

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

***Chlamydophila* spp., *Mycoplasma gallisepticum* E *Mycoplasma synoviae*
EM PSITACÍDEOS (FILO: CORDATA, ORDEM: PSITTACIFORMES) DE
DIFERENTES CATIVEIROS NO ESTADO DE GOIÁS**

Andréa de Moraes Carvalho
Orientador: Maria Auxiliadora Andrade

GOIÂNIA
2012



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Andréa de Moraes Carvalho** E-mail: **andreavet.carvalho@gmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? Sim Não

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento:

País: UF: CNPJ: Sigla:

Título: Chlamydomphila spp., Mycoplasma gallisepticum E Mycoplasma synoviae EM PSITACÍDEOS (FILO: CORDATA, ORDEM: PSITTACIFORMES) DE DIFERENTES CATIVEIROS NO ESTADO DE GOIÁS Palavras-chave: **Avifauna, clamidiose, medicina da conservação, micoplasmose, Psittacidae.**

Título em outra língua: **Chlamydomphila spp., Mycoplasma gallisepticum AND Mycoplasma synoviae IN PSITTACINES (PHYLUM: CORDATA, ORDER: PSITTACIFORMES) FROM DIFFERENT CAPTIVITIES IN THE STATE OF GOIÁS**

Palavras-chave em outra língua: **Avifauna, clamydiosis, conservation medicine, mycoplasmosis, Psittacidae.**

Área de concentração: **Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **29/02/2012**

Programa de Pós-Graduação: **CIÊNCIA ANIMAL**

Orientador(a): **Maria Auxiliadora Andrade** E-mail: **maa@ufg.br**

Co-orientador(1): **Guido Fontgallad Coelho Linhares** E-mail: **guidofcl@vet.ufg.br**

Co-orientador(2): **Valéria de Sá Jaime** E-mail: **valeria.mg@uol.com.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 23 de abril de 2012

Andréa de Moraes Carvalho
Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

ANDRÉA DE MORAES CARVALHO

***Chlamydophila* spp., *Mycoplasma gallisepticum* E *Mycoplasma synoviae*
EM PSITACÍDEOS (FILO: CORDATA, ORDEM: PSITTACIFORMES) DE
DIFERENTES CATIVEIROS NO ESTADO DE GOIÁS**

Dissertação apresentada para a
obtenção do Grau de Mestre em Ciência
Animal junto à Escola de Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal de
Goiás

Área de Concentração:

Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos

Linha de pesquisa:

Etiologia, Epidemiologia e Controle das Doenças
Infecciosas e Parasitárias dos Animais

Orientador(a):

Prof. Dra. Maria Auxiliadora Andrade

Comitê de Orientação:

Prof. Dra. Valéria de Sá Jayme

Prof. Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares

**GOIÂNIA
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

C331c Carvalho, Andréa de Moraes.
Chlamydophila spp., *Mycoplasma gallisepticum* e
Mycoplasma synoviae em psitacídeos (Filo: Cordata, Ordem
[manuscrito]: Psittaciformes) de diferentes cativeiros no estado de
Goiás / Andréa de Moraes Carvalho. - 2012.
xv, 69 f. : il., figs, tabs.

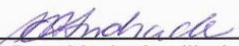
Orientadora: Profª. Drª. Maria Auxiliadora Andrade;
Coorientador: Prof. Dr. Guido Fontgalland Coelho Linhares.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,
Escola de Veterinária e Zootecnia, 2012.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.
Apêndices.

1. Aves – Doenças – Goiás (Estado). 2. Psittacidae. 3.
Chlamydose. I. Título.

CDU: 598.271.8:579.882(817.3)

ANDRÉA DE MORAES CARVALHO

Dissertação defendida e aprovada em **29/02/2012**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade
(ORIENTADOR (A))



Profa. Dra. Sabrina Castilho Duarte - UNIP/Goiânia



Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende

“O que seria do homem sem os animais? Se todos os animais acabassem o homem morreria de uma grande solidão de espírito, porque tudo que acontece aos animais pode também afetar ao homem.”

Carta do Cacique Seattle-1855

AGRADECIMENTOS

Ao Universo, à Mãe Terra e todos os seus filhos.

A todos os meus familiares principalmente meus avós, o guerreiro Adilson Carvalho, a minha mãe Cristina e meus irmãos Felipe e Eduardo.

Ao Ayrton Jr. por todo cuidado, paciência, orientação e carinho comigo, sempre.

À minha irmã de coração Fernanda Quadro, por toda ajuda na coleta do material clínico e principalmente pela lealdade e amizade durante todos esses anos.

À minha velha e boa amiga Isabela Oliveira, que mesmo de longe se fez presente enchendo meus dias com sua alegria.

À Laura, por toda amizade, cumplicidade, pelas saídas, viagens e trabalhos. E a toda sua família maravilhosa que sempre me acolheu.

Ao Leo Caetano e Luiz Alfredo, por toda amizade, ajuda com os criadouros e pela parceria com os exames de clamidiose e micoplasmose nas aves do CETAS.

A todos os pesquisadores e amigos que fiz e que ajudaram na coleta do material clínico. Em especial a Carina, Jana, Aline e Juliano.

Aos criadores de aves silvestres que contribuíram com a pesquisa.

A Maria Auxiliadora pela orientação, amizade e pelo exemplo profissional.

Ao professor Guido e professora Valéria pelo auxílio e orientação.

Ao Professor Aires pela saída de campo no Araguaia.

À Professora Luciana Araújo, pela amizade e apoio durante o mestrado.

A CAPES pela bolsa de pesquisa, concedida.

Ao todo, meus sinceros agradecimentos.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

TABELA 1 - Número de espécies submetidas à coleta por cativeiro (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista), total e percentual de amostras por espécie coletada - Estado de Goiás, 2011.....35

TABELA 2 - Número de aves positivas para a pesquisa de *Chlamydophila* spp. pela reação em cadeia da polimerase (PCR) por cativeiro (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista) e percentual de aves positivas por espécie estudada - Estado de Goiás, 2011.....40

TABELA 3 - Número de animais infectados e não infectados, e proporção e percentual de amostras positivas para a presença de *Chlamydophila* spp. em cada tipo de cativeiro, com o valor de p (Teste Exato de *Fischer*) para cada comparação realizada - Estado de Goiás, 2011.....42

Capítulo 3

TABELA 1 - Número de aves positivas para a pesquisa de *Mycoplasma gallisepticum* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) por cativeiro (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista) e percentual de aves positivas por espécie estudada - Estado de Goiás, 2011.....58

TABELA 2 - Número de aves positiva para a pesquisa de *Mycoplasma synoviae* pela reação em cadeia da polimerase - PCR por cativeiro (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista) e percentual de aves positivas por espécie estudada - Estado de Goiás, 2011.....58

TABELA 3 - Percentual de psitacídeos reagentes nos três estabelecimentos estudados para a presença de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* - Estado de Goiás, 2011.....60

TABELA 4 - Número de animais infectados e não infectados por *Mycoplasma gallisepticum* em cada tipo de criadouro, com o valor de p (Teste Exato de *Fischer*) para cada comparação realizada - Estado de Goiás, 2011.....60

TABELA 5 - Número de animais infectados e não infectados por *Mycoplasma synoviae* em cada tipo de criadouro, com o valor de p (Teste Exato de *Fischer*) para cada comparação realizada - Estado de Goiás, 2011.....61

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	10
1.1 INTRODUÇÃO.....	10
1.2 <i>Chlamydophila psittaci</i>	12
1.3 <i>Mycoplasma gallisepticum</i> e <i>Mycoplasma synoviae</i>	19
REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO 2 – <i>Chlamydophila</i> spp. EM PSITACÍDEOS (FILO: CORDATA, ORDEM: PSITTACIFORMES) EM DIFERENTES CATIVEIROS NO ESTADO DE GOIÁS.....	29
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAL E MÉTODOS.....	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
CAPÍTULO 3 – <i>Mycoplasma gallisepticum</i> e <i>Mycoplasma</i> <i>synoviae</i> EM PSITACÍDEOS (FILO: CORDATA, ORDEM: PSITTACIFORMES) EM DIFERENTES CATIVEIROS NO ESTADO DE GOIÁS.....	49
RESUMO.....	49
ABSTRACT.....	50
INTRODUÇÃO.....	51
MATERIAL E MÉTODOS.....	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS.....	64
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68

RESUMO

A investigação de agentes patológicos em animais silvestres é uma importante ferramenta na conservação das espécies e do ecossistema. A clamidiose é uma doença frequente em psitacídeos, onde foi isolada pela primeira vez, considerada a zoonose de maior importância transmitida por essas aves. Devido a seu caráter infeccioso essa enfermidade é estudada em todo o mundo. A micoplasmose é uma doença respiratória frequente em pombos, galinhas e pássaros. No entanto, psitacídeos podem ser acometidos caso entrem em contato com o agente, podendo se tornar fonte de infecção para o ambiente e para outras aves. Esse trabalho teve como objetivo a identificação, pela técnica da reação em cadeia da polimerase – PCR, dos agentes bacterianos *Chlamydophila* spp., *Mycoplasma gallisepticum* e *M. Synoviae*, em psitacídeos de cativeiro em três estabelecimentos diferentes no estado de Goiás: o CETAS – Centro de Triagem de Animais Silvestres, um criadouro comercial e outro conservacionista. Para a presença de *Chlamydophila* as amostras do CETAS foram reagentes em 25,6% das amostras enquanto o criadouro comercial 26,4%, o conservacionista (0,0%) não teve amostras positivas. Para a presença de *Mycoplasma gallisepticum* as aves do CETAS reagiram em 21,62% das amostras, enquanto aves do criadouro comercial e do conservacionista reagiram em 15,7% e 14%, respectivamente. A presença de *M. synoviae* foi baixa nos cativeiros estudados, sendo essa de 2,7% para o CETAS, 1,3% para o criadouro conservacionista e 0,0% para o comercial. A diferença entre os resultados encontrados por propriedade foi comparada utilizando o Teste Exato de Fisher, sendo que o CETAS e o criadouro comercial apresentaram mais animais infectados do que o criadouro conservacionista. As bactérias estudadas estiveram presentes em diferentes espécies de psitacídeos com destaque para os gêneros *Ara*, *Amazonas* e *Aratinga*. A presença de *Chlamydophila* e *Mycoplasma* sp. deve ser investigada em aves em cativeiro, uma vez que revela a ocorrência dos agentes na população, permitindo o seu controle.

Palavras-chave: Avifauna, clamidiose, medicina da conservação, micoplasmose, Psittacidae.

ABSTRACT

The investigation of pathogens in wild animals can be considered an important tool for conservation of species and ecosystem. Chlamydiosis was first identified and is a common disease in psittacines. It is considered the most important zoonosis spread by these birds. Due to its infectious nature, this disease is studied all around the world. The mycoplasmosis is a common respiratory disease in pigeons, chickens and birds. However, parrots can be affected if they get in contact with the agent, and they can become a source of infection for the environment and for other birds. This study aimed to identify, through the polymerase chain reaction – PCR technique, bacteria *Chlamydophila* spp., *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* in captivity parrots in three different facilities in Goiás state: CETAS – Centro de Triagem de Animais Silvestres, a conservation and a commercial captivity. The results were compared in order to determine which facility is more preserved or contaminated by pathogens. For *Chlamydophila* spp, CETAS facility showed 25.6% of positive samples, while the commercial captivity showed 26.4%, and the conservation captivity had no positive samples (0%). For the presence of *Mycoplasma gallisepticum*, CETAS presented 21.62% of positive samples, while the commercial and conservation captivity showed 15.7% and 14% of positive samples, respectively. *M. synoviae* was almost absent in CETAS (2.7%) and in conservation captivity (1.3%), and absent in commercial captivity (0%). The results found were compared using Fischer's exact test, where CETAS and commercial captivity were more infected than conservation captivity. The bacteria studied were present in different species of parrots, especially on the genera Ara, Aratinga and Amazonas. The presence of *Chlamydophila* and *Mycoplasma* sp. should be investigated in captive birds, since it reveals the presence of the agents in the population, allowing its control.

