados no CRAS/MS, 40% provém do tráfico e, destes, 23% destes animais são papagaios da espécie *Amazona aestiva*. Desde a sua criação já foram recebidos por este centro mais de três mil papagaios apreendidos pelos órgãos de fiscalização. Por ser a espécie mais procurada como ave de estimação, a reintrodução em seu habitat natural, após a sua recuperação, torna-se essencial, pois a captura desenfreada destes animais para o abastecimento do comércio ilegal pode levá-los à extinção (SEIXAS e FIRMINO, 2002).

A maioria dos papagaios que chega ao CRAS/MS são filhotes, devido à facilidade de captura pelos traficantes. A taxa de mortalidade desses animais é altíssima durante as primeiras semanas de tratamento. Isso é explicado pela péssima alimentação fornecida pelos traficantes, associados aos maus tratos e ao jejum que por vezes ocorre devido ao longo transporte antes da chegada ao centro de reabilitação. O papagaio-verdadeiro foi a única espécie monitorada após a soltura pelo CRAS/MS, sendo que, de 1988 a 1998 foram destinadas para repovoamento 47% dos papagaios recebidos. No acompanhamento destas aves na natureza verificou-se que aproximadamente 60% delas sobreviveram pelo menos 13 meses após a soltura (SEIXAS e MOURÃO, 2000).

As araras chegam em menor número e recebem os mesmos cuidados e alimentação que os papagaios, sendo colocadas em recintos adequados para esta espécie. Segundo o Relatório sobre o Tráfico de Animais Silvestres no Pantanal Sul, a arara e o papagaio aparecem como o segundo animal mais criado como mascotes pelos moradores de quatro comunidades de sub-regiões pantaneiras, precedido apenas pelo pássaro-preto (SEIXAS e FIRMINO, 2002).

Uma importante consequência do tráfico diz respeito ao aspecto sanitário, pois na comercialização ilegal de animais silvestres não é realizado nenhum controle sanitário, podendo ser transmitidas doenças graves e desconhecidas para o homem. No tráfico dos psitacídeos, a zoonose que representa maiores riscos é a clamidiose, Moschioni et al., (2001) destaca que nos humanos o diagnóstico precoce de clamidiose é fundamental devido à excelente resposta terapêutica, entretanto o diagnóstico tardio pode levar a um curso grave e fatal da doença.

2.2 Psitacídeos

Psittacidae refere-se aos papagaios e às araras (257 espécies). Os Psitacídeos estão distribuídos por todo o mundo, principalmente em regiões tropicais. Algumas espécies se estendem até regiões temperadas do sul, mas poucas se estendem até regiões temperadas do norte (LAMBERSKI, 2003).

Os psitacídeos podem ser divididos em quatro subfamílias, baseados na distribuição geográfica, sendo que espécies do novo mundo podem ser encontradas na América Central e na América do Sul, enquanto que, espécies do velho mundo podem ser encontradas na Austrália, África e Ásia (LAMBERSKI, 2003). O Brasil, com 70 espécies, é o primeiro país em número de psitaciformes (FORSHAW, 1978).

A espécie *A. aestiva*, popularmente conhecida como papagaio-verdadeiro, apresenta comprimento médio de 37 cm. Na região Centro-Oeste, a subespécie mais encontrada é *A. aestiva aestiva*, a qual pesa em média 400 g e apresenta coloração predominantemente verde com o encontro da asa de coloração vermelha. O bico possui coloração preta, a fronte possui penas azuis e amarelas ao redor dos olhos e pescoço (BATES e BUSENBARK, 1978; FORSHAW, 1978; SICK, 1997). É uma das aves mais apreciadas em cativeiro no Brasil, sendo considerada a melhor “faladora” entre os psitacídeos nacionais (SICK, 1985).

No Brasil, são encontradas as maiores representantes dos psitacídeos, as araras. Dentre as espécies nativas podemos citar as araras-azuis: *Anodorhynchus hyacinthinus*, *Anodorhynchus leari* e *Anodorhynchus glaucus* (extinta no início do século passado); as araras-vermelhas: *Ara macao* e *Ara chloroptera* e a arara-canindé: *Ara ararauna* (FORSHAW, 1978; SICK, 1985).

As araras, embora apresentem uma grande variação de tamanho, coloração e peso, possuem características muito marcantes que facilitam seu reconhecimento imediato, como bico curto, alto, recurvado, de base larga, maxila bem móvel articulada ao crânio, com movimentos de extensão que aumentam a potência do bico, usado para partir sementes duras. A coloração predominante das araras-canindés é amarela e azul (SICK, 1985; COLLAR e JUNIPER, 1992).

Na natureza os psitaciformes alimentam os filhotes regurgitando-lhes comida, que pode ser quase líquida; a mandíbula do ninhego é como uma concha, muito larga na base facilitando a recepção do “mingau”, e durante a incubação dos ovos, o macho regurgita comida para a fêmea (SICK, 1997).

Os psitacídeos são “adorados” pelo seu companheirismo, temperamento, coloração e em particular, pela sua habilidade de imitar a voz humana, e são “odiados” pelos impactos que causam sobre a agricultura. Entre estes dois extremos, eles são apanhados na natureza para suprir a demanda de aves de estimação, simplesmente como uma mercadoria, ou ainda exterminados como pragas nas regiões agrícolas que avançam sobre seus habitats naturais (COLLAR e JUNIPER, 1992).

Estas espécies sempre foram uma presença comum nos lares do Brasil, especialmente nas pequenas cidades do interior, como animais de companhia, a despeito da legislação de fauna vigente que, desde 1967 (lei nº 5.197 de 3 de janeiro de 1967), proíbe a captura de animais para comércio (GOULART, 2006).

Segundo a União Internacional para Conservação da Natureza e Recursos Naturais (IUCN), as espécies *A. aestiva* e *A. ararauna* possuem amplo território e são espécies de baixo risco de extinção na lista de animais ameaçados, entretanto há evidências do declínio populacional, o que denota sua vulnerabilidade devido ao tráfico ilegal. Estas aves foram classificadas no anexo II do CITES (Convenção Internacional para o Tratado contra o Tráfico de Animais Silvestres) não sendo, portanto, espécies consideradas criticamente ameaçadas (IUCN, 2008).

Embora a destruição do habitat possa contribuir para a redução das populações de papagaios neotropicais, a caça aos ninhos tem sido a causa principal de seu declínio. O comércio de papagaios tornou-se uma atividade econômica que ocorre devido a demanda do comércio ilegal de animais de estimação. Relatou-se preço médio de US\$ 711,00 para esta espécie quando comercializada nos Estados Unidos. O papagaio-verdadeiro foi a espécie mais freqüentemente negociada, estimando-se que entre 1982 e 1986, aproximadamente 51.000 espécimes foram enviados para Argentina (BEISSINGER e BUCHER, 1992).

A destruição do habitat devido à agricultura e expansão humana tem sido uma ameaça ao papagaio-verdadeiro, reduzindo as cavidades naturais para a nidificação e disponibilidade de alimento (COLLAR e JUNIPER, 1992). No Pantanal, as modificações no habitat são em grande parte devido ao cultivo de pasto para o gado, enquanto em outras áreas esta destruição ocorre por causa da pressão populacional, da colonização e do desmatamento (GUEDES e HARPER, 1995).

Esta espécie de papagaio é a mais capturada no mundo (BEISSINGER e BUCHER, 1992), apesar disso, somente alguns relatos sobre a biologia e a ecologia do *A. aestiva* estão disponíveis e são restritos a poucos estudos realizados na Argentina e no Pantanal brasileiro.

2.3 Clamidiose

Chlamydiaceae é uma família de microrganismos intracelulares encontrados em humanos e animais (BRANLEY et al. 2008). A sistemática da Chlamydiaceae foi revista em 1999 com base nos dados da variação do gene ribossomal em espécies da ordem Chlamydiales. A família Chlamydiaceae, que anteriormente incluía somente um gênero, *Chlamydia*, foi dividida em dois gêneros: *Chlamydia* e *Chlamydophila* na nova classificação. O gênero *Chlamydophila* inclui as espécies *Chlamydophila psittaci* (anteriormente *Chlamydia psittaci*), *C. pneumoniae* (anteriormente *Chlamydia pneumoniae*), e *C. pecorum* (anteriormente *Chlamydia pecorum*) juntamente com *C. abortus*, *C. caviae*, e *C. felis*, que foi separada da espécie *Chlamydia psittaci* (YATSENTYUK e OBUKHOV, 2007).

As bactérias da família *Chlamydiaceae* são Gram negativas, possuem forma cocóide, com ciclo de vida que se alterna entre formas infectantes (corpúsculos elementares) e vegetativas (corpúsculos reticulados) (CORSARO e GREUB, 2006).

Chlamydophila psittaci pode infectar 465 espécies de aves em 30 ordens, sendo no mínimo 153 espécies da ordem Psittaciformes (VANROMPAY et al. 2007). Esta bactéria pode também infectar ovinos, caprinos e bovinos, causando infecção crônica no sistema reprodutor, insuficiência placentária e aborto nesses animais, mas a infecção humana pela ingestão da carne infectada é rara (MOSCHIONI et al. 2001).

2.3.1 Aspectos Epidemiológicos

No período de 1988 a 2003, 935 casos de psitacose em humanos foram relatados no centro de controle e prevenção de doenças dos EUA (*United State Centers for Disease Control and Prevention*); sendo que a maioria dos casos relatou o contato com aves psitaciformes (VANROMPAY et al. 2007). Yung e Grayson (1988) afirmaram que 85% dos casos em humanos estão associados ao contato com pássaros.

Sabe-se que pombos, assim como outras aves, podem ser hospedeiros de *C. psittaci*. Nos pássaros, a bactéria pode ser isolada das fezes, cloaca, secreções respiratórias e conjuntivais. Heddem et al. (2006) demonstraram que 5 a 10% das amostras de fezes de pombos de Amsterdan, na Holanda, apresentavam *C. psittaci*. A clamidiose está constantemente presente nos pássaros da Eslovênia (DOVC et al. 2007).

No passado, vários surtos de clamidiose em perus nos Estados Unidos foram alarmantes, envolvendo uma ou mais granjas. Provavelmente a situação é comparável com a da Europa, onde, atualmente, *C. psittaci* é praticamente endêmica nas criações de perus da

Bélgica, Alemanha e provavelmente França. Surtos com altas taxas de mortalidade ocorrem ocasionalmente, enquanto os surtos mais comuns são em sua maioria caracterizados por sintomas respiratórios sem mortalidade (VAN LOOCK et al. 2005).

Chlamydophila psittaci causa importantes perdas como patógeno primário e também como infecção concomitante com outros patógenos respiratórios como o pneumovírus aviário e o *Ornithobacterium rhinotracheale*. Além das perdas econômicas, as infecções humanas são rotineiramente causadas pelo manejo ou processamento de patos ou perus infectados (VAN LOOCK et al. 2005).

A incidência nas aves de estimação é alta e encontra-se descrita em 15 a 30% das aves testadas (OGLESBEE, 1998). Aves jovens dos gêneros *Amazona* e *Ara* são altamente susceptíveis à clamidiose aguda. Existem poucos estudos sobre clamidiose no Brasil, entretanto, alta soroprevalência de *C. psittaci* entre papagaios de cativeiro foi demonstrada em três criatórios de aves, com 60%, 87,5%, e 100% dos pássaros soropositivos. É possível que muitos casos não sejam diagnosticados ou relatados (RASO et al. 2002).

Raso et al. (2004) descreveram um surto de psitacose em filhotes de papagaios-verdadeiros em um centro de reabilitação de animais selvagens no Estado de São Paulo, Brasil, onde a taxa de mortalidade foi de 96,5%.

Gilardi et al. (1995) diagnosticaram psitacose em várias espécies de papagaios-australianos selvagens. Há muitos relatos de animais de vida livre, positivos sorologicamente para a clamidiose, mas existem poucos registros sobre a mortalidade destes pássaros (FRANSON e PEARSON, 1995). Esses animais são importantes reservatórios do microrganismo na natureza. Raso et al. (2006) relataram araras-azuis (*Anodorhynchus hyacinthinus*) e papagaios-verdadeiros (*A. aestiva*) de vida livre, positivos na pesquisa de clamidiose através da detecção de *C. psittaci* em swabs cloacais pelo método de fixação de complemento e pela PCR encontrando 6,3% e 26,7% de animais positivos, respectivamente.

Segundo Dovic et al. (2007), pássaros jovens são mais susceptíveis à infecção do que os mais velhos, e algumas espécies parecem ser mais susceptíveis do que outras. Muitos dos pássaros jovens com a doença podem apresentar-se caquéticos e alguns com sinusite. O período entre a exposição à *C. psittaci* e o aparecimento de animais doentes, pode variar de três dias a semanas, entretanto, a doença ativa pode surgir sem exposição identificável. Fatores como a espécie de ave, a virulência e sorovare do patógeno, estresse, idade, extensão do tratamento ou profilaxia, podem indicar se um pássaro terá a doença aguda, crônica ou se virá a óbito (DOVC et al. 2007).

Existem até o momento, oito sorovares de *C. psittaci* e os genótipos correspondentes foram identificados (GEENS et al. 2005), acarretando em importantes dados para a epidemiologia da doença nos humanos e animais. Nas zoonoses foram descritos os sorovares A, C, D e E, sendo que, o sorovare A é endêmico entre os psitacídeos, enquanto que, o sorovare E está associado com pneumonites em humanos (ANDERSEN et al., 1998; EVERETT et al., 1999; GEENS et al., 2005).

A transmissão de *C. psittaci* entre humanos é rara, mas o contato com pássaros pode resultar em uma alta taxa de infectividade. O contágio ocorre através da inalação de secreções e fezes de aves ou através do contato com um pássaro infectado. A probabilidade de infecção é presumidamente relatada devido à exposição a uma grande quantidade de organismos, mas o sorotipo da clamidiose também pode ser um fator importante (BRANLEY et al. 2008).

Não é conhecido se os psitaciformes são mais suscetíveis à clamidiose do que outras espécies de pássaros. Sabe-se que a doença é diagnosticada mais freqüentemente nos psitaciformes, devido aos graves sinais clínicos. No entanto, quando comparados dados de clamidiose nesta aves e nos pombos, a prevalência parece ser semelhante, entre 16 a 81% e 23 a 85 %, respectivamente (HARKINEZHAD et al., 2007),

Os pombos, em sua maioria, são infectados pelo sorovare B e menos freqüentemente pelo sorovare E e a clamidiose apresenta-se menos severa nestes pássaros, ocorrendo mortalidade devido às infecções secundárias, como salmonelose e tricomoniase. De fato, o quadro clínico geral em uma dada espécie é o resultado da virulência do microrganismo e da imunogenética do hospedeiro (HARKINEZHAD et al. 2007).

Existe pouco conhecimento sobre a imunogenética dos psitaciformes, mas *C. psittaci* sorovare A é freqüentemente isolado nestas aves, e este sorovare é altamente virulento, excretado intensivamente e responsável por alta mortalidade. Estas questões podem ser provavelmente resolvidas quando a imunogenética do hospedeiro for mais conhecida, bem como as interações bactéria-hospedeiro e fatores de virulência bacteriana (HARKINEZHAD et al. 2007).

2.3.2 Patogênese

Os corpos elementares extracelulares infecciosos são eliminados nas secreções orais e/ou nasais e nas fezes, podendo sobreviver no ambiente um mês ou mais (OGLESBEE, 1998). Raso et al. (2006) demonstraram que filhotes de araras-azuis e papagaios-verdadeiros

de vida livre eliminam *C. psittaci* pelas vias traqueais e cloacais, no entanto o microrganismo foi mais encontrado nas amostras cloacais.

As fezes, secreções e poeira das penas, são freqüentes fontes de transmissão, podendo se dispersar através do ar quando estão secas. Outros pássaros podem se infectar pela inalação ou ingestão dessas fontes de infecção (SAREYYUPOGLU et al. 2007). Os corpos elementares são inalados ou ingeridos e entram nas células hospedeiras, onde sofrem um rearranjo celular para formar corpos reticulados (a forma replicante do microrganismo). Após a replicação, os corpos iniciais se reorganizam para formar corpos elementares infecciosos, que são liberados com a ruptura da célula hospedeira. Os corpos estranhos podem então se disseminar para as células hepáticas, esplênicas, pulmonares, intestinais, renais, gonadais e do sistema nervoso central (OGLESBEE, 1998).

A psitacose pode persistir como uma infecção subclínica por longo período. Há evidências que períodos de verdadeira latência (isto é, sem multiplicação) também possam ocorrer. Muitos pássaros, especialmente os psittaculas, *lovebirds*, periquitos-australianos e calopsitas, permanecem infectados sem sintomatologia. Essas aves reservatórios, aparentemente sadias, podem eliminar grande quantidade de patógeno durante períodos de estresse (SAREYYUPOGLU et al. 2007) como fome, superlotação, transporte e maus tratos (MOSCHIONI et al. 2001).

Deste modo, pássaros recém-adquiridos são importantes hospedeiros da infecção, pois a enfermidade nessas aves pode ser induzida por estas situações. Se não tratadas, 10% das aves infectadas tornam-se portadoras assintomáticas (MOSCHIONI et al. 2001). Muitos fatores como a espécie, idade, estresse e resistência das aves ao hospedeiro, podem contribuir para converter a forma latente da clamidiose para a septicêmica (SUWA et al. 1990).

O controle da clamidiose é um desafio para os hospedeiros devido à infecção extracelular distinta e as fases de desenvolvimento intracelular vegetativa (SPRAGUE et al. 2008). Infecções em psitacídeos e aves domesticadas, que podem causar consideráveis danos econômicos, representam um importante reservatório na transmissão para humanos. O patógeno é transmitido tanto por animais com sintomatologia clínica, como por animais assintomáticos (GAEDE et al. 2008). A transmissão entre humanos é extremamente rara e tende a ser mais grave (MOSCHIONI et al. 2001).

A transmissão de *C. Psittaci* para os ovos tem sido demonstrada em frangos, patos, gaiivotas e também em psitacídeos. A presença de *C. psittaci* na mucosa do oviduto e saco vitelínico de embriões de periquitos-australianos já foi confirmada, e a morte embrionária foi demonstrada em 67,9% dos ovos (DOVC et al. 2007).

2.3.3 Aspectos Clínicos

Os sinais clínicos variam muito e dependem do sorovare de *C. psittaci*, da espécie e idade da ave. A clamidiose aviária pode produzir letargia, hipertermia, excreções anormais, descarga nasal e ocular e diminuição da reprodução. Segundo Van Loock et al (2005) as taxas de mortalidade podem chegar a 30%. Harkinezhad et al. (2007) relataram os seguintes sinais clínicos de clamidiose em papagaios-cinzentos-africanos: depressão, penas eriçadas, baixo peso e leve dispnéia. Osglebee (1998) descreve como sinais específicos: eriçamento das penas, perda de peso e depressão.

Em um surto no Estado de São Paulo (Brasil), as aves apresentaram sintomas semelhantes aos encontrados por Harkinezhad et al. (2007) seguido após alguns dias de conjuntivite e blefarite bilateral mucopurulenta ou secreção nasal. A taxa de letalidade foi de 96,5% na espécie *A. aestiva* (RASO et al. 2004).

Muitos dos pássaros carregam a infecção crônica e não apresentam sinais clínicos até passarem por algum tipo de estresse. Estas aves frequentemente eliminam *C. psittaci* intermitentemente, servindo como fonte de infecção aos humanos e outros pássaros (HARKINEZHAD et al. 2007). Na forma crônica os sinais específicos (como emaciação muscular e alterações em empenamento) podem ser os únicos observados. Ocasionalmente podem-se observar sinais respiratórios, gastrointestinais ou do sistema nervoso, como por exemplo: torcicolo, ataques convulsivos e paralisia do membro posterior (OGLESBEE, 1998).

Segundo Suwa et al. (1990), na infecção aparente os pássaros apresentam inatividade, inapetência e emaciação, além dos sinais clínicos já citados. Em alguns casos, pode aparecer serosite abdominal, hepatomegalia, esplenomegalia e pneumonia, mas estes não são sinais clínicos específicos para a confirmação do diagnóstico (SUWA et al. 1990).

Num surto de psitacose em periquitos-australianos, Dovic et al. (2007) relataram as mesmas alterações, seguidas de enterite catarral a hemorrágica e sinusite serohemorrágica, observando mais alterações nas aves jovens do que nas adultas. Esplenomegalia é frequentemente relatada como um achado comum na doença; entretanto, aerosaculite fibrinosa é mais indicativa da enfermidade em psitaciformes e pombas (GERLACH, 1994).

Histologicamente são observadas lesões de pneumonia, aerosaculite, traqueíte, hepatite, miocardite, esplenite, nefrite, orquite, enterite, ceratoconjuntivite e encefalite. Estas lesões são associadas com os corpúsculos elementares (CE) (SUWA et al. 1990). Entretanto, achados histopatológicos são geralmente inespecíficos, exceto pela presença de corpúsculos

LCL (Levinthal-Colles-Lillie), que são patognomônicos. Estes corpúsculos são múltiplas micro-colônias de *Chlamydophila* spp, sendo esféricos e medindo de 0,2 a 0,4 µm de diâmetro. Os LCLs podem ocorrer em vários órgãos, mas são especialmente comuns em membranas serosas. Infecções secundárias bacterianas, fúngicas ou virais podem alterar as lesões e confundir o diagnóstico (GERLACH, 1994).

A psitacose nos seres humanos é considerada uma doença rara, mas extremamente grave caracterizada por sintomas semelhantes aos causados por influenzas nos estágios iniciais, tais como dor de cabeça, febre e anorexia. Tosse seca e os outros sintomas de pneumonia atípica tornam-se aparentes após a primeira semana de aparecimento da doença. Com a progressão da infecção, podem ocorrer alterações cardiovasculares. Na ausência de antibioticoterapia, a infecção pode se tornar fatal. Pessoas que manipulam pássaros devido à atividade profissional ou por lazer, fazem parte do grupo de risco devido principalmente à inalação de aerossóis contendo o patógeno (GAEDE et al. 2008).

2.3.4 Diagnóstico

O diagnóstico de clamidiose ainda representa um desafio, sendo baseado no isolamento do microrganismo, na pesquisa de antígenos, na sorologia ou na detecção de ácidos nucléicos clamidiais (KALTENBOECK et al. 1991; SPRAGUE et al. 2008).

Esfregaços de secreções nasais ou oculares podem ser corados pela coloração de Stam, Giemsa, Gimenez, Macchiavello's ou Castañeda, ideais para evidenciar a presença de corpúsculos LCL, patognomônicos para a doença. O exame histopatológico revela, principalmente no baço e no fígado, a presença destes corpúsculos. Quando há lesão no sistema nervoso central, o exame histopatológico revela meningite. O exame radiográfico mostrando esplenomegalia ou hepatomegalia pode ser sugestivo de psitacose em pássaros (GERLACH, 1994).

Os testes imunoenzimáticos (ELISA) são úteis como exame de triagem ou após a doença declarada. Evidências conclusivas da presença de clamidiose são requeridas para diagnósticos inequívocos devido à preponderância da infecção persistente e clinicamente inaparente. O isolamento em cultura celular é difícil e depende da presença de quantidade suficiente de corpúsculos elementares viáveis. Portanto, métodos sensíveis para a detecção de clamidiose que não sejam fundamentados na infectividade são necessários para identificar *C. psittaci*, especialmente em infecções persistentes (KALTENBOECK et al. 1991).

Em humanos, o método de fixação de complemento é o mais aplicado, pois os anticorpos podem ser detectados de 7 a 10 dias após a infecção inicial. Entretanto, este teste não consegue distinguir anticorpos específicos contra *C. psittaci* de outras clamídias patogênicas como *C. pneumoniae* e *Chlamydia trachomatis*. Por isso, o exame de fixação de complemento está sendo freqüentemente substituído pelo teste de imunofluorescência (GEENS et al. 2005).