Keywords: Avifauna, clamydiosis, conservation medicine, mycoplasmosis, Psittacidae.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A conservação da biodiversidade é um dos assuntos mais relevantes atualmente. A ação antrópica do homem sobre a natureza gerou danos que se tornaram evidentes na década de 90. Surtos epidemiológicos envolvendo populações de animais silvestres demonstraram que as doenças poderiam representar grandes obstáculos à manutenção da diversidade biológica e do equilíbrio ecológico (MANGINI & SILVA, 2007).

Uma vez que os problemas sanitários em uma população animal foram vistos pelos cientistas como reais e não aleatórios, ou considerados como um componente natural da dinâmica populacional surge a “Medicina da Conservação” como uma ciência transdisciplinar. Esta ciência visa à atuação conjunta de profissionais de diferentes disciplinas objetivando aspectos da interseção entre a saúde e o ambiente (KOCH, 1996).

Dentro do conceito da medicina da conservação, que visa a conexão entre a saúde animal, humana e do ecossistema, vários estudos estão sendo desenvolvidos em animais de vida livre e de cativeiro. A importância da investigação epidemiológica de agentes, bem como a maneira como esses se comportam em populações animais de vida livre e de cativeiro, constituem grandes ferramentas para a conservação.

A ordem Psittaciformes é considerada por alguns autores como constituída por uma única grande família Psittacidae. O Brasil é conhecido como a “Terra dos Papagaios”, pelo grande número de espécies que abriga, cerca de 80 (SICK, 1997). Entre essas espécies, 16 estão na “Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção” do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente - IBAMA (BRASIL, 2003).

Alguns projetos e pesquisas de conservação visando à sanidade de espécies de psitacídeos estão sendo realizados no Brasil. O curso das doenças infecciosas em aves nem sempre é rápido, podendo ser silencioso, o que dificulta o diagnóstico, bem como o tratamento eficaz das enfermidades. Dessa maneira, a investigação de agentes causadores de enfermidades pode determinar a saúde do indivíduo, de sua população em vida livre e de seu habitat natural (TULLY & HARRISON, 1994).

Diversos organismos bacterianos são capazes de causar infecção em psitacídeos como agentes primários e secundários (SCHMIDT et al., 2003). Neste contexto, se situam a clamidiose e a micoplasmose, doenças de importância para aves silvestres e domésticas e a clamidiose para o homem.

Pesquisas em filhotes de psitacídeos de vida livre mostram que a *Chlamydophila psittaci* é parte da microbiota normal destas aves. Dentre as 125 espécies de aves portadoras de *C. psittaci*, 25% são psitacídeos. Essa bactéria é responsável pela psitacose em humanos, considerada a principal zoonose transmitida por esses animais (RASO, 2004).

Infecções por micoplasmas em psitacídeos destacam a espécie *Mycoplasma gallisepticum* como o principal agente. Sinais clínicos de conjuntivite, rinite e sinusite são comuns em aves silvestres de cativeiro. Porém, as infecções inaparentes são as mais preocupantes por debilitarem significativamente o sistema imunológico (BRADBURY et al., 1993), favorecendo o aparecimento de outras enfermidades, como a própria clamidiose.

Estudos, no Brasil, destas enfermidades em psitacídeos de cativeiro têm mostrado a presença de animais portadores (PACHECO & BIER, 1931; RASO et al., 2002; RASO, 2004; HIDASI, 2010; GOMES et al., 2010). Infecções inaparentes geradas pelas duas bactérias dificultam o controle das enfermidades principalmente devido à disseminação e permanência dessa bactéria em cativeiros. Programas de soltura na natureza de aves silvestres devem investigar esses patógenos (BRASIL, 2008), uma vez que as aves estão aparentemente saudáveis, mas podem carrear agentes patológicos e contribuir para a disseminação de novas cepas no ambiente.

Dado o exposto, este estudo teve como objetivos investigar a presença das bactérias *Chlamydophila* spp., *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* em aves da família Psittacidae em cativeiro no estado de Goiás. Desta forma espera-se contribuir para o diagnóstico, controle e curso dessas enfermidades no estado.

1.2 *Chlamydophila psittaci*

Clamídias são bactérias Gram-negativas consideradas parasitas de energia. Isso se deve ao fato de serem intracelulares obrigatórias e incapazes de produzir ATP, dependentes do metabolismo das células do hospedeiro (QUINN et al., 2005). A família *Chlamydiaceae* anteriormente era monogenérica, abrigando quatro espécies: *Chlamydia trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae* e *C. pecorum*. Após revisão taxonômica realizada através de análises filogenéticas moleculares (genes 16S 23S rRNA) (EVERETT et al., 1999), a família foi dividida em dois gêneros, *Chlamydia* e *Chlamydophila*, e em nove espécies. A espécie *Chlamydia psittaci* foi dividida em três novas espécies de *Chlamydophila*: *C. felis*, *C. abortus* e *C. caviae*. O gênero também abriga as espécies *Chlamydophila psittaci*, *C. pecorum*, *C. pneumoniae*. Enquanto o gênero *Chlamydia* permaneceu com a espécie *C. trachomatis* e ganhou duas novas *C. suis* e *C. muridarum*.

Estas bactérias infectam mais de 130 espécies de aves e grande número de répteis e mamíferos, incluindo o homem. Estudos recentes identificaram espécies de clamídias em invertebrados. Embora seja mais comum a infecção em hospedeiros específicos, pode ocorrer à transmissão interespecies (QUINN et al., 2005).

A clamidiose é considerada uma das principais doenças da ordem Psittaciformes, cujo agente etiológico é a *Chlamydophila psittaci* que também causa a psitacose em humanos (EVERETT et al., 1999). As clamídias são cocobacilos que medem entre 200 x até 1.500nm ou mais de tamanho. Embora sejam Gram-negativas coram-se melhor por Gimenez, Macchiavello e Giemsa (BIBERSTEIN & HIRSH, 2003).

Possui na membrana externa uma proteína imunodominante denominada “principal proteína externa de membrana”- *major outer membrane protein* - MOMP. Seu peso equivale a aproximadamente 60% do peso envoltório da membrana. O lipopolissacarídeo - LPS das clamídias, conhecido como LPS clamidial, representa também um importante antígeno de superfície de membrana. Esses antígenos determinam virulência e a sorovariedade sendo utilizado para diagnósticos específicos (ANDERSEN & VANROMPAY, 2003).

Chlamydophila psittaci possui oito sorovares, A, B, C, D, E, F, M56 e WC. Os sorovares de A a F já foram isolados em aves e são considerados zoonóticos. O sorovar A é endêmico de psitacídeos, porém causa infecções esporádicas em

outros animais e em humanos. A infecção por este sorovar em aves causa frequentemente doença sistêmica podendo se apresentar nas formas inaparentes, crônica, aguda e subaguda. Este sorovar e o sorovar E são comumente encontrados em aves mantidas como animais de estimação. O sorovar B é enzoótico de pombos e já foi isolado também de perus. O sorovar C já foi isolado de patos, perus e perdiz. O sorovar D apresenta alta virulência e foi isolado em perus, gaivotas, periquitos e humanos. Os sorovares C e D são considerados de risco ocupacional para pessoas que trabalham em contato com aves (EVERETT et al., 1999; OIE MANUAL, 2008).

Clamídias possuem um ciclo de desenvolvimento bifásico gerando formas morfológicamente distintas. Os corpos elementares correspondem à forma extracelular, responsável pela infecção nas células do hospedeiro enquanto os corpos reticulados são responsáveis pela replicação intracelular (HARKINEZHAD et al., 2009). Os corpos elementares e reticulados possuem parede semelhante a um Gram-negativo, porém não possuem uma camada de peptidoglicano detectável (QUINN et al., 2005).

A *Chlamydophila* possui um ciclo de desenvolvimento característico com 48 horas de duração. O ciclo inicia quando os corpos elementares entram na célula do hospedeiro por endocitose, mediada por receptor. Esses corpos elementares são pequenos, medindo de 200 a 300nm, metabolicamente inertes e osmoticamente estáveis. Os mecanismos de proteção contra a acidificação do endossoma e a fusão fagolisossomal das clamídias não estão completamente esclarecidos. Para que um corpo elementar se torne um corpo reticulado, ocorre um processo de reorganização estrutural com várias horas de duração. O corpo reticulado mede cerca de 1µm de diâmetro, é metabolicamente ativo e osmoticamente frágil. Replica-se por fissão binária dentro do endossoma, gerando nova produção de corpos elementares (ANDERSEN & VANROMPAY, 2003; RASO, 2009).

Aproximadamente 20 horas após a infecção, o ciclo de desenvolvimento da clamídia torna-se assíncrono, sendo que alguns corpos reticulados, continuam a reproduzir enquanto outros amadurecem, tornando-se corpos elementares e formas intermediárias. Após a lise celular, gerada por enzimas lisossômicas do hospedeiro, as três formas são liberadas (ANDERSEN & VANROMPAY, 2003; QUINN et al., 2005). Segundo BIBERSTEIN & HIRSH (2003) o ciclo de replicação das clamídias *in vitro*, dura cerca de 30 a 40 horas.

Os corpos elementares das clamídias podem sobreviver na água, à temperatura ambiente, por vários dias, porém, não resistem à maioria dos desinfetantes rotineiros, ao calor e a luz solar. A infecção é principalmente pela inalação de *Chlamydophila* presente em secreções e excreções de aves infectadas, principalmente psitacídeos. Porém na avicultura o contato com aves domésticas também é fonte de infecção para humanos. A exposição é por inalação ou ingestão de material infeccioso e em algumas espécies ocorre ainda, a transmissão pelo ovo (BIBERSTEIN & HIRSH, 2003; BEECKMAN & VANROMPAY, 2009; RASO, 2009).

O período de incubação é de difícil determinação devido a grande variação de cepas e de sua virulência. Já foi sugerido um período de sete anos para periquitos, no entanto o tempo mínimo para psitacídeos é de 42 dias, podendo variar de acordo com a virulência da cepa envolvida (GERLACH, 1994).

Aves jovens são mais susceptíveis a infecção por *Chlamydophila*. Segundo RASO (2004), psitacídeos jovens de vida livre, se infectam com a bactéria através do contato direto e indireto com adultos, que ocorre durante a alimentação e ingestão de fezes contaminadas no ninho. No entanto, a principal via de transmissão entre aves infectadas é a aerógena, mediante a inalação de excreções nasal e ocular de aves acometidas. (ANDERSEN & VANROMPAY, 2003). Outros psitacídeos como as calopsitas, são portadores frequentes de *Chlamydophila psittaci* e podem excretar a bactéria por mais de um ano após o aparecimento da infecção. A doença é frequente na forma subclínica, porém, condições inadequadas de manejo, transporte, superpopulação, dieta inadequada, entre outros, predisõem a ave à infecção (GERLACH, 1994). Na forma inaparente não há manifestação de sinais clínicos, enquanto na forma crônica os sinais são brandos, como emagrecimento progressivo, conjuntivite e discreta alteração respiratória. Na forma aguda, comum em psitacídeos, as alterações são inespecíficas atingindo vários sistemas, como respiratório, digestório, urinário e nervoso, enquanto na forma superaguda não há sinais clínicos prévios ocorrendo o óbito da ave em poucas horas (RASO, 2009). *C. psittaci* compromete os sacos aéreos produzindo opacidade difusa nas membranas, levando a uma aerosaculite fibrinosa e o acúmulo de fibrina com restos de células inflamatórias aumentam a espessura dos sacos aéreos. Ocasionalmente, placas amareladas podem ser vistas. As principais células envolvidas são macrófagos, linfócitos e células basais.