Em contraste à cultura celular e aos outros métodos sorológicos, a imunofluorescência e a PCR provêm como diagnósticos alternativos mais rápidos, específicos e sensíveis para identificação da infecção por *C. psittaci* (VAN LOOCK et al. 2005).

O teste de imunofluorescência distingue todas as espécies de clamídias e mede os títulos de IgG e IgM, permitindo a detecção de infecções recentes. Contudo, a antibioticoterapia pode interferir na produção de anticorpos e em alguns pacientes a resposta humoral pode ser mais lenta. Foram desenvolvidos vários métodos comerciais de detecção de antígenos para ambos, aves e humanos, mas eles são menos sensíveis ou menos específicos. Devido a estas falhas, métodos de amplificação de ácidos nucleicos têm sido desenvolvidos (GEENS et al. 2005).

A PCR tem sido documentada como um método altamente sensível para a detecção de *C. psittaci*. A técnica oferece vantagens sobre outros testes; é mais rápida e não requer organismos presentes em grande número ou organismos viáveis (SAREYYUPOGLU et al. 2007). Para um diagnóstico preciso, Harkinezhad et al. (2007) também recomendam o teste de amplificação dos ácidos nucleicos em animais e humanos, que detecta especificamente *C. psittaci* com alta sensibilidade e permite a caracterização molecular.

2.4 Hematologia em Aves

Os sinais clínicos apresentados pelas aves são freqüentemente inespecíficos e as informações obtidas pelo exame físico são limitadas (LUMEIJ, 1997). Os exames laboratoriais, por sua vez, auxiliam no diagnóstico, acompanhamento e prognóstico das patologias existentes (SCHMIDT et al. 2007).

O hemograma é um exame rápido e de baixo custo, entretanto nas aves sua realização fica limitada à escassa literatura existente e à variação da morfologia celular (SCHMIDT et al. 2007). Segundo VALLE et al. (2008), esta escassez de dados clínicos, epidemiológicos e exames complementares limita o diagnóstico de doenças metabólicas e/ou nutricionais em espécies em cativeiro.

O volume total do sangue das aves corresponde a 10% do peso corpóreo. A quantidade máxima de sangue que se pode coletar das aves, corresponde a 10% do seu volume sanguíneo total. Portanto em um papagaio com peso de 400 gramas, podem ser coletados, no máximo, quatro mililitros de sangue (PHILIPS, 1999). Os principais locais de coleta de sangue são: veia jugular, veia ulnar, veia metatársica medial, seio venoso occipital e punção cardíaca (SCHMIDT et al. 2007).

As aves possuem algumas particularidades que alteram o exame de sangue, em relação aos padrões dos mamíferos. As células sanguíneas das aves são: 1) glóbulos vermelhos: eritrócitos; 2) glóbulos brancos: heterófilos, basófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos; 3) trombócitos (BENEZ, 2004).

Os eritrócitos são células nucleadas e biconvexas, com formato variando de oval a oblongo (BENEZ, 2004). O tamanho dos eritrócitos varia muito conforme a espécie estudada. Em um grupo de psitacídeos adultos e saudáveis, os valores do volume corpuscular médio (VCM) variavam de 116 a 219 fL (MITCHELL e JOHNS, 2008).

Os heterófilos representam nas aves as células equivalentes aos neutrófilos dos mamíferos. Em muitas espécies, como nos papagaios, os heterófilos são o tipo predominante de leucócito (GARCIA-NAVARRO e PACHALY, 1994). Essas células realizam fagocitose, e aparecem no início do processo inflamatório (BENEZ, 2004). Apesar disso, Mitchell e Johns (2008) afirmam que algumas espécies de aves são normalmente linfocíticas, com os linfócitos representando mais de 70% dos leucócitos. Exemplos de espécies linfocíticas incluem os papagaios do novo mundo e os canários (MITCHELL e JOHNS, 2008).

Os eosinófilos são diferenciados dos heterófilos, principalmente em função da forma de seus grânulos, que são esféricos (GARCIA-NAVARRO e PACHALY, 1994). Benez (2004) relata que há eosinofilia em infestações por parasitas e processos alérgicos. Contrariamente, Philips (1999) afirma que ainda não se conhece com clareza a função dos eosinófilos nos psitacídeos; não ocorrendo aumento destas células devido à presença de parasitas, como é encontrado nos mamíferos. Esse tipo celular é raramente visto no sangue periférico de psitacídeos, entretanto podem ser comuns em outros pássaros (PHILIPS, 1999).

Os basófilos são semelhantes aos dos mamíferos, e nos papagaios apresentam grânulos grandes que recobrem parte do núcleo (BENEZ, 2004). Não são células comumente visualizadas em esfregaços sanguíneos de psitacídeos (PHILIPS, 1999).

Os linfócitos, em algumas espécies de psitacídeos (*Amazona eucleus*, por exemplo) são os leucócitos mais abundantes na circulação periférica. Essas células podem estar presentes em três diferentes grupos de acordo com o tamanho: pequenos, médios e grandes linfócitos. Os monócitos são células mononucleares, sendo menos visualizadas do que os linfócitos em sangue de psitacídeos (PHILIPS, 1999). Normalmente são maiores do que os linfócitos e apresentam citoplasma mais volumoso, que se cora em azul-claro (GARCIA-NAVARRO e PACHALY, 1994).

Os trombócitos são células nucleadas, homólogas às plaquetas dos mamíferos, que participam do mecanismo de coagulação sanguínea e apresentam atividade fagocitária. Sua forma típica é oval, com um núcleo redondo central, circundado por citoplasma claro (GARCIA-NAVARRO e PACHALY, 1994).

O volume globular (VG) pode ser facilmente obtido através da centrifugação de tubos capilares preenchidos de sangue. As contagens de hemácias e leucócitos são realizadas utilizando a solução de Natt e Herrick (NATT e HERRICK, 1952).

A concentração de proteínas plasmáticas totais (PPT) reflete um equilíbrio entre as concentrações extra e intravascular de proteínas. As funções fisiológicas da PPT incluem: fonte de aminoácidos aos tecidos, manutenção da pressão oncótica, regulação do equilíbrio ácido-básico, transporte de moléculas, hemostasia, resposta inflamatória, e resistência às infecções (THOMAS, 2000). As avaliações dos teores de PPT e de suas frações propiciam subsídios para adequada interpretação do estado de hidratação, bem como de inflamação, infecção, doença imunomediada e alteração na síntese protéica (SANTANA et al. 2008).

A desidratação pode causar hiperproteinemia relativa, enquanto hemorragia externa pode causar hipoproteinemia absoluta. Os distúrbios inflamatórios têm significativo efeito sobre os níveis de PPT. As proteínas plasmáticas são um importante constituinte complementar no diagnóstico de doenças hepáticas, gastrintestinais, renais, e/ou doenças infecciosas. A determinação das proteínas plasmáticas raramente conduz a um diagnóstico específico, mas auxilia o clínico na avaliação da natureza, severidade e progressão da doença (LUMEIJ, 1997).

Em relação ao método de dosagem das proteínas plasmáticas, há discordância na literatura. Para alguns autores o método do biureto é o ideal (CAMPBELL, 2004), no entanto, estudos realizados em frangos, perus e patos revelaram uma boa correlação entre o método do refratômetro e do biureto (ANDERSON, 1989).

Os eritrócitos das aves possuem meia-vida curta em comparação aos de muitos mamíferos, aproximadamente entre 25 a 45 dias em várias espécies. Devido à troca dos eritrócitos ser mais rápida, os pássaros tendem a apresentar mais policromatofilia em animais saudáveis do que os mamíferos (MITCHELL e JOHNS, 2008).

Parasitas sanguíneos são encontrados esporadicamente em pássaros. Usualmente seu significado clínico é mais acadêmico do que danoso. Sob algumas circunstâncias, entretanto, as aves desenvolvem uma moderada à severa anemia e podem exarcebar uma condição patológica de etiologia diferente. Alguns gêneros como *Plasmodium* e *Haemoproteus* são relativamente fáceis de serem identificados, outros como *Babesia*, *Aegyptianella*, e *Rickettsia-like* são facilmente confundidos com inclusões de origem diferente (PENDL, 2006).

O *Trypanosoma avium* também tem sido descrito desde 1885 quando Danielwsky registrou a primeira ocorrência deste parasito em aves na Europa (PIERCE, 1989). Apesar de outros membros do gênero serem conhecidos como causadores de patologias no homem e animais, ainda existem poucas evidências sobre a patogenicidade destes parasitos em aves (BAKER, 1976).

Os principais insetos relacionados com o ciclo das hemoparasitoses são os dípteros ornitofílicos. Destes destacam-se: a família Simuliidae; os Ceratopogonidae, em especial o gênero *Culicoides*, relacionados com os parasitos Haemoproteidae; a família Hippoboscidae, com destaque para a mosca *Pseudolynchia canariensis*, também relacionados aos parasitos Haemoproteidae; a família Culicidae, no qual os gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Aedes* se destacam na transmissão dos parasitos Plasmodiidae (GARNHAM, 1966; RESENDE et al. 2001).

No Brasil, estes levantamentos de parasitos sanguíneos são escassos. Existem alguns estudos sobre a avifauna selvagem da mata atlântica, em populações de aves urbanas como a pomba-doméstica (*Columba livia domestica*) e alguns relatos isolados de caso (RESENDE et al., 2001). Não existe no Brasil estudo amplo estimando a prevalência das hemoparasitemias por biótopos e biomas e, portanto, ainda não é possível tecer um perfil do estado hemoparasitário das aves brasileiras (GOULART, 2006).

2.4.1 Hematologia e clamidiose

Embora a utilização de exames laboratoriais para complementar o diagnóstico apresente uma limitada aplicabilidade para aves individuais (OGLESBEE, 1998), o conhecimento das alterações hematológicas e bioquímicas de aves em cativeiro pode servir

como modelo para o estudo das respostas dos animais na natureza frente a um determinado desafio, bem como facilitar o diagnóstico de enfermidades. Na maioria das vezes, as doenças de animais cativos são comparáveis àquelas observadas em vida livre e, portanto, determinados programas de conservação ambiental podem ser beneficiados com esses dados (MUNSON & COOK, 1993; POLO et al., 1998).

A análise hematológica de pássaros com psitacose, segundo Benez (2004), pode apresentar alterações como basofilia. Apesar disso, Lamberski (2003), descreve que estes animais podem apresentar leucocitose caracterizada por heterofilia e linfocitose, já Oglesbee (1998) relata que a leucocitose pode ser maior do que $4,0 \times 10^9/L$, ocorrendo também heterofilia com desvio à esquerda, heterófilos tóxicos e frequentemente monocitose relativa. Nos casos subclínicos, a contagem leucocítica pode permanecer normal (OGLESBEE, 1998).

Mitchell e Johns (2008) também relatam que a infecção por *C. psittaci* pode levar à heterofilia, sendo que outros agentes infecciosos que podem acarretar na mesma alteração são *Mycobacterium* spp. e *Aspergillus* spp. Geralmente, a heterofilia associada a estas infecções é acompanhada pela monocitose (MITCHELL e JOHNS, 2008).

Heterofilia com granulações tóxicas pode ser indicativa de doença severa sistêmica, como septicemias, clamidiose, infecção fúngica ou viremia. O desenvolvimento de toxicidade em heterófilos pode indicar descontrole de um processo infeccioso e frequentemente leva a um mau prognóstico. Pássaros com clamidiose frequentemente desenvolvem monocitose devido à produção de agentes quimiotáticos que atraem os monócitos, mas esta alteração também é frequentemente vista em outras doenças inflamatórias ou infecciosas, especialmente nas doenças granulomatosas, como aspergilose ou micobacteriose (MITCHELL e JOHNS, 2008).

As modificações hematológicas típicas relacionadas com a febre do papagaio sintomática estão descritas por Gerlach (1994) na Tabela 1. Um hematócrito baixo é comum tanto na doença aguda quanto na crônica. A proteína sérica geralmente eleva-se como resultado de estímulo inflamatório crônico (GERLACH, 1994).

Tabela 1. Achados clínico-patológicos associados com Clamidiose.

Parâmetros	Alterações
Leucograma total	Elevado (2 – 3 vezes o valor normal)
Volume Globular	Diminuído (20 – 30%)
Heterófilos	Normal
Linfócitos	Diminuído à normal
Monócitos	Normal
Eosinófilos	Normal
Basófilos	Normal
Proteína total	Leve aumento

Fonte: Gerlach (1994) modificado.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, A. A.; GRIMES, J. E.; SHIVAPRASAD, H. L. **Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates from ratites.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 10, n. 2, p. 186-188, 1998.
- ANDERSON, C. B. **Determination of chicken and turkey plasma and serum protein concentrations using refractometry and the biuret method.** Avian Diseases, v. 33, p. 93-96, 1989.
- BAKER, J. R. Biology of the trypanosomes of birds. In: Biology of the Kinetoplastida. LUMSDEN, W. H. R.; EVANS, D. A. Academic Press, New York, p. 131-174, 1976.
- BATES, H. J.; BUSENBARK, R. I. **Parrots and related birds.** Third Edition – edited and expanded by Dr. Matthew M. Vriends. Neptune, New Jersey, p. 543, 1978.
- BEISSINGER, S. R.; BUCHER, E. H. Sustainable harvesting of parrots for conservation. In: BEISSINGER, S. R.; SNYDER, N. F. R. (Ed.). **New World parrots in Crisis: Solutions from conservation biology.** Smithsonian Institution Press, Washington, D. C., p. 73-115, 1992.
- BENEZ, S. M. **Hematologia e bioquímica sanguínea das aves.** In: Aves: criação, clínica, teoria, prática: silvestres, ornamentais, avinhados. 4. ed. Ribeirão Preto: Tecmedd, p. 323-332, 2004.
- BRANLEY, J. M.; ROY, B.; DWYER, D. E.; SORRELL, T. C. **Real-time PCR detection and quantitation of *Chlamydophila psittaci* in human and avian specimens from a veterinary clinic cluster.** European Journal of Clinical Microbiology e Infection Diseases, v. 27, p. 269–273, 2008.
- COLLAR, N. J.; JUNIPER, A. T. **Dimensions and Causes of the Parrot Conservation Crisis.** In: BEISSINGER, S. R.; SNYDER, N. F. R. (Ed.). New world parrots in crisis:

solutions from conservation biology. Smithsonian Institution Press, Washington, p. 1-24, 1992.

CORSARO, D; GREUB, G. **Pathogenic potential of novel Chlamydiae and diagnostic approaches to infections due to these obligate intracellular bacteria.** Clinical Microbiology Reviews, v. 19, n. 2, p. 283–297, 2006.

DOVC, A.; SLAVEC, B.; LINDTNER-KNIFIC, R.; ZORMAN-ROJS, O.; RACNIK, J.; GOLJA, J.; VLAHOVICAND, K. **Study of *Chlamydophila psittaci* outbreak in budgerigars.** Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, v. 51, p. 343-346, 2007.

EVERETT, K. D.; BUSH, R. M.; ANDERSEN, A. A. **Emende description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov. each containing one monotypic genus and five new species, and standards for the identification of organisms.** International Journal of Systematic Bacteriology, v. 49, p. 415-440, 1999.

FRANSON, J. C.; PEARSON, J.E. **Probable epizootic chlamydiosis in wild california (*Larus californicus*) and ring-billed (*Larus delawarensis*) gulls in north Dakota.** Journal of Wildlife Diseases, v. 31, n. 3, p. 424-427, 1995.

FORSHAW, J. M. **Parrots of the World.** Published by T.F.H. publications, INC. Neptune, New Jersey, p. 584, 1978.

GAEDE, W.; RECKLING, K. F.; DRESENKAMP, B.; KENKLIES, S.; SCHUBERT; NOACK, E.; IRMSCHER, H. M.; LUDWIG, C.; HOTZEL, H.; SACHSE, K. ***Chlamydophila psittaci* infections in humans during an outbreak of psittacosis from poultry in Germany.** Journal of Zoonoses Public Health, p. 184–188, 2008.

GARCIA-NAVARRO, C. E. K; PACHALY, J. R. **Manual de hematologia veterinária.** 1.ed. São Paulo: Livraria Varela Ltda, p. 169, 1994.

- GARNHAM, P. C. C. **Malaria parasites and other haemosporidia**. Oxford: Blackwell Science Publisher, p. 1114, 1966.
- GEENS, T.; DEWITTE, A.; BOON, N.; VANROMPAY, D. **Development of a *Chlamydophila psittaci* species specific and genotype-specific real-time PCR**. Journal of Veterinary Research, v. 36, p. 787–797, 2005.
- GERLACH, H.; Chlamydia. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L. R. (Ed.). **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth, FL: Wingers Publishing, p. 984–96, 1994.
- GILARDI, K. V. K.; LOWENSTINE, L. J.; GILARDI, J. D.; MUNN, C. A. **A survey for selected viral, chlamydial, and parasitic diseases in wild dusky-headed parakeets (*Aratinga weddelli*) and tui parakeets (*Brotogeris sanctithomae*) in Peru**. Journal of Wildlife Diseases, v. 31, n. 4, p. 523-528, 1995.
- GOULART, C. E. S. **Valores de referência para papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva* - Psittacidae) mantidos em cativeiro**. Belo Horizonte, 80p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.
- GUEDES, N. M. R., HARPER, L. H. Hyacinth Macaws. In: ABRAMSON, J.; SPEER, B. L.; THONSEN, J. B. (Ed.). **The large macaws: their care, breeding and conservation**. Raintree, California, p. 394–421, 1995
- HARKINEZHAD, T.; VERMINNEN, K.; VAN DROOGENBROECK, C.; VANROMPAY, D. ***Chlamydophila psittaci* genotype E/B transmission from african grey parrots to humans**. Journal Medical Microbiology, v. 56, p. 1097–1100, 2007.
- HEDDEMA, E. R.; SLUIS, S. T.; BUYS, J. A.; VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M. J. E.; VAN WIJNEN, J. H., VISSER, C. E. **Prevalence of *Chlamydophila psittaci* in fecal droppings from feral pigeons in Amsterdam, The Netherlands**. Applied and Environmental Microbiology, v. 72, n. 6, p. 4423–4425, 2006.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Diretrizes e Procedimentos para a Destinação de Fauna Apreendida/Recolhida, quando a opção for Retorno à Natureza.** Disponível em:

<http://www.ibama.gov.br/consulta/fauna/anexos/anexoI_destinacao.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2007.

IUCN 2008. **2008 IUCN Red List of Threatened Species.** Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 03 fev. 2009.

KALTENBOECK, B.; KOUSOULAS, K. G.; STORZ, J. **Detection and strain differentiation of *Chlamydia psittaci* mediated by a two-step polymerase chain reaction.** Journal of Clinical Microbiology, v. 29, n. 9, p. 1969-1975, 1991.

LAMBERSKI, N. Psittaciformes (Parrots, Macaws, Lories). In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and Wild Animal Medicine.** 5. ed. Missouri: Saunders, cap. 22, p. 187-210, 2003.

LUMEIJ, J. T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals,** 5. ed., San Diego: Academic Press, p. 857-883, 1997.

MITCHELL, E. B.; JOHNS, J. **Avian hematology and related disorders.** Veterinary Clinics Exotic Animal Practice, v. 11, p. 501-522, 2008.

MOSCHIONI, C.; FARIA, H. P.; REIS, M. A. S.; SILVA, E. U. **Pneumonia grave por “*Chlamydia psittaci*”.** Jornal de Pneumologia, v. 27, n. 4, jul-ago, 2001.

MUNSON, L; COOK, R. A. Monitoring investigation and surveillance of diseases in captive wildlife. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, v. 24, p. 281-289, 1993.

NATT, M.P; HERRICK, G.A. **A new blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the chicken.** Poultry Science, v. 31, p. 735-738, 1952.

OGLESBEE, B. L. Distúrbios dos animais de estimação aviários e exóticos. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Manual Saunders: clínica de pequenos animais. São Paulo: Roca, p. 1397-1407, 1998.

PENDL, H. **Morphological changes in red blood cells of birds and reptiles and their interpretation.** Journal of Israel Veterinary Medicine, v. 61, n. 61, 2006.

PHILIPS, K.M. **Psittacine blood collection and hematology: basics for the veterinary practitioner.** In: Proceedings of International Virtual Conferences in Veterinary Medicine: Diseases of Exotic Animals and Wildlife, 1999, Georgia. Anais...Georgia: The University of Georgia, 1999. Disponível em: <<http://www.vet.uga.edu/vpp/ivcvm/1999/phillips/index.php>>. Acesso em: 16 jul. 2008.

PIERCE, M. A. The significance of avian haematozoa in conservation strategies. In: Disease and threatened birds. COOPER, J. E., ICBP Technical Publication, p. 69-76, 1989.

POLO, F. J. Hematologic and plasma chemistry values in captive psittacine birds. Avian Disease, v. 42, p. 523-535, 1998.

RASO, T. F.; BERCHIERI, A. JR.; A. A. PINTO. **Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive amazon parrots in Brazil.** Journal Zoo and Wildlife Medicine, v. 33, p. 118-121, 2002.

RASO, T. F.; GODOY, S. N., MILANELO, L.; SOUZA, C. A. I.; MATUSCHIMA, E. R.; ARAUJO Jr, J. P. A; PINTO A. A. **An outbreak of chlamydiosis in captive blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) in Brazil.** Journal Zoo and Wildlife Medicine, v. 35, n. 1, p. 94-96, 2004.

RASO, T. F.; SEIXAS, G. H. F.; GUEDES, N. M. R.; PINTO, A. A. ***Chlamydophila psittaci* in free-living blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) and hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil.** Journal of Veterinary Microbiology, v. 117, p. 235-241, 2006.

- RENTAS. **Animais Silvestres: vida à venda**. Brasília: Dupligráfica. 260 p, 2003.
- RESENDE, J.S., MARTINS, N.R.S.; JORGE, M.A. **An outbreak of malaria by *Haemoproteus columbae* in pigeons**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v. 53, n. 3, p. 361, 2001.
- SANTANA, A. M.; CAMPIONI, J. M.; SCHMIDT, E. M. S.; PAULILLO, A. C.; Silva, P.C.; FAGLIARI, J. J. **Proteinograma sérico de gansos da China (*Anser cygnoides*, Linnaeus, 1758, Anseriformes, Anatidae) sadios de sete dias de idade criados em cativeiro, obtidos pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)**. In: 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2008, Gramado. Anais 35 CONBRAVET. Gramado: Sovergs Conbravet, 2008. v. 1. p. 1240-1245.
- SAREYYUPOGLU, B.; CANTEKIN, Z.; BAS, B. ***Chlamydophila psittaci* DNA detection in the faeces of cage birds**. Journal of Zoonoses Public Health, v. 54, p. 237–242, 2007.
- SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SAITO, M. E., PASSERINO, A. S. M.; LANGE, R.R. **Hematological parameters and total plasma protein of parrots (*Amazona spp*) - Preliminary results**. Archives of Veterinary Science, v. 4, 1999.
- SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELI -DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILO , A. C. **Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – Revisão**. Archives of Veterinary Science , v. 12, n. 3. p. 9-20, 2007.
- SEIXAS, G. H. F.; FIRMINO, A. M. S. **Caracterização do tráfico de animais silvestres no Pantanal de MS – Medidas para o gerenciamento do comércio de animais vivos no Pantanal** . Campo Grande, MS, IMAP, 2002.
- SEIXAS, G. H. F; MOURÃO, G. **Assessment of restocking blue fronted amazon (*Amazona aestiva*) in the Pantanal of Brazil**. Ararajuba, v. 8, n. 2, p. 73-78, 2000.
- SICK, H. **Ornitologia brasileira, uma introdução**. Brasília: Editora Universidade de Brasília, v. 1, 1985.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Edição revista e ampliada por J. F. PACHECO. Rio de Janeiro. Editora Nova Fronteira, 1997.