As lesões geradas nos sacos aéreos pela *C. psittaci* tem como diagnóstico diferencial infecções bacterianas crônicas, micoplasmose e aerosaculite micótica (SCHMIDT et al., 2003).

Por ser a clamidiose uma doença que acomete vários sistemas, os achados de necropsia são inespecíficos, gerando alteração principalmente no fígado, baço e sacos aéreos, órgãos normalmente utilizados na identificação do agente (LONGBOTTOM & COULTER, 2003). Infecções agudas por *Chlamydochila* são comuns em psitacídeos e causam aerosaculite, hepatite, pericardite, miocardite, broncopneumonia, enterite catarral, nefrose e esplenite (RASO, 2009).

O diagnóstico da clamidiose requer confirmação laboratorial devido aos sinais clínicos serem inespecíficos e os exames rotineiros apenas indicativos da doença (RASO, 2004). O isolamento e identificação da bactéria requerem laboratórios especializados com nível de biossegurança três, devido ao seu caráter zoonótico e outras particularidades em seu isolamento.

Por serem intracelulares obrigatórias, as clamídias requerem linhagens celulares de cultura de tecido ou ovos de galinha embrionados para crescerem *in vitro*. O crescimento ocorre de dois a três dias após a inoculação. Ovos inoculados podem ser examinados contra luz. Após três dias os embriões morrem e o saco vitelino destes é examinado quanto a inclusões clamídias (OIE MANUAL, 2008). Amostras de fezes, ou outros tecidos contaminados são limpos por trabalho intensivo de centrifugação. A primeira passagem leva até seis dias, enquanto a segunda e a terceira levam três dias cada. Embora a cultura seja a única maneira de demonstrar diretamente *Chlamydochila psittaci*, o longo tempo de processamento da amostra é uma desvantagem no diagnóstico da enfermidade (GERLACH, 1994).

Tecidos de eleição da bactéria podem ser corados com a técnica de *Ziehl-Neelsen* modificada, proposta por KRAUTWALD-JUNGHANNS (2007), onde é possível visualizar as células eucariontes com aglomerados de inclusão intracitoplasmática, de coloração avermelhada. Testes sensíveis e específicos como ELISA estão disponíveis para detecção de antígenos de clamídia. O teste inicial foi desenvolvido para a espécie *Chlamydochila trachomatis*, porém, por se tratar de detecção através do antígeno LPS clamidial é utilizado com sucesso para detecção de *C. psittaci* (GERLACH, 1994; SACHSE et al. 2008).

Mesmo com a presença de títulos de anticorpos elevados, os corpos elementares das clamídias continuam sendo eliminados, devido ao seu caráter persistente. Mesmo após tratamento adequado, algumas aves podem ainda manter títulos elevados de anticorpos. Portanto, o diagnóstico pela presença de anticorpos nem sempre é adequado (RASO, 2004; NASPHV, 2010).

O DNA clamidial pode ser detectado pela Reação em Cadeia da Polimerase que é um método para detectar um DNA ou RNA específico de organismos em diferentes tipos de amostras, como sangue, secreções, exsudatos e fezes por exemplo. Este método é vantajoso por ser altamente específico e automatizado, apesar do alto risco de contaminação e altos custos. Para detecção de *Chlamydophila psittaci* coleta-se suabes de conjuntiva, coana e cloaca (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 2007).

De acordo com QUINN et al., (2005) tetraciclinas são os antibióticos de eleição para o tratamento da clamidiose em aves. As tetraciclinas alteram a replicação da bactéria inibindo a síntese de enzimas, o crescimento e a fissão binárias dos corpos reticulares, além de reorganização dos corpos elementares. A alteração do medicamento nos corpos elementares e reticulares é temporária e estes podem retomar a replicação normal em cinco dias, razão pela qual a terapia antimicrobiana é alongada para 30 dias no tratamento da clamidiose em aves (GUZMAN et al., 2010). O longo período de tratamento da clamidiose é também uma barreira no controle da enfermidade, visto que muitas vezes o período correto de tratamento não é seguido por proprietários ou criadores de aves.

Estudo em pombas infectadas com *C. psittaci* positivas no exame de PCR, foram tratadas com sucesso com uso de doxiciclina administrada na água de bebida. A dose e frequência utilizadas no estudo foram 0,5g/litro por 45 dias. A concentração de doxiciclina foi medida e após o tratamento os resultados para a PCR foram negativos. Aves testadas para a PCR após seis meses de tratamento não foram reagentes (PADILHA, 2005), mostrando que o mesmo foi efetivo. No entanto, segundo CUBAS (2007) a administração de medicamentos na água de bebida é mais indicada para galináceos, pássaros canoros, tucanos, anatídeos, pombas, ratitas e outras aves que não dispõem de paladar apurado. Como psitacídeos possuem maior paladar, costumam evitar água ou alimento com medicações. Dessa forma deve-se evitar administração de medicamentos na água

para aves dessa família, sendo que o ideal é que a administração via oral seja feita através de sondas rígidas.

Tratamentos alternativos com macrolídeos e quinolonas como a azitromicina, enrofloxacina e fluoroquinolona também são propostos (BUTAYE et al., 1997; GUZMAN et al., 2010; PROENÇA et al, 2010). Estudo de GUZMAN et al. (2010) testaram a eficácia dos tratamentos de doxiciclina e azitromicina durante 21 dias para infecção experimental em 30 cacatuas (*Nymphicus hollandicus*). Todas as aves foram positivas para a PCR, e após o tratamento os sinais clínicos foram eliminados.

BUTAYE et al. (1997) estudaram a eficácia *in vitro* dos quimioterápicos doxiciclina e enrofloxacina para *Chlamydia psittaci*. Os dois quimioterápicos foram eficazes não havendo resistência antimicrobiana. No entanto levantamento de tratamento de clamidiose em aves feito por PROENÇA et al. (2010), relataram que duas de doze aves tratadas com azitromicina a cada 48 horas permaneceram positivas no exame de PCR após o tratamento. Em psitacídeos, mesmo após tratamento adequado, algumas aves continuam a eliminar *Chlamydochlamydia psittaci* nas fezes (GERLACH, 1994). Por isso é necessário repetir novamente o exame diagnóstico e realizar um novo tratamento.

Não há vacinas comerciais disponíveis para a clamidiose em aves. Para o controle da enfermidade, aves recém-chegadas a uma criação devem ser mantidas em quarenta e serem submetidas a exames clínicos e laboratoriais. O manejo sanitário e transporte adequado minimizam a ocorrência da doença clínica (QUINN et al., 2005).

A presença de *Chlamydochlamydia psittaci* em diferentes famílias de aves silvestres foi relatada por ZWEIFEL et al. (2009). Foram testados por PCR em tempo real, 442 patos, 84 pombos, 527 passeriformes e 38 biguás. A presença de *C. psittaci* foi detectada em 19 patos, 12 pombos e um passeriforme. Esse estudo mostra que a bactéria também está presente em outras espécies de aves silvestres na natureza, além dos psitacídeos.

Não é possível avaliar o real impacto desta doença na saúde humana. Em apenas alguns países, a psitacose é uma doença de notificação obrigatória. O principal sinal clínico em humanos, a pneumonia grave, nem sempre é observada e a doença pode passar despercebida. Outro fator que contribui para a ausência do registro do episódio é que essa doença é de difícil diagnóstico. Portanto, é possível

apenas subestimar a frequência dos casos da doença em humanos (BEECKMAN & VANROMPAY, 2009).

Segundo RASO (2004), embora a clamidiose seja amplamente pesquisada no mundo, dados sobre a doença no Brasil são escassos. É necessário portanto, novos estudos para avaliar a presença de *Chlamydophila psittaci* em espécies de aves, visando uma maior compreensão da sua epidemiologia no nosso país.

1.3 *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*

Micoplasmas pertencem à ordem Mycoplasmatales e classe Mollicutes, são os menores procariotos de vida livre capazes de auto-replicação. Sua morfologia varia entre esféricos a filamentosos sendo desprovidos de parede celular, possuindo apenas uma tripla camada de membrana externa flexível. Dos nove gêneros dessa classe, cinco são de interesse veterinário. Os gêneros *Mycoplasma* e o *Ureaplasma* são os únicos com importância patogênica. Espécies do gênero *Acholeplasma* são descritas em infecções em animais, mas em geral como contaminantes (WALKER, 2003; OIE MANUAL, 2008).

Os mollicutes são classificados como Gram-negativos, no entanto por não possuírem parede celular não se coram bem pela coloração de Gram. Por isso para a identificação de micoplasmas é mais satisfatório o uso das colorações de Giemsa, Castañeda, Dienes e novo azul de metileno. A maioria dos gêneros são anaeróbios facultativos com exceção dos gêneros *Acholeplasma* e *Anaeroplasma* que são anaeróbios obrigatórios (WALKER, 2003).

O gênero *Mycoplasma* possui cerca de 100 espécies e abrange a maioria dos patógenos animais. Vinte espécies já foram isoladas em aves sendo as espécies *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis* e *M. iowae* as mais patogênicas para aves domésticas (STIPKOVITS & KEMPFT, 1996; NASCIMENTO & PEREIRA, 2009).

Para que se estabeleça a infecção os micoplasmas precisam se aderir as células do hospedeiro, como os macrófagos podendo prejudicar a função fagocitária. A ativação de macrófagos e monócitos libera citocinas, resultando no início da inflamação. Antígenos micoplásmicos podem ter reação cruzada com antígenos do hospedeiro. A capacidade de mimetismo molecular dos micoplasmas leva a capacidade de gerar infecções persistentes, uma vez que evita o reconhecimento pelo sistema imunológico (QUINN et al, 2005).

Frequentemente espécies de micoplasmas afetam galinhas e perus. A micoplasmose em aves domésticas tem consequências econômicas importantes na avicultura brasileira e mundial. No Brasil a importância na indústria aviária levou a criação da Instrução Normativa N° 14 de 29 de junho de 1999, que regulamenta a importação de pintos de um dia e ovos férteis de granjas livres e/ou controlados para *Mycoplasma* spp. (BRASIL, 1999).

A epidemiologia de micoplasmas em aves domésticas está bem esclarecida. Em muitas famílias de aves silvestres, entretanto, não estão bem documentadas (LIERZ et al., 2006; BUIM et al., 2009). Em aves silvestres a micoplasmose é mais frequente em passeriformes e pombos, essas aves desenvolvem sinais de conjuntivite unilateral ou bilateral acompanhada ou não de aumento do seio infraorbital (PHALEN et al., 2006).

Para o diagnóstico de micoplasmose a cultura bacteriológica tem particularidades como a necessidade de suplementação no meio de cultura com proteína animal, um componente esterol e uma fonte de DNA. Contudo os meios de ágar e caldo disponíveis são suplementados com soro equino e extrato de levedura a fim de suprir aminoácidos e vitaminas. Além disso, contêm antibióticos como penicilina e antifúngicos para evitar o crescimento de fungos e bactérias Gram-positivas. Outro inconveniente na cultura de micoplasmas é o fato de serem bactérias fastidiosas, exigindo em geral três a sete dias de incubação antes das colônias se tornarem aparentes (GERLACH, 1994; WALKER, 2003; NASCIMENTO & PEREIRA, 2009).