SNYDER, N., MCGOWAN, P., GILARDI, J.; GRAJAL, A. **Status survey and conservation action plan 2000- 2004**. Parrots. IUCN. Cambridge, Uk. 2004.

SPRAGUE, L. D.; SCHUBERT, E.; HOTZEL, H.; SCHARF, S.; SACHSE, K. **The detection of *Chlamydophila psittaci* genotype C infection in dogs**. The Veterinary Journal, doi:10.1016/j.tvjl.2008.04.002, 2008.

SUWA, T.; TOUCHI, A.; HIRAI, K.; ITAKURA, C. **Pathological studies on chlamydiosis in parakeets (*Psittacula krameri manillensis*)**. Avian Pathology, v. 19, n. 2, p. 355-369, 1990.

THOMAS, J.S. Overview of Plasma Proteins. In: FELDMAN, B.F., ZINKL, I.G., JAIN, N.C. (ed.). **Schalm's – Veterinary Hematology**, 5 ed., Philadelphia: Lippincott Williams, p. 891-898, 2000.

VALLE, S. F.; ALLGAYER, M. C.; PEREIRA, R. A.; BARCELLOS, L. J. G.; HLAVAC, N. R. C.; FRANÇA, R. T.; LOCATELLI, M. L. **Parâmetros de bioquímica sérica de machos, fêmeas e filhotes de Araras canindé (*Ara ararauna*) saudáveis mantidas em cativeiro comercial**. Revista Ciência Rural, v. 38, n. 3, mai-jun, p. 711-716, 2008.

VAN LOOCK, M.; VERMINNEN, K.; MESSMER, T. O.; VOLCKAERT, G; GODDEERIS, B. M.; VANROMPAY, D. **Use of a nested PCR-enzyme immunoassay with an internal control to detect *Chlamydophila psittaci* in turkeys**. BMC Infectious Diseases, v. 5, n. 76, 2005.

VANROMPAY, D.; HARKINEZHAD, T.; VAN DE WALLE, M. V.; BEECKMAN, D.; VAN DROOGENBROECK, C. V.; VERMINNEN, K.; LETEN, R.; MARTEAN; CAUWERTS, K. ***Chlamydophila psittaci* transmission by pet birds**. Journal of Emerging Infectious Diseases, v. 13, n. 7, 2007.

YATSENTYUK, S. P.; OBUKHOV, I. L. **Molecular Genetic Characterization of Avian *Chlamydophila psittaci* Isolates.** Russian Journal of Genetics, v. 43, n. 11, p. 1215–1220, 2007.

YUNG, A. P.; GRAYSON, M. L. **Psittacosis: a review of 135 cases.** The Medical Journal of Australia, v. 148, p. 228-233 1988.

ARTIGO

PREVALÊNCIA DE *Chlamydophila* sp. E QUADRO HEMATOLÓGICO DE *Ara ararauna* E *Amazona aestiva* EM CENTRO DE REABILITAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRES EM CAMPO GRANDE/MS

Ono T.M., Carrijo A.S., Araújo F.R., Ramos C.A., Cavalcanti A.R., Tavares L.E.

A clamidiose aviária, causada pela bactéria *Chlamydophila psittaci*, tem sido frequentemente diagnosticada nos psitacídeos, sendo uma enfermidade relatada, em vários países, em animais domésticos e silvestres naturalmente infectados. Os objetivos deste trabalho foram verificar a prevalência de clamidiose nos psitacídeos do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres de Campo Grande/MS, e apontar as possíveis alterações hematológicas associadas a esta enfermidade. Foram avaliadas 75 aves das espécies *Ara ararauna* (n=27) e *Amazona aestiva* (n=48), sendo realizados os seguintes procedimentos: exame clínico, coleta de sangue e *swabs* cloacais e aferição do peso corpóreo. O diagnóstico de clamidiose foi obtido através da reação em cadeia da polimerase, analisando os *swabs* cloacais. As aves foram divididas em dois grupos: positivos e negativos para clamidiose, calculando-se a média e o desvio padrão de cada variável estudada. *Chlamydophila* sp. foi encontrada nas duas espécies de psitacídeos do CRAS/MS, sendo que a prevalência em *A. ararauna* foi de 55,56% e em *A. aestiva* 35,42%. Esta enfermidade foi associada à redução das taxas de volume globular e peso corpóreo na espécie *A. ararauna*. Na espécie *A. aestiva* não foram observadas diferenças entre os animais positivos e negativos para clamidiose nas condições estudadas. Nos psitacídeos com clamidiose podem-se observar os seguintes sinais clínicos: diarreia, apatia, anorexia, musculatura peitoral diminuída e problemas no empenamento. A presença de *Chlamydophila* sp. nas espécies *Ara ararauna* e *Amazona aestiva* indicam a existência de portadores assintomáticos e sintomáticos para a clamidiose no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Palavras-chave: clamidiose, hematologia, papagaio-verdadeiro, arara-canindé.

Prevalence of *Chlamydophila* sp. and hematology of *Ara ararauna* and *Amazona aestiva* in wild animals rehabilitation center in Campo Grande/MS

Abstract

Bird chlamydiosis caused by *Chlamydophila psittaci*, is frequently diagnosed in psittacines, being a disease related in several countries, in household and wild animals naturally infected. The objectives of this work were to verify the prevalence of chlamydiosis in psittacines in rehabilitation at the Centro de Reabilitação de Animais Silvestres - CRAS/MS (Wild Animals Rehabilitation Center), in the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil and point out the possible hematological disorders associated with this disease. A number of 75 birds of the *Ara ararauna* (n=27) and of the *Amazona aestiva* species (n=48) were evaluated. The following procedures were made in these birds:

clinical examination, blood collection and cloacal swabs and weight analysis. The diagnosis of psittacosis was obtained by polymerase chain reaction, analysing the cloacal swabs. The animals were divided in two groups: positives and negatives by chlamydiosis, calculating the average and standard derivation to each variable studied. *Chlamydophila* sp. was found in the two species of psittacines of CRAS/MS, being that the prevalence in *A. ararauna* was of 55, 56% and in *A. aestiva*. This disease was associated with the reduction of packed cell volume and body weight in the *A. ararauna*. In the *A. aestiva* species there were no differences observed between the positive and negative birds to chlamydiosis in the studied conditions. In the psittacines with chlamydiosis the following clinical signs were observed: diarrhea, weakness, anorexia, chest muscle decrease and alterations in plumage. The presence of the *Chlamydophila* sp. in the *Ara ararauna* and *Amazona aestiva* species indicate the existence of asymptomatic and symptomatic birds at the CRAS/MS.

Keywords: chlamydiosis, hematology, blue-fronted-parrot, blue-and-yellow macaws.

Introdução

A ordem Psittaciforme inclui três famílias de pássaros: Loridae, Cakatuidae e Psittacidae. Os psitacídeos estão distribuídos por todo o mundo, principalmente em regiões tropicais. Algumas espécies se estendem até regiões temperadas do sul, mas poucas se estendem até regiões temperadas do norte (Lamberski 2003).

A clamidiose aviária, causada pela bactéria *Chlamydophila psittaci* (*C. psittaci*), anteriormente conhecida como *Chlamydia psittaci*, tem sido uma importante doença frequentemente diagnosticada nos psitacídeos. Trata-se de uma bactéria obrigatoriamente intracelular transmitida das aves para os humanos (Dovc et al. 2007).

A psitacose, também conhecida como ornitose, clamidiose ou febre do papagaio, tem sido um problema à saúde pública como zoonose e precauções devem ser tomadas quando houver o manuseio de pássaros infectados ou material contaminado. Esta doença ocorre em todo o mundo, com sua incidência e distribuição variando amplamente dependendo da espécie de pássaro e do sorotipo do organismo clamidial (Van Loock et al. 2005).

Aves jovens dos gêneros *Ara* e *Amazona* são altamente susceptíveis à clamidiose aguda (Raso et al 2004). Os sinais clínicos da clamidiose aviária variam muito e dependem da espécie, idade da ave e do sorovare de *C. psittaci*. A enfermidade pode produzir letargia, hipertermia, excreções anormais, descarga nasal e ocular e diminuição da reprodução (Van Loock et al. 2005).

Os estudos dos parâmetros hematológicos e bioquímicos são essenciais para contribuir com o progresso da medicina aviária. Com a realização de levantamentos que permitam a interpretação adequada das respostas do organismo e do acompanhamento de casos clínicos, possíveis adoções de medidas visando uma melhora no diagnóstico e na produção industrial podem ser aplicadas. O hemograma é um exame rápido e de baixo custo, porém, em se tratando de aves sua realização fica limitada à escassa literatura existente e à grande variação da morfologia celular (Schmidt et al. 2007).

Os objetivos deste trabalho foram verificar a prevalência de clamidiose nos psitacídeos em reabilitação no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS/MS) no município de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, e apontar as possíveis alterações hematológicas associadas a esta enfermidade.

Material e Métodos

Foram utilizadas 75 aves adultas das espécies *A. ararauna* (n=27) e *A. aestiva* (n=48), mantidas no CRAS/MS, Brasil. O CRAS/MS localiza-se dentro da Unidade de Conservação Parque Estadual do Prosa, que dispõe de 137 hectares e abriga mais de 200 espécies de animais da fauna nativa e introduzida. O manuseio dos animais foi autorizado pelo IBAMA, pelo Instituto de Meio Ambiente do Mato Grosso do Sul, através das licenças de números: 13499-1 e 02/2008, respectivamente (Anexo 1 e 2).

O manejo alimentar consistiu de triturado composto de cenoura, beterraba, ração canina e grão de milho com adição de frutas como maçã, banana, laranja, goiaba, mamão e melão e sementes de oleaginosas, tais como amendoim e girassol fornecidos duas vezes ao dia.

Os psitacídeos foram manejados durante o período de maio a setembro de 2008, sendo contidos com puçá e posteriormente manipulados apenas por contenção manual. Os olhos foram vedados para reduzir o estresse da manipulação. As aves possuíam anilhas com numeração individual no pé direito e os dados de cada ave foram anotados em fichas clínicas individuais (Anexo 3). O *swab* cloacal de cada animal foi obtido com *swabs* estéreis que tiveram parte da haste cortada para acondicionamento em tubos de polipropileno estéreis de 2 mL. Por último procedeu-se a aferição do peso.

Foi coletado 1,0 mL de sangue através da veia ulnar ou jugular, após anti-sepsia com etanol 70°GL, utilizando-se seringa de 3 mL e agulha 20 x 5,5 descartáveis, com adição prévia de EDTA 10% (lavagem interna da seringa), para evitar a coagulação imediata. O

sangue foi acondicionado em tubos para microcentrifugação, contendo 20 µL de EDTA sódico a 10%, homogeneizado e refrigerado (4°C) até o momento de seu processamento laboratorial que variou de 2 a 4 horas. Foi realizada compressão com algodão no local de venipunção até a completa coagulação sanguínea administrando-se polissulfato de mucopolissacarídeo por via tópica para evitar a formação de hematomas.

Hematologia

Dois esfregaços sanguíneos foram realizados em até duas horas da coleta de sangue e posteriormente corados utilizando um conjunto de reativo panótico rápido comercial¹. Depois de lavada e seca em temperatura ambiente, os esfregaços sanguíneos foram examinados sob microscopia óptica convencional (imersão: 1000x) sendo contadas 100 células seguindo a técnica de zigzague de Shilling.

A determinação do volume globular (VG) foi realizada pelo método do microhematócrito. Para a contagem de eritrócitos e leucócitos utilizou-se a mesma técnica de contagem manual descrita para mamíferos (pipeta de Thomas), porém substituindo-se o líquido de Gower pela solução de Natt e Herrick, utilizando-se diluições de 1:200 e 1:20, respectivamente (Natt e Herrick 1952, Jain 1993, Benez 2004).

As contagens globulares foram realizadas em câmara de Neubauer. Para as hemácias somaram-se as células de cinco quadrados da área central (quadrados médios), sendo o valor total de hemácias multiplicado por 10.000. Contaram-se os leucócitos de quatro quadrados grandes localizados nos extremos da câmara, multiplicando-se o valor total por 50. Os cálculos do Volume Corpuscular Médio (VCM) foram realizados conforme o método de Wintrobe. A determinação da Proteína Plasmática Total (PPT) foi realizada pelo método refratométrico, utilizando-se refratômetro manual (ATAGO, Japan) previamente calibrado (Garcia-Navarro e Pachaly 1994, Benez 2004).

Extração de DNA genômico e amplificação dos fragmentos de genes

Para a extração do DNA genômico, as amostras de *swabs* cloacais foram mantidas congeladas até o seu processamento (7 a 90 dias). Para extração de DNA total presente nos *swabs* cloacais utilizou-se a técnica de Abrão et al. (2005). Aos tubos de polipropileno foram adicionados 200 µL de TES (Tris HCl 10mM pH 7,6; EDTA 1mM; SDS 0,6%) e 5µL de proteinase K (10mg/ml) e incubados por 2h a 42°C. Após a incubação, retirou-se o *swab* e adicionou-se 42µL de NaCl saturado (6 M), agitando manualmente com vigor. Centrifugou-se

¹ Instant-Prov, Marca NewProv, Pinhais-PR.

por 1 minuto a 15.000 x g. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e adicionou-se 2 vezes o volume de etanol absoluto.

Os tubos foram agitados e centrifugados por 1 minuto a 15.000 x g. O etanol absoluto foi descartado e foi adicionado 1 mL de etanol 70°GL, invertendo-se os tubos diversas vezes para lavar o sedimento. Os tubos foram centrifugados por 1 minuto a 15.000 x g e o sobrenadante desprezado. Repetiu-se a lavagem com etanol 70°GL mais uma vez e, após desprezar o sobrenadante, os tubos permaneceram abertos para evaporação do etanol residual. Ao final da extração o DNA foi resuspenso em 40 µL de TE (Tris HCl 10mM; EDTA 0,1mM). O DNA extraído foi avaliado por eletroforese em gel de agarose a 1% em TAE (Tris-Acetato EDTA), corado com Syber Gold (Invitrogen) e visualizado com transiluminador sob luz ultravioleta.

Realizou-se a semi-nested PCR empregando-se os oligonucleotídeos descritos abaixo em termociclador Bio-Rad Mycycler (Bio-Rad, USA). Foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores para o gene da proteína principal da membrana externa clamidial (*ompA*), segundo Raso et al. (2006). Para a primeira reação utilizou-se os oligonucleotídeos A (5'CAGGATATCTTGTCTGGCTTTAA3') e B (5'GCAAGGATCGCAAGGATC3'), amplificando um produto estimado em 260 pares de base (pb). Na segunda reação utilizou-se os oligonucleotídeos C (5'TTAGAGGTGAGTATGAAAAACTC3') e B (5'GCAAGGATCGCAAGGATC3'), amplificando um fragmento estimado em 165 pb, que compreende um segmento da região 5' não traduzida e parte da região codificante do gene *ompA*.

A primeira reação foi realizada em volume de 50 µL, contendo: 100 mM Tris-HCL pH 8,5; 500 mM KCL; 1,5 mM de MgCl₂; 250 µM de dNTP; 2,5 U de *Taq* DNA polimerase (Cenbiot); 100 ng do oligonucleotídeo A e B; 2 µL de DNA molde e água Milli-Q estéril. A segunda reação foi similar à primeira, utilizando como DNA molde 0,5 µL da primeira amplificação. As condições das reações foram: 1 ciclo a 94°C; 30 ciclos a 94°C por 30 segundos, 64°C por 30 segundos e 72°C por 20 segundos; e uma extensão final a 72°C por 7 minutos.

Como controles positivo e negativo da PCR utilizou-se DNA de cultura de *Chlamydomophila* spp. e água Milli-Q estéril substituindo o DNA molde, respectivamente. Os produtos da amplificação foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% em TAE, corados com Syber Gold (Invitrogen) e visualizados com transiluminador sob luz ultravioleta. As amostras que apresentaram produto de aproximadamente 165 pb na segunda reação da semi-nested PCR, foram consideradas positivas.

A prevalência foi calculada segundo Bush et al. (1997), em que o resultado é obtido calculando-se o número de animais positivos sobre o número total de animais examinados, sendo o valor expresso em porcentagem.

Clonagem e seqüenciamento dos fragmentos de genes

Realizou-se clonagem e posteriormente o seqüenciamento para confirmar se o resultado da amplificação na PCR era devido à existência de material genético de *Chlamydophila* spp. nas aves estudadas.

Os fragmentos gênicos amplificados por PCR de três psitacídeos, sendo duas araras-canindés e um papagaio-verdadeiro, foram clonados em plasmídeo *pGEM-T Easy* (Promega), segundo as recomendações do fabricante. Como célula hospedeira, utilizou-se *Escherichia coli* cepa TOP10. A seleção dos clones contendo inserto de interesse foi feita por PCR de colônia, usando-se os oligonucleotídeos B e C.

Após purificação dos plasmídeos recombinantes, usando *kit* Wizard Minipreps (Promega), realizou-se seqüenciamento dos fragmentos clonados em ambas as direções. As amostras de DNA molde (30 a 45 ng) foram marcadas com 3,2 pmol dos oligonucleotídeos T7 ou M13 reverso e 2 µL de reagente *BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing RR-100* (Applied Biosystems) em um volume final de 10 µL.

As reações foram realizadas em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). As amostras foram precipitadas com isopropanol e desnaturadas com formamida Hi-di (Applied Biosystems). A eletroforese capilar foi realizada em seqüenciador automático ABI 3700 (Applied Biosystems). Os dados das seqüências foram coletados com programa *Data Collection v 1.0.1* (Applied Biosystems). A qualidade das seqüências foi avaliada pelo programa *Sequencer Scanner 1.0* (Applied Biosystems).

As seqüências consensos passaram por alinhamento, e os intervalos dos fragmentos que alinharam foram submetidas ao Blastn (para seqüências de nucleotídeos), efetuando-se à busca por homologia dos genes (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>).

Análise estatística

Para a análise estatística, os animais foram divididos em dois grupos: positivos e negativos para clamidiose. Para cada grupo calculou-se a média e o desvio padrão de cada variável estudada. As variáveis foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, recomendado para $2 < n < 51$. Quando as variáveis apresentaram distribuição normal, comparou-se as médias através do teste *t* de Student. Para as variáveis que não apresentaram distribuição normal, utilizou-se o teste de aproximação normal Z do teste *U* de Mann-

Whitney. Nível de significância adotado $p < 0,05$. Executou-se as análises estatísticas no programa Bioestat (Zar 1999, Ayres et al. 2005).

Resultados e Discussão

Os animais considerados positivos para *Chlamydophila* sp. apresentaram produto estimado de 165 pb no gel de agarose da segunda reação da semi-nested PCR, observado na Figura 1. A prevalência de clamidiose, diagnosticada pela técnica de PCR, em araras da espécie *A. ararauna* mantidas em cativeiro no CRAS/MS, foi de 55,56% (15/27) no período estudado (Figura 2). Prevalências maiores estão descritas na literatura para animais do mesmo gênero, no entanto, provas sorológicas foram utilizadas como teste diagnóstico para obtenção de tais dados (Harkinezhad et al. 2007). Ainda, utilizando-se de provas sorológicas, Herrera et al. (2001) encontraram prevalência de 12,39% para a espécie de *A. macao*, mantida em cativeiro na Costa Rica.

Sabe-se que provas sorológicas podem ter baixa especificidade e falsos negativos podem ocorrer em aves com infecção aguda, quando a coleta de amostras ocorre antes da soroconversão (Nasphv 2004), entretanto não estão disponíveis na literatura pesquisas para clamidiose em *A. ararauna* que utilizassem nos diagnósticos métodos moleculares, dificultando assim a comparação dos dados.

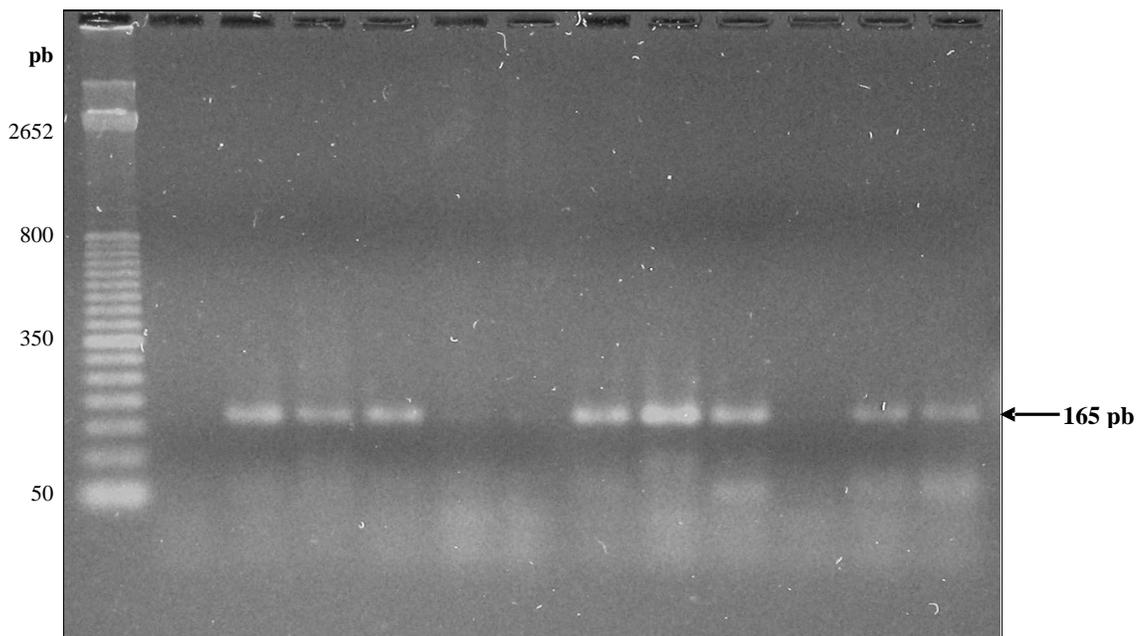


Figura 1. Gel de agarose a 2%, corado com Syber Gold, demonstrando a segunda reação da semi-nested PCR para *Chlamydophila* sp., com 165 pb. Colunas: M, marcador de pares de base (50pb DNA Ladder, Invitrogen); C-, controle negativo; C+, controle positivo; 1, *Ara* anilha 006; 2, *Ara* anilha 221; 3, *Ara* anilha 335; 4, *Ara* anilha 376; 5, *Ara* anilha 379; 6, *Amazona* anilha 003; 7, *Amazona* anilha 004; 8, *Amazona* anilha 468; 9, *Amazona* anilha 1653; 10, *Amazona* anilha 2002.

Em um estudo de Raso et al. (2006) relataram 26,7% de prevalência de clamidiose em araras da espécie *Anodorhynchus hyacinthinus* (arara-azul-grande), também se utilizando da técnica de PCR. No entanto, neste estudo, além da utilização de animais de outra espécie, os animais avaliados eram filhotes de vida-livre.

A prevalência de clamidiose para a espécie *A. aestiva*, a partir da técnica de PCR foi de 35,42% (17/48) na espécie *A. aestiva* da presente população amostral (Figura 2). Raso et al. (2002) evidenciaram a eliminação de *C. psittaci* em 35,8% dos *swabs* cloacais de papagaios-verdadeiros de cativeiro a partir da imunofluorescência direta. Foram relatadas 6,3% de prevalência de psitacose em filhotes de papagaios-verdadeiros de vida livre nos testes moleculares (Raso et al. 2006) e Harkinezhad et al. (2007) descreveram 25% em papagaios-africano-cinzentos de cativeiro.

Apesar dos diferentes métodos diagnósticos, o que dificulta a comparação, os resultados obtidos são similares aos de Raso et al. (2002). Entretanto, ao comparar ao único dado de literatura que utiliza a mesma metodologia (mesma espécie, método diagnóstico e região geográfica) a prevalência encontrada foi maior.