Amostras com a presença de espécies de *Mycoplasma* podem ser avaliadas imunologicamente ou por métodos de ácidos nucléicos. Como detecção de anticorpos fluorescentes, peroxidase-antiperoxidase em tecidos embebidos em parafina e técnicas de reação em cadeia da polimerase. Testes sorológicos como fixação do complemento, ELISA, testes de aglutinação rápida e inibição da hemaglutinação também são usados para diagnóstico de micoplasmas (QUINN et al., 2005).

Contudo o teste da reação em cadeia da polimerase está difundido no diagnóstico da micoplasmose na avicultura, visto que é um exame com alta sensibilidade e especificidade, rápido diagnóstico e usado para largas escalas. Estudos de novas técnicas de PCR multiplex foram desenvolvidos para o diagnóstico de *M. gallisepticum* juntamente com *M. synoviae* (NASCIMENTO et al., 1991; BUIM et al., 2009).

A espécie, *Mycoplasma gallisepticum*, que causa doença respiratória crônica em galinhas e perus é a mais frequente como patógeno em aves silvestres (BRADBURY et al., 1993; WALKER, 2003), sendo relatada como agente de conjuntivite em mais de vinte espécies de passeriformes (FARMER et al., 2005). A micoplasmose causada por *M. gallisepticum* compromete as vias aéreas

superiores, afetando seios e cavidades nasais, traqueia e brônquios. Acometem também os sacos aéreos, sendo esse órgão muitas vezes, o com maiores alterações patológicas (NASCIMENTO et al., 1991).

Mycoplasma synoviae afeta principalmente perus domésticos e também galinhas causando sinovite infecciosa e infecções subclínicas. *M. synoviae* pode levar a comprometimento do líquido sinovial das articulações e tendões, gerando laminites e outros problemas no aparelho locomotor. Já foi descrito ainda causando hepatite e esplenomegalia. A transmissão pelo ovo em *Mycoplasma synoviae* não é importante como em *M. gallisepticum* (YODER, 1997; DHONDT et al., 2007; OIE MANUAL, 2008).

Em silvestres as aves de rapina e urubus, se destacam na pesquisa por micoplasmas, onde novas espécies foram descritas. POVEDA et al. (1990) isolaram *Mycoplasma gypis* de abutres, enquanto OAKS et al. (2004) isolaram e identificaram subespécies de *M. vulturii* no abutre branco (*Gypsben galensis*). *Mycoplasma gallinarum*, *M. gallinaceume* *M. iners* já foram isolados em doença respiratória em falcão (*Falco peregrinus*) (POVEDA et al., 1990) e a espécie *M. corogypsi* já foi encontrada causando lesão podal em urubu (*Coragy psatratus*) (PANANGALA et al., 1993).

BRADBURY et al. (1987) isolaram *Mycoplasma cloacale* em diferentes famílias de aves, mostrando que essa espécie não é hospedeiro-específica. Membros da ordem Anseriformes são os hospedeiros mais comuns, no entanto essa foi isolada de amostras cloacais de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), pavão (*Meleagris gallopavo*), pica-pau (*Dendroco posminor*) e estorninho-malhado (*Sturnus vulgaris*).

Em psitacídeos *Mycoplasma gallisepticum* já foi investigado em papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*), pionus (*Pionus fuscus*), arara-canindé (*Ara ararauna*), papagaio do mangue (*Amazona amazônica*), jandaia (*Aratinga jandaya*), ararajuba (*Guarouba guarouba*) e arara azul (*Anodorhynchus hyacinthinus*) (GOMES et al., 2010).

Por não apresentarem parede celular micoplasmas são resistentes a antibióticos que atuam na parede como penicilinas, cefalosporinas e bacitracinas. Infecções clínicas são tratadas com tilosina, estreptomicina, eritromicina combinadas com clindamicina. Pombos tratados com estreptomicina e tilosina apresentaram resistência por isso a medicação administrada em água de bebida ou

alimento deve ser cautelosa. O tratamento com tetraciclina para micoplasmas é recomendada em casos de infecções em psitacídeos, pela semelhança entre micoplasmose e a clamidiose (GERLACH, 1994).

Embora psitacídeos desenvolvam frequentemente sinusite e conjuntivite por micoplasmas, não são hospedeiros comuns (PHALEN et al., 2006). Segundo PHALEN et al., (2006), a patogenicidade do micoplasma em psitacídeos ainda não está bem elucidada. Portanto é importante sua investigação, pois levam a doença clínica ou subclínica tornando o animal portador e imunossuprimido.

No Brasil há poucos relatos da presença de micoplasmas em psitacídeos mantidos em criadouros. Devido à importância do estudo de agentes infecciosos em animais silvestres para a conservação da biodiversidade, são necessárias novas pesquisas evidenciando a epidemiologia bem como a infecção de micoplasmas em psitacídeos de cativeiros no Brasil.

REFERENCIAS

1. ANDERSEN, A. A.; VANROMPAY, D. Avian Chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: SAYF, Y.M. **Disease of Poultry**. Iowa State Press, 11 ed. Ames, Iowa. 2003. p.863-879.
2. BEECKMAN, D. S. A.; VANROMPAY, D. C. G. Zoonotic *Chlamydothyla psittaci* infections from a clinical perspective. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, p. 11-17, 2009.
3. BIBERSTEIN, E. L.; HIRSH, D. C. Clamídias. In: HIRSH, D.C. & ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2003. p.163-166.
4. BRADBURY, J.M.; ABDUL-WAHAB, O.M.S.; YAVARI, C.A.; DUPIELLET, J.P.; BOV'E, J.M. Mycoplasma imitans sp. Nov. In Related to Mycoplasma gallisepticum and Found in Birds. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 43, n.4, p. 721-728, 1993.
5. BRADBURY, J.M.; VUILLAUME, A.; DUPIELLET, J.P.; FORREST, M. BIND, J.L.; GAILLARD-PERRIN, G. Isolation of Mycoplasma cloacale from a number of different avian host in great Britain and France. **Avian Pathology**, v. 16, p. 183-186, 1987.
6. BRASIL, Instrução Normativa nº14, de 29 de junho de 1999. Aprova as normas Técnicas para importação e exportação de aves de um dia e ovos férteis para incubação, destinados a reprodução. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 de jul. 1999. Seção I.
7. BRASIL. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis - IBAMA. **Instrução Normativa** nº 179 de 25 de junho de 2008.
8. BRASIL. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis - IBAMA. "Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção", MMA maio de 2003.
9. BUIM, M. R.; METTIFOGO, E.; TIMENETSKY, J.; KLEVEN, S.; FERREIRA, A. J. P. Epidemiological survey on *Mycoplasma gallisepticum* and *M.*

- synoviae* by multiplex PCR in commercial poultry. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V. 29, n.7, p.552-556, 2009.
10. BUTAYE, P.; DUCATELLE, R.; BACKER, P. DE, VERMEERSCH, H.; REMON, J. P.; HAESEBROUCK, F. In Vitro Activities of Doxycycline and Enrofloxacin against European *Chlamydia psittaci* Strains from Turkeys. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 12, p. 2800-2801, 1997.
 11. CUBAS, Z. S. Terapêutica. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 1202-1214
 12. DHONDT, K. V.; DHONDT, A. A.; LEY, D. H. Effects of route of inoculation on *Mycoplasma gallisepticum* infection in captive house finches. **Avian Pathology**. v. 36, n.6, p. 475-479, 2007.
 13. EVERETT, K. D. E.; BUSH, R. M.; ANDERSEN, A.A. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 49, p. 415-440, 1999.
 14. FARMER, K.L.; HILL, G.E.; ROBERTS, S.R. Susceptibility of wild songbirds to the house finch strain of *Mycoplasma gallisepticum*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 42, n.2, p. 317-325, 2005.
 15. GERLACH, H. Chlamydia. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. (Ed). **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, 1994. p.984-996.
 16. GOMES, A. M.; COSTA, L. L.; VILELA, D. A. R.; MARQUES, M. V. R.; CARVALHAES, A. G.; MARIN, S. Y.; COSTA, M. P.; HORTA, R. S.; RESENDE, J. S. MARTINS, N. R. S. Detection of *Mycoplasma gallisepticum* in Dead captive Psittacines in Belo Horizonte, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 12, n.2, p.75-78, 2010.
 17. GUZMAN, D. S. M.; FIGUEROA, O. D.; TULLY, T. Jr.; CIEMBOR, P.; MORGAN, T.; WALDEN, M.; POSTON, R. P.; FLAMMER, K.; MITCHELL, M.

- A.; RITCHIE, B. Evaluating 21-day Doxycycline and Azithromycin Treatments for Experimental *Chlamydophila psittaci* Infection in Cockatiels (*Nymphicushollandicus*) **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 24, n.1, p.35-45, 2010.
- 18.HARKINEZHAD, T.; GEENS, T.; VANROMPAY, D. *Chlamydophila psittaci* infections in birds: A review with emphasis on zoonotic consequences. **Veterinary Microbiology**. v.135, p. 68-77, 2009.
- 19.HIDASI, H. W. **Detecção de Enterobacteriaceae e Chlamydophila spp. em psitacídeos do Centro de Animais Selvagens de Goiás**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia.
- 20.IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis. Fauna: Informativo Técnico. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/fauna/cetas.php>. Acesso em: 14 jan. 2012.
- 21.KLEVEN, S.H.; KHAN M.I.; R. YAMAMOTO. Fingerprinting of Mycoplasma gallisepticum strains isolated from multiple age layers vaccinated with live F strain. **Avian Diseases**, v.34, p.984-990, 1990.
- 22.KOCH, M. Wildlife people, and development. **Tropical Animal Health and Production**. v. 28, p.68-80, 1996.
- 23.KRAUTWALD-JUNGHANNS, M. Aids to Diagnosis. In: COLES, B. (3Ed). **Essentials of Avian Medicine & Surgery Singapore**: Blackwell Publishing, 2007. p.71-75.
- 24.LIERZ, M.; HAGEN, N.; HARCOURT-BROWN, N.; HERNANDEZ-DIVERS, S. J.; LUESCHOW, D.; HAFEZ, H. M. Prevalence of mycoplasmas in eggs from Bird of prey using culture and a genus-specific mycoplasma-PCR . **Avian Pathology**. ID: CAVP-2006-0088.R3
- 25.LONGBOTTOM, D.; COULTER, L. J. Animal Chlamydioses and Zoonotic Implications. **The Journal of Comparative Pathology**, v.128, p. 217-244, 2003.
- 26.MANGINI, P. R.; SILVA, J. C. R. Medicina da Conservação. In: Cubas, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 222-227

27. NASCIMENTO, E. N.; YAMAMOTO, R.; HERRICK, K. R.; TAIT, R. C. Polymerase Chain Reaction for Detection of *Mycoplasma Gallisepticum*. **Avian Disease**. v. 35, p. 62-69, 1991.
28. NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A. Micoplasmoses. In: BERCHIERI, A. Jr.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2ed. 2009. p.485-495.
29. NASPHV – NATIONAL ASSOCIATION OF STATE PUBLIC HEALTH VETERINARIANS. **Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* infection among Humans (psittacosis) and pet birds (avian chlamydiosis)**. 2010. Disponível em: <http://avma.org/pubhlth/psittacosis.asp>. Acesso em: 22 jan. 2012.
30. OAKS, J.L.; DONAHOE, S.L.; RURANGIRWA, F.R.; RIDEOUT, B.A.; GILBERT, M.; VIRANI, M.Z. Identification of a novel *Mycoplasma* species from an oriental white backed vulture (*Gyps bengalensis*). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n.12, p. 5909–5912, 2004.
31. OIE – **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2008 – Avian Chlamydiosis**. Disponível em http://web.oie.int/eng/normes/MANUAL/2008/pdf/2.03.05_%20AVIAN_MYCO.pdf> Acesso em 02 fev. de 2012.
32. PACHECO, G.; BIER, O. Epizootia em papagaios no Brasil e suas relações com a psittacose. **Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**. v.4, p.89-121, 1931.
33. PADILHA, L. R.; FLAMMER, K.; MILLER, R. E. Doxycycline-Medicated drinking Water for Treatment of *Chlamydophila psittaci* in Exotic Doves. **Journal of Avian Medicine Surgery**. v. 19, n.2, p.88-91, 2005.
34. PANANGALA, V. S.; STRINGFELLOW, J. S.; DYBVIG, K., WOODARD, A., SUN, F.; ROSE, .L. & GRESHAM, M. M. *Mycoplasma corogypsi* sp. nov., a new species from the footpad abscess of a black vulture, *Coragyps atratus*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.43, p.585 – 590, 1993.
35. PHALEN, D. N.; LOGAN, K. S.; SNOWDEN, K. F. Encephalitozoon bellem infection as the cause of a unilateral chronic keratoconjunctivitis in an