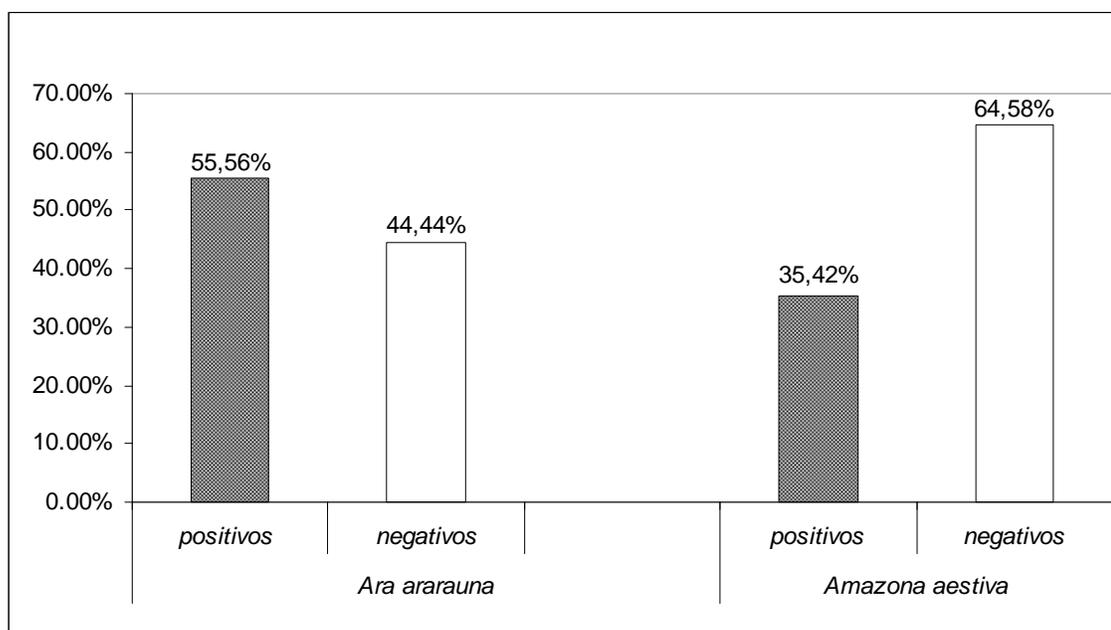


Figura 2. Percentual de psitacídeos positivos e negativos para *Chlamydophila sp.*, submetidos à pesquisa molecular, no período de maio a setembro de 2008, oriundos do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres, do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Sareyyupoglu et al. (2007) descreveram que as aves que atuam como portadoras de psitacose podem ter períodos de latência, e que em situações de estresse podem eliminar grande quantidade do patógeno. Houve relatos de que menor prevalência é encontrada em animais de vida livre (Raso et al. 2004), pois nestes casos fatores prejudiciais à saúde das aves (como estresse de cativeiro, alta densidade populacional nos recintos, por exemplo) não estariam presentes. Este desequilíbrio que o cativeiro impõe pode ser a explicação para as diferentes prevalências.

Os resultados do seqüenciamento estão descritos na tabela 2. Pode-se afirmar que os fragmentos visualizados na PCR provinham da amplificação do gene *ompA* de *Chlamydophila* sp. realizada a partir das amostras de *swabs* cloacais dos psitacídeos em reabilitação. O tamanho reduzido do fragmento, somado à alta homologia no gene *ompA* entre *C. felis* e *C. psittaci* foram fatores determinantes para não se objetivar a caracterização molecular das amostras clonadas.

Tabela 2. Avaliação das seqüências de DNA dos fragmentos gênicos de *ompA* de *Chlamydophila* sp. submetidos aos algoritmos Blastn.

Animal	Nº acesso Genbank (best hits)	Espécie	Escore (bits)	e-value	Identidade (%)	Gaps
<i>Ara ararauna</i> 006	AB468956.1 EU856037.1	<i>C. psittaci</i>	194 (214)	7×10^{-47}	98	0/112
<i>Amazona aestiva</i> 1653	AB468956.1 EU856037.1	<i>C. psittaci</i>	176 (194)	2×10^{-41}	94	0/112
<i>Amazona aestiva</i> 1806	AP006861.1 AF269258.1	<i>C. felis</i>	178 (196)	5×10^{-42}	95	0/111

Durante o exame clínico e coleta de amostras, nenhum dos psitacídeos apresentou alterações respiratórias ou oculares (secreções anormais) que indicassem a presença de clamidiose, já que estes sintomas são os mais relatados por outros pesquisadores (Suwa et al. 1990, Raso et al. 2004, Van Loock et al. 2005).

Ao exame clínico, 22,22% (6/27) das araras apresentavam diarreia esbranquiçada, apatia, anorexia, alteração no empenamento (com queda de penas) e musculatura peitoral reduzida (Anexo 4); destes animais cinco (18,52%) morreram de um a seis dias após a coleta de amostras. Todas as araras observadas com as alterações descritas acima foram positivas para *Chlamydophila* sp.

A maioria dos papagaios no exame clínico (93,75%) apresentou bom estado sanitário (45/48), caracterizando-se por condições normais da musculatura peitoral, do empenamento e das mucosas. Dois animais possuíam problemas no empenamento, sendo que um destes foi positivo para clamidiose. Um papagaio estava obeso, sendo também positivo, entretanto apresentava-se ativo, com bom empenamento e coloração normal das mucosas.

As variáveis estudadas e os resultados estatísticos nas aves amostradas, estão apresentados na Tabela 3. Avaliando o peso corporal das *A. ararauna*, observou-se diferença estatística entre as médias ($p < 0,01$), no qual o grupo dos animais positivos ($881,77 \pm 140,80$) apresentou média menor do que o grupo dos animais negativos ($1051,38 \pm 121,76$). Este fato pode ser explicado pela diarreia, desidratação e anorexia que a doença pode ocasionar. Entretanto, para *A. aestiva*, as médias do peso corpóreo entre os animais positivos ($401,84 \pm 62,42$) e negativos ($384,47 \pm 53,81$) não foram diferentes estatisticamente, não sendo portanto, detectado menor peso em papagaios com psitacose.

Tabela 3. Valores médios das variáveis estudadas nas espécies *Ara ararauna* e *Amazona aestiva* submetidas à pesquisa molecular para *Chlamydochloa* sp., oriundas do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres, do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

Variáveis Estudadas	<i>Ara ararauna</i>			<i>Amazona aestiva</i>		
	Positivos (n=15)	Negativos (n=12)	Valor t ou Z	Positivos (n=17)	Negativos (n=31)	Valor t ou Z
Eritrócitos ($\times 10^{12}/L$)	1,71 \pm 1,19	1,65 \pm 0,74	0,27	1,59 \pm 0,71	1,71 \pm 0,69	0,58
Volume Globular (L/L)	0,40 \pm 0,07	0,48 \pm 0,07	3,30*	0,40 \pm 0,10	0,40 \pm 0,09	0,08
VCM (fL)	302,93 \pm 138,01	349,42 \pm 149,50	0,84	290,55 \pm 127,20	276,61 \pm 147,64	0,33
PPT (g/L)	4,99 \pm 0,69	5,17 \pm 0,51	0,73	5,86 \pm 0,46	5,83 \pm 0,56	-0,17
PP (g/L)	4,74 \pm 0,68	4,72 \pm 0,65	-0,09	5,35 \pm 0,50	5,34 \pm 0,56	-0,11
Leucócitos totais ($\times 10^9/L$)	6,46 \pm 2,04	8,09 \pm 4,18	0,83	4,22 \pm 1,66	4,50 \pm 2,06	0,03
Heterófilos ($\times 10^9/L$)	5,13 \pm 1,83	6,21 \pm 4,55	0,15	2,75 \pm 1,14	2,96 \pm 1,50	0,18
Eosinófilos ($\times 10^9/L$)	0,06 \pm 0,07	0,05 \pm 0,11	0,88	0,05 \pm 0,08	0,04 \pm 0,06	0,05
Basófilos ($\times 10^9/L$)	0,03 \pm 0,05	0,02 \pm 0,06	0,39	0,05 \pm 0,05	0,04 \pm 0,04	0,91
Monócitos ($\times 10^9/L$)	0,29 \pm 0,23	0,49 \pm 0,57	0,61	0,45 \pm 0,32	0,48 \pm 0,51	0,19
Linfócitos ($\times 10^9/L$)	0,95 \pm 0,40	1,32 \pm 0,75	1,52	0,92 \pm 0,57	0,98 \pm 0,58	0,46
Peso corpóreo (g)	881,77 \pm 140,80	1051,38 \pm 121,76	2,85*	401,84 \pm 62,42	384,47 \pm 53,81	-1,01

Valores apresentados como: média \pm desvio-padrão; n = número total de indivíduos em cada grupo. Comparação realizada através do teste t de Student e da aproximação normal Z do teste U de Mann-Whitney.

* Valor significativo em $p < 0,05$.

A média de peso destas aves está de acordo com os dados de Deem et al. (2005) para aves em cativeiro da Bolívia ($422,6 \pm 54,68$ g). Em um surto no Brasil, Raso et al. (2004) descreveram anorexia, diarreia verde-amarelada e baixo peso em papagaios-verdadeiros; Suwa et al. (1990) relataram que os pássaros podem apresentar inapetência, emaciação e diarreia esverdeada. Portanto, baixo peso em aves com clamidiose é uma alteração frequentemente encontrada e na espécie *A. araruana* esta alteração estatisticamente evidente.

Na comparação das médias dos valores de VG entre o grupo das araras positivas ($0,40 \pm 0,07$) e negativas ($0,48 \pm 0,07$) para clamidiose (Tabela 3), houve diferença estatisticamente relevante entre os resultados. Gerlach (1994) relata diminuição do VG em até 30% nas aves com psitacose. O resultado obtido neste estudo foi menor do que 30%.

Devido à diarreia que algumas araras apresentaram, esperava-se um possível aumento do VG ocasionado pela desidratação, entretanto ocorreu uma diminuição deste parâmetro que pode estar associado ao seqüestro das hemácias pelo baço. Uma outra possibilidade pode estar correlacionada com provável aplasia medular decorrente de enfermidade crônica. Com uma amostra populacional de 27 araras-canindés, não se pode comprovar outras alterações sangüíneas estatisticamente significativas que pudessem ser ocasionadas pela doença. Talvez, com um número amostral superior, as médias possam apresentar uma acentuada diferença para um índice de confiança de 95%.

Foram encontrados poucos dados de literatura sobre hematologia em animais com clamidiose, tornando-se difícil a comparação dos parâmetros. Alguns autores relataram que a psitacose pode acarretar heterofilia (Mitchell e Johns 2008) ou basofilia (Benez 2004). Nos resultados obtidos não foi possível comprovar estas alterações.

O único hemoparasito encontrado no esfregaço sangüíneo foi *Haemoproteus* sp., em uma arara que foi negativa para a psitacose. No presente trabalho, ao se comparar os valores da contagem total de leucócitos entre os grupos de animais positivos ($6,60 \pm 2,6$) e negativos ($8,23 \pm 4,53$), não houve diferença estatística.

Para a espécie *A. aestiva*, não foram observadas diferenças na análise estatística entre as médias das variáveis estudadas entre os grupos de animais positivos (n=17) e negativos (n=31) para *Chlamydophila* sp (Tabela 3). Apesar dos recintos das araras e papagaios serem próximos (aproximadamente 15 metros) e com livre acesso para insetos (recintos telados), não foram observados hemoparasitos nos esfregaços sangüíneos da espécie *A. aestiva*.

Mitchell e Johns (2008) afirmaram que espécies de papagaios do novo mundo e canários apresentam normalmente grande números de linfócitos, podendo chegar a 70% dos leucócitos. Os resultados deste estudo não confirmaram esta afirmação, apresentando o heterófilo como o leucócito mais predominante.

Analisando a alta prevalência de clamidiose na espécie *A. ararauna* e os achados clínicos, poderia haver a possibilidade de que as araras apresentavam a doença aguda, sintomática, com maior prevalência e também maiores alterações clínico-laboratoriais durante o período do estudo.