- umbrella cockatoo (*Cacatua alba*) **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n.1, p.59-63, 2006.
36. POVEDA, J.B.; GIEBEL, J.; KIRCHOFF, H.; FERNANDEZ, A., Isolation of *Mycoplasmas* from buzzards, falcons and vultures. **Avian Pathology**, v. 19, p. 779–783, 1990.
37. PROENÇA, L. M. **Proteinograma sérico e parâmetros hematológicos de papagaios-verdadeiro (*Amazona aestiva*) e Araras-canindé (*Ararauna*) de cativeiro**. 2010. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Jaboticabal, São Paulo.
38. PROENÇA, L. M.; CARVALHO, C. M.; COSTA, E. L.; CARVALHO, A. M.; FAGLIARI, J. J. Estudo epidemiológico e avaliação de diferentes protocolos de tratamento para *Chlamydophila psittaci* em aves de companhia no Distrito Federal. **Anais do XIII Congresso da ABRAVAS**, Campos de Jordão, 2010. Disponível em: www.abravas.com.br. Acesso em: 22 jan. 2012.
39. QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia Veterinária e doenças infecciosas**. Ed. Artmed. Porto Alegre, 2005. p.193-200
40. RASO, T. F. Clamidiose. In: BERCHIERI, A. Jr.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2ed. Campinas, SP: FACTA, 2009. p.553-561
41. RASO, T. F.; BERCHIERI JR., A.; PINTO, A. A. Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive amazona parrot in Brazil. **Journal of Wildlife Medicine**. v.33, n.2, p.118-121, 2002.
42. RASO, T.F. ***Chlamydophila psittaci* em psitacídeos de vida livre e cativeiro e suas implicações à saúde pública**. 2004. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Jaboticabal, São Paulo-SP.
43. SACHSE, K.; VRETOU, E.; LIVINGSTONE, M.; BOREL, N.; POSPISCHIL, A.; LONGBOTTOM, D. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. **Veterinary Microbiology**. v. 135,n1, p. 2-21, 2008.

44. SCHMIDT, R. E.; REAVILL, D. R.; PHALEN, D. N. **Pathology of Pet and Aviary Birds**. Iowa, 2003. p. 35-36.
45. SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p.351-382.
46. STIPKOVITS, L.; KEMPFT, I. Mycoplasmosis in poultry. **Revue Scientifique et Technique – Office International des Épizooties**. v. 15, n^o 4, p.1495-1525, 1996.
47. TULLY, T. N.; HARRISON, G. J. Pneumonology. In RICHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L. N. **Avian Medicine: Principles and Application**. Wingers Publishing. Florida. 1994. p. 566-574.
48. WALKER, R. L. Mollicutes. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2003. p.155-162.
49. YODER, H. W. Jr. **Mycoplasmosis**. In: CALNEK, B. W.; BARNES, H. J.; BEARD, C. W. REID, W. M. YODER, H. W. Jr. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University Press, 1997. p.197-235
50. ZWEIFEL, D.; HOOP, RICHARD, H.; SACHSE, K.; POSPISCHIL, A.; BOREL, N. Prevalence of *Chlamydophila psittaci* in wild birds-potential risk for domestic poultry, pet birds, and public health? **European Journal of Wildlife Research**. 2009. DOI: 10.1007/s10344-009-0275-2

CAPÍTULO 2 – *Chlamydophila* spp. EM PSITACÍDEOS (FILO: CORDATA, ORDEM: PSITTACIFORMES) EM DIFERENTES CATIVEIROS NO ESTADO DE GOIÁS

RESUMO

O Brasil é o país com maior número de espécies de Psitacídeos. Estudos em aves de vida livre e cativeiro demonstram que a *Chlamydophila* é um importante patógeno para essas aves, onde foi identificada pela primeira vez. Essa pesquisa teve o objetivo de investigar a presença de *Chlamydophila* spp. através do método da reação em cadeia da polimerase (PCR) em psitacídeos de cativeiro. Foram avaliadas 300 aves da família Psittacidae provenientes do CETAS - Centro de Triagem de Animais Silvestres, de um criadouro comercial e um conservacionista, no estado do Goiás. Dentre as 41 espécies estudadas, exemplares de papagaios foram os mais acometidos, destacando o papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) (24/47 - 51%), seguido do papagaio galego (*Aliopsita xanthops*) (2/4 - 50%) e do papagaio campeiro (*Amazona ochrocephala*) (2/4 - 50%). Obteve-se um total de 25,6% de amostras positivas no CETAS, 26,4% no criadouro comercial e nenhuma no criadouro conservacionista. A presença de *Chlamydophila* spp. foi comparada em cada tipo de cativeiro através do Teste Exato de *Fischer*. Ocorreu diferença significativa entre as comparações feitas entre CETAS e criadouro conservacionista, entre o CETAS e os dois criadouros e entre o criadouro comercial e conservacionista. Os resultados obtidos no presente estudo assinalam o CETAS e o criadouro comercial como potencial fonte de infecção para clamidiose. Medidas de controle da clamidiose em criadouros de aves silvestres devem ser estabelecidas, evitando a persistência e manutenção da *Chlamydophila* em cativeiro e casos humanos da doença.

Palavras-chave: Avifauna, clamidiose, Psittacidae, Reação em cadeia da polimerase (PCR).

***Chlamydophila* spp. IN PSITTACINES (PHYLUM: CORDATA, ORDER: PSITTACIFORMES) FROM DIFFERENT CAPTIVITIES IN GOIAS STATE**

ABSTRACT

Brazil is the country with the largest number of species of birds from the Psittacidae family. *Chlamydophila* was first identified in Psittacidae, and studies in free-living and captive animals demonstrates that it is a major pathogen for these birds. The goal of the present study was to investigate the presence of *Chlamydophila* spp., using Polymerase Chain Reaction – PCR technique, in captive parrots. We analysed 300 birds of Psittacidae family, from three facilities in Goiás State: CETAS - Centro de Triagem de Animais Silvestres, a conservation and a commercial captivity. Among the 41 species studied, the most affected was the blue-fronted Amazon parrot (*Amazona aestiva*) (24/47 – 51%), followed by yellow-faced parrot (*Aliopsita xanthops*) (2/4 – 50%), and yellow-crowned parrot (*Amazona ocrocephala*) (2/4 – 50%). CETAS facility showed 25.6% of positive samples, while the commercial captivity showed 26.4%, and the conservation captivity had no positive samples (0%). The presence of *Chlamydophila* spp. was compared between each type of captivity through Fischer exact test, where significant differences were found between CETAS and conservation captivity, CETAS and both captivities combined, and between conservation and commercial captivities. Results indicates that CETAS and commercial captivity are potential source of infection for Chlamydiosis. Strategies to control Chlamydiosis should be established to avoid the persistence and maintenance of *Chlamydophila* in captivity, preventing further human cases of the disease.

Keywords: Avifauna, clamydiosis, Psittacidae, Polymerase chain reaction (PCR).

INTRODUÇÃO

A ordem Psitaciforme é composta por 80 gêneros e 332 espécies, das quais 80 espécies têm ocorrência no Brasil. A beleza e variedade de suas plumagens e a capacidade de imitar a voz humana, fizeram com que essas aves se tornassem populares, sendo conhecidas há centenas de anos (FORSHAM, 1977; GODOY, 2007).

No Brasil, 16 espécies de psitacídeos se encontram na “Lista de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção”, (BRASIL, 2003). Dentre essas, a espécie *Anodorhynchus glaucus* está completamente extinta, enquanto a espécie *Cyanopsitta spixii* encontra-se extinta na natureza. As outras espécies estão entre as categorias criticamente em perigo, em perigo e vulnerável.

A perda de habitat, a retirada de filhotes da natureza e a captura para retirada de penas estão entre as grandes causas dessa realidade. Outra questão que dificulta a conservação das espécies de psitacídeos é a falta de informações sobre a biologia, ecologia das espécies e seus principais patógenos. No Brasil *Chlamydophila psittaci* já foi isolada em papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*) e araras azuis (*Anodorhynchus hyacinthinus*) de vida livre no Pantanal sul mato-grossense (GUEDES, 2004; RASO, 2004).

Filhotes de psitacídeos estão expostos à contaminação por *Chlamydophila psittaci* através do ovo, exsudatos, fezes e alimentos regurgitados dos pais. Durante a alimentação dos filhotes, o alimento regurgitado pelas aves adultas, pode conter secreções contaminadas de Inglúvio, cavidade nasal e orofaringe. O ninho, que é um ambiente com substrato, úmido e de pouca aeração, é considerado um meio apropriado para a manutenção de *C. psittaci* na natureza. O ninho pode permanecer contaminado por um longo período, já que a bactéria pode sobreviver à dissecação e à ação direta do sol por meses (GERLACH, 1994; RASO, 2004).

A retirada de filhotes dos ninhos para suprir o comércio ilegal gera, entre outras consequências, estresse aos animais. Devido às más condições em que os animais são alojados, estes estão predispostos ao surgimento de doenças como clamidiose, salmonelose e infecções por *Escherichia coli*, bactérias excretadas nas fezes, por essas aves. Uma vez se tornando portador, um filhote de psitacídeo

excretará de forma intermitente *Chlamydophila psittaci* nas fezes (RASO, 2004; GERLACH, 1994; GODOY, 2007).

O destino de animais silvestres apreendidos pelos órgãos fiscalizadores no comércio ilegal são centros de reabilitação e de triagem de animais silvestres. Os centros de triagem de animais silvestres – CETAS, do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente – IBAMA, têm a função de receber, triar, tratar e destinar os animais silvestres resgatados ou apreendidos pelos órgãos fiscalizadores. Os destinos dos animais que chegam ao CETAS, podem ser os criadouros de animais silvestres comerciais e conservacionistas, zoológicos e também programas de soltura e reintrodução na natureza (IBAMA, 2012). Já que os centros de triagem e reabilitação são os primeiros locais de chegada dos animais, é importante à investigação dos principais agentes infecciosos que acometem a espécie em questão, além de programas de quarentena. A partir desse local, as aves serão destinadas e podem carrear agentes infecciosos para criadouros e, no caso de programas de soltura, para os ambientes naturais.

A instituição normativa 179 do IBAMA (BRASIL, 2008), normatiza a destinação dos animais silvestres apreendidos, resgatados ou entregues espontaneamente ao IBAMA. Dentre os exames exigidos, a presença de *Chlamydophila psittaci* em psitacídeos talvez seja o mais relevante. Essa bactéria é responsável pela principal zoonose transmitida por membros dessa família, e ainda pode contaminar o ecossistema com sorovares patogênicos de *C. psittaci*.

O presente trabalho teve como objetivo detectar a presença de *Chlamydophila* spp. em diferentes espécies de psitacídeos da fauna brasileira, mantidas no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), em criadouro comercial e conservacionista no estado de Goiás.

MATERIAL E MÉTODOS

Local

As amostras clínicas foram coletadas em psitacídeos mantidos em cativeiro no estado de Goiás. Os locais de coleta foram o CETAS - Centro de Triagem de Animais Silvestres, um criadouro conservacionista e um criadouro comercial, (ambos registrados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente – IBAMA). As análises foram realizadas no Laboratório de Diagnóstico Molecular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Coleta das amostras

A coleta de material biológico ocorreu no período de março a junho de 2011. Foram submetidas 300 aves à coleta que correspondeu a aproximadamente 30% do total de indivíduos da espécie em cada criação. Do total de 300 amostras 74, 121 e 105 corresponderam ao CETAS, criadouro comercial e criadouro conservacionista, respectivamente.

As aves foram capturadas dentro de seus respectivos recintos com a ajuda de um puçá e luvas de procedimento. Depois de capturada, a ave era contida manualmente e colocada disposta com o ventre para cima e corpo levemente inclinado. Um suabe foi introduzido na cloaca da ave, acondicionado em *Eppendorf* estéril e armazenado em caixa térmica resfriada com gelo em gel. As amostras permaneceram resfriadas até o envio ao laboratório onde foram acondicionadas a temperatura de -20°C em freezer.

A arara-canindé (*Ara ararauna*) (48/300 – 16%) foi à espécie com maior número de indivíduos com amostras coletadas, seguida pelo papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) (47/300 – 15,6%), o papagaio do mangue (*Amazona amazonica*) (19/300 – 6,3%), o periquito do encontro amarelo (*Brotogeris chiriri*) (17/300 – 5,6%), o periquitão-maracanã (*Aratinga leucophtalmos*) (17/300 – 5,6%), a arara-macaco (*Ara macao*) (12/300 – 4%), a jandaia-estrela (*Aratinga aurea*) (11/300 – 3,6%), a arara-vermelha (*Ara chloroptera*) (10/300 – 3,3%), a maracanã-pequena (*Diopctitaca nobilies*) (10/300 – 3,3%), a jandaia da testa vermelha (*Aratinga auricapillus*) (08/300 – 2,6%) e a arara-azul (*Anodorhynchus*

hyacinthinus) (07/300 – 2,3%). As demais espécies com material coletado tiveram amostras de cinco ou menos indivíduos. (TABELA 1).

TABELA 1 - Número de espécies submetidas à coleta por criadouro (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista), total e percentual de amostras por espécie coletada - Estado de Goiás, 2011

Nome popular	Espécie	CETAS	CM	CV	TOTAL	%
Arara-canindé	<i>Ara ararauna</i> (Linnaeus, 1758)	30	11	07	48	16%
Arara-vermelha	<i>Ara chloropterus</i> Gray, 1859	-	04	06	10	0,33%
Arara-macaco	<i>Ara macao</i> (Linnaeus, 1758)	-	06	06	12	4%
Arara-azul	<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i> (Latham, 1790)	-	02	05	07	2,3%
Papagaio do mangue	<i>Amazona amazonica</i> (Linnaeus, 1766)	01	14	04	19	6,3%
Papagaio-verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i> (Linnaeus, 1758)	13	32	02	47	15,6%
Papagaio-moleiro	<i>Amazona farinosa</i> (Boddaert, 1783)	-	01	03	04	1,3%
Papagaio de cara roxa	<i>Amazona brasiliensis</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	02	02	0,6%
Papagaio de peito roxo	<i>Amazona vinacea</i> (Kuhl, 1820)	-	-	01	01	0,3%
Papagaio da varzea	<i>Amazona festiva</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	01	01	0,3%
Papagaio-campeiro	<i>Amazona ochrocephala</i> (Gmelin, 1788)	-	03	01	04	1,3%
Chauá	<i>Amazona rhodocorytha</i> (Salvadori, 1890)	-	-	02	02	0,6%
Maitaca de cabeça azul	<i>Pionus menstruus</i> (Linnaeus, 1766)	01	03	01	05	1,6%
Maitaca-verde	<i>Pionus maximiliani</i> (Kuhl, 1820)	-	01	02	03	1%
Papagaio-galego	<i>Aliopiopsitta xanthops</i> (Spix, 1824)	01	02	01	04	1,3%
Jandaia da testa vermelha	<i>Aratinga auricapillus</i> (Kuhl, 1820)	01	05	02	08	2,6%
Jandaia-estrela	<i>Aratinga aurea</i> (Gmelin, 1788)	03	06	02	11	3,6%
Periquito da caatinga	<i>Aratinga cactorum</i> (Kuhl, 1820)	-	03	-	03	1%
Periquitão-maracanã	<i>Aratinga leucophthalma</i> (Statius Muller, 1776)	09	07	01	17	5,6%
Príncipe-negro	<i>Aratinga nenday</i> (Vieillot, 1823)	-	03	02	05	1,6%
Jandaia-amarela	<i>Aratinga solstitialis</i> (Linnaeus, 1766)	-	-	01	01	0,3%
Jandaia-verdadeira	<i>Aratinga jandaya</i> (Gmelin, 1788)	-	05	05	10	3,3%
Ararajuba	<i>Guarouba guarouba</i> (Gmelin, 1788)	-	02	02	04	1,3%
Maracanã do buriti	<i>Orthopsittaca manilata</i> (Boddaert, 1783)	-	01	02	03	1%
Maracanã de colar	<i>Primolius auricollis</i> (Cassin, 1853)	-	01	02	03	1%
Maracanã-verdadeira	<i>Primolius maracana</i> (Vieillot, 1816)	-	-	02	02	0,6%
Maracanã-pequena	<i>Diopsittaca nobilis</i> (Linnaeus, 1758)	01	03	06	10	3,3%
Periquito do encontro amarelo	<i>Brotogeris chiriri</i> (Vieillot, 1818)	14	03	-	17	5,6%
Periquito-rico	<i>Brotogeris tirica</i> (Gmelin, 1788)	-	03	-	03	1%
Cuiú-cuiú	<i>Pionopsitta pileata</i> (Scopoli, 1769)	-	-	01	01	0,3%
Sabiá-cica	<i>Triclaria malachitacea</i> (Spix, 1824)	-	-	01	01	0,3%
Marianinha de cabeça amarela	<i>Pionites leucogaster</i> (Kuhl, 1820)	-	-	03	03	1%

TABELA 1 - Número de espécies submetidas à coleta por cativoiro (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista), total e percentual de amostras por espécie coletada - Estado de Goiás, 2011

Nome popular	Espécie	CETAS	CM	CV	TOTAL	%
Marianinha de cabeça preta	<i>Pionites melanocephalus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	02	02	0,6%
Curica-verde	<i>Graydidascalus brachyurus</i> (Kuhl, 1820)	-	-	01	01	0,3%
Tiriba-pfrimeri	<i>Pyrrhura pfrimeri</i> Miranda-Ribeiro, 1920	-	-	16	16	5,3%
Tiriba-grande	<i>Pyrrhura cruentata</i> (Wied, 1820)	-	-	02	02	0,6%
Tiriba de testa azul	<i>Pyrrhura picta</i> (Statius Muller, 1776)	-	-	02	02	0,6%
Tiriba da orelha branca	<i>Pyrrhura leucotis</i> (Kuhl, 1820)	-	-	03	03	1%
Tiriba de barriga vermelha	<i>Pyrrhura perlata</i> (Spix, 1824)	-	-	03	03	0,9%

Continuação

Execução da reação em cadeia da polimerase – PCR

Extração do DNA

A extração de DNA foi realizada utilizando o *Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit* de acordo com o protocolo proposto no manual (5.3 - *Protocol for purification of genomic DNA from 50-300 µl whole blood and its cell fractions*). O eluato da extração foi armazenado a -20 em três alíquotas, até a realização dos testes de PCR.

Amplificação

Para a amplificação foi utilizado a seguinte sequência de oligonucleotídeos. CPF-(5'GCAAGACACTCCTCAAAGCC-3') e CPR-(5' CCTTCCCACATAGTGCCATC-3'). A sequência de primers correspondem à região do gene MOMP de *Chlamydiaceae*. O produto amplificado é de 264 pares de bases (pb). Para a amplificação foi preparado o mix para PCR, com volume total de 50µl, que correspondeu a 35,75 µl de água ultrapura, 5 µl de solução tampão de reação 10 x (500 nM KCl; 15 nM MgCl₂, 100 nM Tris- HCl, pH 9,0), 2 µl de MgCl₂ (50 nM), 1 µl da mistura de dNTPs (200 µM de cada nucleotídeo [dCTP, dATP, dGTP, dTTP]), 0,5 µl de cada primer (10 pmol/ µl), 0,25 µl de Taq DNA polimerase e 5 µl da amostra de DNA extraído (HEWISON et al, 1996).

Após a distribuição do mix e adição das amostras nos *Eppendorfs*, esses foram transferidos ao termociclador (MastercyclerPersonal, Eppendorf), programado para um ciclo de 94°C por 3 minutos, seguido por 40 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos e 72°C por 45 segundos, finalizando com uma fase extra de extensão a 72° C por 45 segundos.

Como controle positivo da reação, foi utilizado DNA de *Chlamydia psittaci* extraído a partir da vacina comercial para gatos Felocell CVR®-C (Pfizer Animal Health, Lincoln, NE, USA), através do *Illustra BloodGenomicPrep Mini Spin Kit*. Para controle negativo, foi empregado água ultrapura.

Evidenciação dos produtos amplificados

Para a evidenciação dos produtos amplificados, as amostras foram inoculadas em gel de agarose a 1,2% em tampão tris-borato-EDTA (TBE) (TRIS 1M; Ácido bórico 0,83M; EDTA 20mM). Foram submetidas à eletroforese sobre

90V, por cerca de 1 hora e 20 minutos e corado por 10 minutos com brometo de etídio (Pharmacia Biotech, Plus One – 10mg/mL).

A análise e visualização das bandas foi feita com auxílio do aparelho *Eletronic UV Transilluminator, Ultra-Lum*. Bandas que apresentaram aproximadamente 264 pb quando comparado ao marcador de peso molecular DNA (e invitrogen, 100pb DNA Ladder, 10 µg/mL – 50 µg) e controle positivo, foram consideradas amostras positivas.

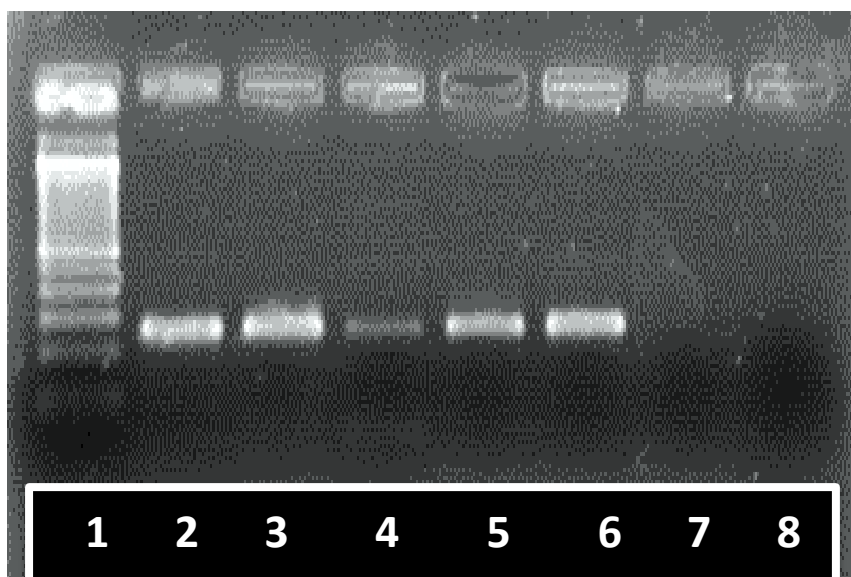


FIGURA 1 – Eletroforese das amostras de psitacídeos em cativeiro no Estado de Goiás, 2011. Produto de 264pb de *Chlamydophila* spp. obtidos pela PCR. 1- marcador de peso molecular; 2- controle positivo; 3 a 6- amostras positivas; 7 amostra negativa; 8 controle negativo.