Os papagaios apresentaram menor prevalência quando comparados às araras, mas a doença permaneceu assintomática, com a relação parasito-hospedeiro em aparente equilíbrio, não demonstrando alterações hematológicas relevantes.

Confirmou-se a enfermidade nas duas espécies de psitacídeos do CRAS/MS, mas provavelmente, no período da amostragem as araras apresentaram a doença sintomática, e os papagaios permaneceram eliminando a bactéria através da cloaca, entretanto sem demonstrar sinais clínicos ou hematológicos da mesma, supostamente revelando-se portadores assintomáticos. Apesar disso, mais estudos com um número amostral maior e com repetições deveriam ser realizados para a confirmação dessa possibilidade.

Não há dados suficientes para afirmar se esta prevalência de clamidiose nos psitacídeos sofre uma influência sazonal, dependendo do ciclo reprodutivo, do clima, da densidade populacional dos recintos ou outras variáveis. Isto talvez pudesse ser comprovado se as coletas de amostras biológicas fossem realizadas em diferentes períodos do ano.

Na presente amostra de 75 psitacídeos, foi observada alteração em apenas um parâmetro hematológico. A realização de levantamentos em uma amostra maior de aves se faz necessária para concluir se a resposta sangüínea à enfermidade é ou não observável no hemograma.

Conclusão

A presença de *Chlamydophila* sp. nas espécies *Ara ararauna* e *Amazona aestiva* indicam a existência de portadores assintomáticos e sintomáticos para a clamidiose no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

REFERÊNCIAS

- Abrão M.G., Billerbeck A.E.C., Nishi M.Y., Marui S., Mendonça B.B. 2005. Padronização da técnica de extração de DNA de células de mucosa oral com NaCl: Aplicação no estudo do gene PROP1. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*, v. 49 n. 6, dez.
- Ayres M., Ayres Junior M., Ayres D.L., Santos A.A.S. 2004. *BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas*. 4º ed. Imprensa Oficial do Estado do Pará, Sociedade Civil Mamirauá: Belém. 324p.
- Benez S.M. 2004. Hematologia e bioquímica sanguínea das aves. In: *Aves: criação, clínica, teoria, prática: silvestres, ornamentais, avinhados*. 4. ed. Ribeirão Preto: Tecmedd, p. 323-332.
- Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M., Shostak A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. 1997. *Journal of Parasitology*, v. 83, p.575-583.
- Deem S.L., Noss A.J., Cuéllar R.L., Karesh W.B. 2005. Health evaluation of free-ranging and captive blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) in the Gran Chaco, Bolívia. *Journal Zoo and Wildlife Medicine*, v. 36, n. 4, p. 598–605.
- Dovc A., Slavec, B., Lindtner-knific R., Zorman-rojs O., Racnik J., Golja J., Vlahovicand K. 2007. Study of *Chlamydophila psittaci* outbreak in budgerigars. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, v. 51, p. 343-346.
- Garcia-Navarro C.E. K, Pachaly J.R. 1994. *Manual de hematologia veterinária*. 1.ed. São Paulo: Livraria Varela Ltda, p. 169.
- Gerlach H. 1994. *Chlamydia*. In: Ritchie B.W., Harrison G.J., Harrison L.R. (Ed.). *Avian medicine: principles and application*. Lake Worth, FL: Wingers Publishing, p. 984–96, 1994.
- Harkinezhad T., Verminnen K., Van Droogenbroeck C., Vanrompay D. 2007. *Chlamydophila psittaci* genotype E/B transmission from african grey parrots to humans. *Journal Medical Microbiology*, v. 56, p. 1097–1100.
- Herrera I, Khan M.S.R., Kaleta E.F., Ller H.M., Dolz G., Neumann U. 2001. Serological status for *Chlamydophila psittaci*, newcastle disease virus, avian polyoma virus, and pacheco disease virus in scarlet macaws (*a*) kept in captivity in Costa Rica. *Journal of Veterinary Medicine*, B 48, 721-726.
- Jain N.C. 1993. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea e Febiger.
- Lamberski N. 2003. Psittaciformes (Parrots, Macaws, Lories). In: Fowler M.E., Miller R.E. *Zoo and Wild Animal Medicine*. 5. ed. Missouri: Saunders, cap. 22, p. 187-210.

- Mitchell E.B., Johns J. 2008. Avian hematology and related disorders. *Veterinary Clinics Exotic Animal Practice*, v. 11, p. 501–522.
- Nasphv. 2004. National Association of State Public Health Veterinarians: Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* (formerly *Chlamydia psittaci*) infection among humans (psittacosis) and pet birds. AVMA Online. Disponível em: <<http://www.avma.org>>. Acesso em: 05 dez. 2008.
- Natt M.P, Herrick G.A. 1952. A new blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Science*, v. 31, p. 735-738.
- Raso T.F., Berchieri A.Jr., Pinto A.A. 2002. Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive amazon parrots in Brazil. *Journal Zoo and Wildlife Medicine*, v. 33, p. 118–121.
- Raso T.F., Godoy S.N., Milanelo L., Souza C.A.I., Matuschima E.R., Araujo Jr J.P.A, Pinto A.A. 2004. An outbreak of chlamydiosis in captive blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) in Brazil. *Journal Zoo and Wildlife Medicine*, v. 35, n. 1, p. 94–96.
- Raso T.F., Seixas G.H.F., Guedes N.M.R., Pinto A.A. 2006. *Chlamydophila psittaci* in free-living blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) and hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Journal of Veterinary Microbiology*, v. 117, p. 235–241.
- Sareyyupoglu B., Cantekin Z., Bas B. 2007. *Chlamydophila psittaci* DNA detection in the faeces of cage birds. *Journal of Zoonoses Public Health*, v. 54, p. 237–242.
- Schmidt E.M.S., Locateli-Ditrich R., Santin E., Paulilo A.C. 2007. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – Revisão. *Archives of Veterinary Science*, v. 12, n. 3. p. 9-20.
- Suwa T., Touchi A., Hirai K., Itakura C. 1990. Pathological studies on chlamydiosis in parakeets (*Psittacula krameri manillensis*). *Avian Pathology*, v. 19:2, p. 355-369.
- Van Loock M., Verminnen K., Messmer T.O., Volckaert G, Goddeeris B.M., Vanrompay D. 2005. Use of a nested PCR-enzyme immunoassay with an internal control to detect *Chlamydophila psittaci* in turkeys. *BMC Infectious Diseases*, v. 5, n. 76.
- Zar J. H. 1999. *Bioestatistical analysis*. 4. ed. Prentice-Hall. Upper Saddle River, New Jersey, p. 663.

APÊNDICE

Anexo 1. Licença ambiental cedida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 13499-1	Data da Emissão: 05/12/2007 12:42	Data de Validade: 04/12/2008
-----------------	-----------------------------------	------------------------------

Dados do titular

Registro no Ibama: 2203077	Nome: Tatiana Mielke Oro	CPF: 863.305.781-68
Título do Projeto: avaliação sanitária dos psitacíformes em recuperação no CRAS/MS		
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL		CNPJ: 15.461.510/0001-33

Observações, ressalvas e condicionantes

1	A participação do(a) pesquisador(a) estrangeiro(a) nas atividades previstas nesta autorização depende de autorização expedida pelo Ministério de Ciência e Tecnologia (CNPq/MCT).
2	Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado exclusivamente para atividades didáticas ou científicas sem potencial de uso econômico.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br/cites . Em caso de material consignado, consulte www.ibama.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa a obtenção de autorização de acesso ao componente do patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado nos termos da legislação vigente.
7	Em caso de pesquisa em Unidade de Conservação Federal, o pesquisador titular deverá contactar a administração dessa unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CAMPO GRANDE	MS	Parque do Pico 7 Ctas	UC Estadual

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Amazônia estiva

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Sangue, Ectoparasita, Fezes
---	----------------------------	-----------------------------

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL	Laboratório de patologia úter

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na Internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 13138831





**AUTORIZAÇÃO AMBIENTAL PARA PESQUISA EM
UNIDADES DE CONSERVAÇÃO Nº 002/2008
PROCESSO IMASUL Nº 23/100724/2008
VALIDADE: Maio de 2008 a Junho de 2009**

O Instituto de Meio Ambiente de Mato Grosso do Sul/IMASUL, no uso de suas atribuições que lhe são conferidas de acordo com a Lei nº2268 de 31 de julho de 2001 e Portaria IMAP nº 013/02, expede a presente Autorização a TATIANA MIEKO ONO.

INFORMAÇÕES GERAIS:

Instituição: UFMS

Endereço: Departamento de Zootecnia-FAMEZ/UFMS

Telefone: (67) 33453600

E-mail: tationo@hotmail.com

DO PROJETO:

Título: "Avaliação sanitária de psitacíformes em recuperação no Centro de Reabilitação de Animais Silvestres em Campo Grande-MS."

Local do Projeto: Parque Estadual do Prosa – PEP/Centro de Reabilitação de Animais Silvestres-CRAS

Município: Campo Grande-MS

OBJETIVOS:

- Avaliar o estado sanitário dos papagaios da espécie *Amazona aestiva* e das araras da espécie *Ara ararauna*, que se encontram no CRAS em recuperação.

-Pesquisar a presença de doenças infecciosas que possam afetar as aves silvestres e obter dados biométricos que auxiliem no desenvolvimento das aves apreendidas no tráfico.

ATIVIDADES PREVISTAS:

Serão feitas inspeções visuais dos animais em viveiros; contenção física; exame clínico; obtenção de dados biométricos; pesquisa de hemoparasitas; verificação do quadro hematológico (eritrograma e leucograma); pesquisa de endoparasitas nas fezes; identificação de ectoparasitas; pesquisa para Clamidiose.

EQUIPE:

1. Alfredo Sampaio Carrijo

Anexo 3. Planilha de contenção e avaliação clínica dos psitacídeos.

Planilha de Contenção Psitacídeos

Recinto: _____	Nº de animais no mesmo recinto: _____	
Data: __/__/__	Hora: __:__	Espécie: _____
Anilha: _____	Peso: _____	Idade: ()F ()J ()A
Coleta de sangue ()S ()N	Coleta swab cloacal ()S ()N	Coleta de fezes ()S ()N
Coleta de ectoparasitas ()S ()N	Local da coleta: _____	Recaptura: ()S ()N
Estado Clínico Geral: () Ruim () Regular () Bom		
Particularidades: _____		
Observações: _____		

Recinto: _____	Nº de animais no mesmo recinto: _____	
Data: __/__/__	Hora: __:__	Espécie: _____
Anilha: _____	Peso: _____	Idade: ()F ()J ()A
Coleta de sangue ()S ()N	Coleta swab cloacal ()S ()N	Coleta de fezes ()S ()N
Coleta de ectoparasitas ()S ()N	Local da coleta: _____	Recaptura: ()S ()N
Estado Clínico Geral: () Ruim () Regular () Bom		
Particularidades: _____		
Observações: _____		

Recinto: _____	Nº de animais no mesmo recinto: _____	
Data: __/__/__	Hora: __:__	Espécie: _____
Anilha: _____	Peso: _____	Idade: ()F ()J ()A
Coleta de sangue ()S ()N	Coleta swab cloacal ()S ()N	Coleta de fezes ()S ()N
Coleta de ectoparasitas ()S ()N	Local da coleta: _____	Recaptura: ()S ()N
Estado Clínico Geral: () Ruim () Regular () Bom		
Particularidades: _____		
Observações: _____		

Recinto: _____	Nº de animais no mesmo recinto: _____	
Data: __/__/__	Hora: __:__	Espécie: _____
Anilha: _____	Peso: _____	Idade: ()F ()J ()A
Coleta de sangue ()S ()N	Coleta swab cloacal ()S ()N	Coleta de fezes ()S ()N
Coleta de ectoparasitas ()S ()N	Local da coleta: _____	Recaptura: ()S ()N
Estado Clínico Geral: () Ruim () Regular () Bom		
Particularidades: _____		
Observações: _____		

Anexo 4. Arara-canindé positiva para clamidiose proveniente do CRAS/MS, do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul.



This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)