Análise estatística

Os resultados foram comparados quanto à frequência de aves positivas, por espécie e local de coleta. Através do teste Exato de Fisher foram feitas análises separadas entre CETAS e criadouros combinados, CETAS e criadouro comercial, CETAS e criadouro conservacionista, e criadouro comercial e criadouro conservacionista. As análises foram feitas no *Quick Calcs – Online Calculators for Scientists* (GRAPHPAD SOFTWARE, 2012). Adotou-se como nível de significância 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas amostras de 16 gêneros e 41 espécies de psitacídeos da fauna brasileira mantidos em cativeiro no estado de Goiás. Dentre as espécies estudadas, onze apresentaram aves com amostras positivas à *Chlamydophila* spp.. Entre essas aves, o papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) foi o mais acometido (24/47 - 51%), seguido do papagaio-galego (*Alipiopsita xanthops*) (2/4 - 50%), do papagaio-campeiro (*Amazona ochrocephala*) (2/4 - 50%), da maitaca de cabeça azul (*Pionus menstruus*) (2/5 - 40%), do papagaio do mangue (*Amazona amazonica*) (7/19 - 36,8%), do periquito do encontro amarelo (*Brotogeris chiriri*) (4/17 - 23,5%), da jandaia da testa vermelha (*Aratinga auricaphilus*) (1/8 - 12,5%), do periquitão-maracanã (*Aratinga leucophtalmos*) (2/17 - 11,7%), da arara-canindé (*Ara ararauna*) (5/48 - 10,4%), da arara-vermelha (*Ara chloropthera*) (1/10 - 10%) e da arara-macaco (*Ara macao*) (1/12 - 8,33%) (TABELA 02).

TABELA 2 - Número de aves positivas para a pesquisa de *Chlamydophila* spp. pela reação em cadeia da polimerase (PCR) por cativeiro (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista) e percentual de aves positivas por espécie estudada - Estado de Goiás, 2011.

Nome popular	Espécie	CETAS	CM	CV	Total Positivos	Total Aves	%
Arara-canindé	<i>Ara ararauna</i>	-	05	-	05	48	10,4%
Arara-vermelha	<i>Ara chloropthera</i>	-	01	-	01	10	10%
Arara-macaco	<i>Ara macao</i>	-	01	-	01	12	8,3%
Papagaio do mangue	<i>Amazona amazonica</i>		07	-	07	19	36,8%
Papagaio verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	11	13	-	24	47	51%
Papagaio campeiro	<i>Amazona ochrocephala</i>		02	-	02	4	50%
Maitaca de cabeça azul	<i>Pionus menstruus</i>		02	-	02	5	40%
Papagaio-galego	<i>Alipiopsita xanthops</i>	01	01	-	02	4	50%
Jandaia da testa vermelha	<i>Aratinga auricaphilus</i>	01	-	-	01	8	12,5%
Periquitão-maracanã	<i>Aratinga leucophtalmos</i>	02	-	-	02	17	11,7%
Periquito do encontro amarelo	<i>Brotogeris chiriri</i>	04	-	-	04	17	23,5%

No presente estudo, os papagaios se sobressaíram quanto ao percentual de aves positivas (51%), reforçando o mencionado por GERLACH (1994) que os gêneros *Ara* (araras) e *Amazona* (papagaios) são mais suscetíveis à infecção por *Chlamydophila psittaci*.

O papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) teve maior percentual de amostras positivas (51%) no presente estudo. Esta espécie, embora não faça parte da “Lista de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção”, consta no Apêndice II da CITES (*Conservation on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) desde 1991.

A presença de *Chlamydophila psittaci* em papagaios-verdadeiro no Brasil vem sendo documentada tanto em vida livre como em cativeiro (PACHECO & BIER, 1931; RASO, 2002; RASO, 2004; HIDASI, 2010). Investigação de *Chlamydophila psittaci* em papagaios-verdadeiro em cativeiro foi demonstrada por RASO et al. (2002). As aves que foram submetidas à coleta de material biológico não demonstravam sinais clínicos aparentes e foram positivas em até 56,1%. Pesquisa de HIDASI (2010) investigou a presença de *Chlamydophila* spp. em 300 psitacídeos do Centro de Triagem de Animais Silvestres CETAS-GO. Dentre os animais reagentes à presença da bactéria, 36,4% eram do gênero *Ara* enquanto 63,7% do gênero *Amazona*. Pode-se dizer que os dados encontrados no presente estudo corroboram com os encontrados por HIDASI (2010).

O papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) é frequentemente encontrado como animal de estimação no Brasil (SICK, 1997; PINHO et al., 2000; SEIXAS & MOURÃO, 2000). Um surto de clamidiose em psitacídeos foi documentado em Belo Horizonte, em aves provenientes do comércio ilegal de animais silvestres. Dentre os 15 psitacídeos acometidos, 13 eram papagaios-verdadeiro (ECCO et al., 2009). Estudo realizado em dois municípios do Mato Grosso do Sul mostrou que essa espécie de papagaio representa 30% dos psitacídeos mantidos em cativeiro como animais de estimação (PINHO et al., 2000).

Como a *Chlamydophila psittaci* se mantém em populações de papagaios-verdadeiro de vida livre através de transmissão vertical e contato direto entre pais e filhos (RASO, 2004), uma vez que as aves sejam retiradas da natureza estarão pré-dispostas à clamidiose. Uma vez que sofrerão com os fatores negativos do tráfico de animais silvestres, como a superlotação de caixas de transporte e recintos, a má higiene e o estresse. Pode-se concluir que além dos fatores como a

perda de habitat natural, a retirada de ovos e filhotes dos ninhos para o comércio ilegal (SEIXAS & MOURÃO, 2000). A *Chlamydophila psittaci* também se mostra como mais uma barreira na conservação de psitacídeos contribuindo para o declínio de espécies na natureza.

Embora os papagaios e araras sejam os mais acometidos e estudados quanto à presença de *Chlamydophila psittaci*, no presente estudo observou percentual significativo de amostras positivas para as espécies de psitacídeos de pequeno porte, como *Pionus menstruus* (40%), *Brotogeris chiriri* (23,5%), *Aratinga auricapillus* (12,5%), *Aratinga leucophtalmos* (11,7%). ECCO et al. (2009) relatou óbito por clamidiose em um exemplar de jandaia estrela (*Aratinga aurea*) e um exemplar de maitaca verde (*Pionus maximilliani*). Esses dados afirmam a necessidade e importância de se realizar estudos sobre a evidência de *C. psittaci* em outras espécies de psitacídeos da fauna brasileira.

Não houve diferença significativa pelo Teste Exato de Fisher entre a frequência de animais infectados no CETAS e na criação comercial. Por outro lado, foram encontradas diferenças ($p < 0,05$) entre todas as outras comparações realizadas, ou seja, entre as frequências do CETAS e do criadouro conservacionista, entre as do CETAS e das duas criações combinadas, e entre os dois tipos de criações (TABELA 03).

TABELA 3 - Número de animais infectados e não infectados, e proporção e percentual de amostras positivas para a presença de *Chlamydophila* spp. em cada tipo de cativeiro, com o valor de p (Teste Exato de Fisher) para cada comparação realizada - Estado de Goiás, 2011

Criadouros	Não Infectados	Infectados	Proporção (Porcentagem)	p-valor
CETAS	55	19	19/74 (25,6%)	= 1.0000*
Comercial	89	32	32/121 (26,4%)	
CETAS	55	19	19/74 (25,6%)	< 0.0001*
Conservacionista	105	0	0/105 (0,0%)	
CETAS	55	19	19/74 (25,6%)	= 0.0314*
Conservacionista + Comercial	194	32	32/226 (14,2%)	
Comercial	89	32	32/121 (26,4%)	< 0.0001*
Conservacionista	105	0	0/105 (0,0%)	

* Valor de p significativo (nível de significância de 5%)

A presença de *Chlamydophila* spp. no CETAS (25,6%) e no criadouro comercial (26,4%), divergiu do resultado encontrado no criadouro conservacionista (0,0%). Por ser *C. psittaci* uma bactéria de eliminação intermitente nas fezes, não se pode afirmar que não há aves portadoras no criadouro conservacionista, mas que, no momento da coleta não houve eliminação de *C. psittaci* nas fezes pelas aves examinadas. O que pode ser resultado das melhores condições ambientais oferecidas pelo criadouro conservacionista. Contudo a eliminação intermitente da *Chlamydophila* prejudica determinados testes laboratoriais e favorece a ocorrência de resultados falso-negativos (GERLACH, 1994; GODOY, 2007).

O CETAS é um local de recebimento, triagem e destinação dos animais, enquanto que criadouros comerciais e conservacionistas são destinos possíveis para os animais do CETAS (IBAMA, 2012). Devido à alta rotatividade de animais em criadouros comerciais e CETAS é esperado que agentes infecciosos sejam carregados mais facilmente entre os dois estabelecimentos por transmissão direta e indireta entre os indivíduos.

Por outro lado, espera-se que criadouros conservacionistas não tenham uma grande rotatividade de animais se comparados aos CETAS e aos criadouros comerciais. Portanto, a probabilidade de uma ave infectada entrar no plantel de uma criação conservacionista é menor, o que preserva o ambiente contra agentes infecciosos. De qualquer maneira, segundo VILANI (2007), qualquer tipo de criação deve dispor de quarentenário para aves recém-chegadas e deve adotar protocolos sanitários, evitando epizootias de doenças infecciosas e parasitárias.

Na comparação de frequências entre o CETAS e os dois criadouros combinados também se obteve diferença significativa para a presença de *Chlamydophila* spp.. O CETAS recebe animais diariamente de todo o estado do Goiás. Muitos animais chegam debilitados ou mesmos doentes, sendo potenciais transmissores de patógenos. Embora o CETAS disponha de programas de quarentena, nem sempre é possível à realização de exames para pesquisa de agentes infecciosos. Além disso, a presença de animais portadores sem manifestação de sinais clínicos são importantes fontes de infecção, contribuindo para um ambiente menos sadio. Por outro lado, a análise realizada com os dados combinados dos dois criadouros podem estar influenciados pela ausência de *Chlamydophila* spp. no criadouro conservacionista. Esse fato pode ser evidenciado pela ausência de diferença significativa entre o CETAS e o criadouro comercial.

Segundo RASO et al. (2002) o manejo inadequado é frequentemente observado em criadouros de animais silvestres no Brasil. Isso dificulta o controle da clamidiose nos criadouros de aves silvestres. A persistência da clamidiose na propriedade pode ser um resultado de diversos fatores, como a falta de isolamento adequado das aves recém-chegadas, programas de quarentena falhos, infecções inaparentes e infecções crônicas, alimentação inadequada das aves, saneamento deficiente e superlotação dos recintos.

Em diversos casos não é possível estabelecer o diagnóstico de clamidiose, principalmente pelas dificuldades dos testes diagnósticos disponíveis (PROENÇA, 2010). O diagnóstico através do teste da reação em cadeia da polimerase (PCR) é o único teste disponível comercialmente no Brasil (GODOY, 2007; PROENÇA et al., 2010), e é de alto custo. Esse é um fator limitante para monitorar a bactéria em criações comerciais, conservacionistas e principalmente em centros de triagem, devido a falta de recursos.

Para o controle da *Chlamydophila psittaci* dentro de uma criação normas de biossegurança e sanitárias, bem como diagnósticos periódicos e tratamentos adequados devem ser adotados (VILANI, 2007; RASO, 2009). O longo período de tratamento é também uma barreira no controle da enfermidade dentro de uma propriedade, principalmente quando não há cumprimento do período de tratamento (BUTAYE, 1997; PROENÇA, 2010; GUZMAN et al., 2010). Criações de aves silvestres que adotem medidas e manejo adequados podem desenvolver seu papel dentro da conservação das espécies da fauna brasileira. Desenvolvendo programas de soltura no habitat natural, educação ambiental e ainda no banco de dados genéticos de espécimes ameaçados.

CONCLUSÃO

A bactéria *Chlamydophila* spp. esteve presente em psitacídeos de cativeiros no estado do Goiás. Os gêneros *Amazonas* e *Ara* foram os mais acometidos. O CETAS e o criadouro comercial apresentaram alta ocorrência de aves positivas para *Chlamydophila* spp. Por outro lado o criadouro conservacionista não teve amostras positivas, o que pode ser reflexo de uma maior qualidade de recintos, higiene e menor rotatividade de aves dentro do criadouro.

REFERENCIAS

1. BRASIL. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis - IBAMA. **Instrução Normativa** nº 179 de 25 de junho de 2008.
2. BRASIL. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis - IBAMA. “Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção”, MMA maio de 2003.
3. BUTAYE, P., DUCATELLE, R., BACKER, P. DE, VERMEERSCH, H., REMON, J. P., HAESEBROUCK, F. In Vitro Activities of Doxycycline and Enrofloxacin against European *Chlamydia psittaci* Strains from Turkeys. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 12, p. 2800-2801, 1997.
4. ECCO, R.; PREIS, I. S.; MARTINS, N. S.; VILELA, D. A. R.; SHIVAPRASAD, L. An outbreak of chlamydiosis in captive psittacines. **Brazilian Journal Veterinary Pathology**. v. 2, n.2, p.85-90, 2009.
5. FORSHAM, J. M. **Parrots of the world**. New Jersey: T.F.H. Publications, p. 584-585. 1977.
6. GERLACH, H. Chlamydia. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. (Ed). **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, 1994. p.984-996.
7. GODOY, S.N. Psittaciformes (Arara, Papagaio, Periquito). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 222-227.
8. GRAPHPAD SOFTWARE. [Online] *Calculators for Scientists*. Disponível em: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/contingency1.cfm> Acesso em 22 de jan. de 2012.
9. GUEDES, N. M. R. **Araras azuis: 15 anos de estudos no pantanal**. IV Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal – Corumbá-MS – 23 a 26 de nov 2004.
10. GUZMAN, D. S. M.; FIGUEROA, O. D.; TULLY, T. Jr.; CIEMBOR, P.; MORGAN, T.; WALDEN, M.; POSTON, R. P.; FLAMMER, K.; MITCHELL, M. A.; RITCHIE, B. Evaluating 21-day Doxycycline and Azithromycin Treatments for Experimental *Chlamydophila psittaci* Infection in Cockatiels (*Nymphicus*

- hollandicus*) **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 24, n.1, p.35-45, 2010.
11. HEWINSON, R. G.; GRIFFITHS, P. C.; BEVAN, B. J.; KIRWAN, S. E. S.; FIELD, M. E.; WOODWARD, M. J.; DAWSON, M. Detection of *Chlamydia psittaci* DNA in avian clinical samples by PCR. **Veterinary Microbiology**. v. 54, n.2, p.155-166, 1997.
 12. HIDASI, H. W. **Detecção de Enterobacteriaceae e Chlamydophila spp. em psitacídeos do Centro de Animais Selvagens de Goiás**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia.
 13. IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis. Fauna: Informativo Técnico. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/fauna/cetas.php> Acesso em: 14 jan. de 2012.
 14. PACHECO, G.; BIER, O. Epizootia em papagaios no Brasil e suas relações com a psittacose. **Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**. v.4, p.89-121, 1931.
 15. PINHO, J. B.; NOGUEIRA, F. M. B. Mostra da retirada de psitacídeos em cativeiro na cidade de Cuiba e Pantanal de Pocone, Mato Grosso, no período 1995-1997. **Ararajuba**, v.8, n.1, p.51-53, 2000.
 16. PROENÇA, L. M. **Proteinograma sérico e parâmetros hematológicos de papagaios-verdadeiro (*Amazona aestiva*) e Araras-canindé (*Ararauna*) de cativeiro**. 2010. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Jaboticabal, São Paulo.
 17. PROENÇA, L. M., CARVALHO, C. M., COSTA, E. L., CARVALHO, A. M., FAGLIARI, J. J. Estudo epidemiológico e avaliação de diferentes protocolos de tratamento para *Chlamydophila psittaci* em aves de companhia no Distrito Federal. **Anais do XIII Congresso da ABRAVAS**, Campos de Jordão, 2010. Disponível em: www.abravas.com.br. Acesso em: 22 jan. 2012.
 18. RASO, T. F. Clamidiose. In: BERCHIERI, A. Jr.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2ed. Campinas, SP: FACTA, 2009. p.553-561.

19. RASO, T. F.; BERCHIERI JR., A.; PINTO, A. A. Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive amazona parrot in Brazil. **Journal of Wildlife Medicine**. v.33, n.2, p.118-121, 2002.
20. RASO, T.F. ***Chlamydophila psittaci* em psitacídeos de vida livre e cativo e suas implicações à saúde pública**. 2004. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Jaboticabal, São Paulo.
21. SEIXAS, G. H. F.; MOURÃO, G. M. Assessment of restocking blue-fronted Amazon (*Amazona aestiva*) in the Pantanal of Brazil. **Ararajuba**, v.8, n.2, p.73-78, 2000.
22. SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p.351-382.
23. VANROMPAY, D.; DUCATELLE, R.; HAESBROUCK, F. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 45, p. 93-119, 1995.
24. VERMINNEN, K.; DUQYENNE, B.; KEUKELEIRE, D.; DUIM, B.; PANNEKOEK, Y.; BRAECKMAN, L.; VANROMPAY, D. Evaluation of a *Chlamydophila psittaci* infection diagnostic platform for Zoonotic Risk Assessment. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 46, n.1, 2008.
25. VILANI, R. G. D’O. C. Estrutura Hospitalar, Quarentenário e Centro de Triagem. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p.33-42.

CAPÍTULO 3 – *Mycoplasma gallisepticum* E *Mycoplasma synoviae* EM PSITACÍDEOS (FILO: CORDATA, ORDEM: PSITTACIFORMES) EM DIFERENTES CATIVEIROS NO ESTADO DE GOIÁS

RESUMO

Aves da família Psittacidae são frequentemente acometidas por bactérias Gram-negativas, capazes de provocarem lesões no trato respiratório. A micoplasmose é uma doença respiratória que pode acometer psitacídeos de forma clínica e subclínica. Esse estudo teve o objetivo de investigar a presença de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* em diferentes espécies de psitacídeos cativos no estado do Goiás. Foram examinadas um total de 300 amostras que corresponderam a 41 espécies de psitacídeos da fauna brasileira, provenientes do CETAS, criadouro comercial e criadouro conservacionista. Quatorze espécies foram positivas para a presença de *M. gallisepticum* destacando a maracanã-verdadeira (*Primolius maracana*) (01/02 - 50%), a arara-canindé (*Ara ararauna*) (15/48 - 33,3%) e a jandaia-verdadeira (*Aratinga jandaia*) (03/10 - 30%). As aves provenientes do CETAS obtiveram total de 21,62% (16/74) de amostras positivas, do criadouro comercial 15,7% (19/121) e do criadouro conservacionista 6,66% (7/105). Três espécies foram positivas para *M. synoviae* sendo essas, a maracanã-pequena (*Primolius maracana*) (1/10 – 10%), arara-macaco (*Ara macao*) (1/12 – 8,3%) e arara-canindé (*Ara ararauna*) (2/48 - 4,1%). O total de amostras positivas nos criadouros foi de 2,7% (2/74) no CETAS e 1,9% (2/105) no criadouro conservacionista. Não ocorreram amostras positivas para *M. synoviae* no criadouro comercial. Os resultados obtidos nesse estudo mostraram considerável número de amostras positivas de psitacídeos para *Mycoplasma gallisepticum*, evidenciando esses animais como fonte silenciosa de infecção para as demais aves, já que não apresentaram sintomatologia clínica. Portanto, é importante a investigação da presença de micoplasmas em psitacídeos de cativeiro, visando o controle da doença e à saúde dos animais.

Palavras-chave: Avifauna, micoplasmose, Psittacidae, reação em cadeia da polimerase.

***Mycoplasma gallisepticum* AND *Mycoplasma synoviae* IN PSITTACINES (PHYLUM: CORDATA, ORDER: PSITTACIFORMES) FROM DIFFERENT CAPTIVITIES IN THE STATE OF GOIÁS**

ABSTRACT

Birds of the Psittacidae family are often affected by Gram-negative bacteria that causes lesions in the respiratory tract. Mycoplasmosis is a respiratory disease that affects parrots in a clinical and subclinical way. The present study aimed to investigate the presence of *Mycoplasma galisepticum* and *M. synoviae* in different species of captive parrots, in Goiás state. A total of 300 samples were collected from 41 Brazilian species of Psittacidae at three captivities: CETAS - Centro de Triagem de Animais Silvestres, a conservation and a commercial captivity. Fourteen species presented positive samples for *M. galisepticum*, the most affected were blue-winged macaw (*Primolius maracana*) (01/02 - 50%), blue-and-yellow macaw (*Ara ararauna*) (15/48 - 33.3%), and jandaia parakeet (*Aratinga jandaia*) (03/10 - 30%). CETAS facility showed 21.62% (16/74) of positive samples, while the commercial captivity showed 15.7% (19/121), and the conservation captivity 6.66% (7/105). Only three species presented positive samples for *M. synoviae*: blue-winged macaw (*Primolius maracana*) (1/10 - 10%), scarlet macaw (*Ara macao*) (1/12 - 8.3%) and blue-and-yellow macaw (*Ara ararauna*) (2/48 - 4.1%). CETAS facility showed 2.7% (2/74) of positive samples, while the conservation captivity presented 1.9% (2/105), and no positive samples were found in the commercial captivity. Results showed a considerable number of positive samples for *M. galisepticum* in species of the Psittacidae family, indicating that these animals can be a silent source of infection for other birds, since they did not present clinical symptoms. Therefore, it is important to investigate the presence of *Mycoplasma* spp. in captive parrots, in order to control the disease, and provide health conditions to animals.

Keywords: Avifauna, clamydiosis, Psittacidae, polymerase chain reaction (PCR).

INTRODUÇÃO

O Brasil possui 1834 espécies de aves, destas 160 encontram-se na “Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção”. A família Psittacidae possui 80 espécies dentro do território nacional, sendo que 16 estão ameaçadas de extinção. A beleza e variedade das plumagens dos psitacídeos e a capacidade de imitar a voz humana fizeram com que psitacídeos se tornassem populares, sendo conhecidos há centenas de anos (FORSHAM, 1977; GODOY, 2007).

A arara azul grande, que está criticamente em perigo, foi estimada em 2.500 a 3.000 indivíduos na natureza (GUEDES, 2004). A perda do habitat natural devido à ação antrópica do homem coloca os psitacídeos em risco. Ainda de acordo com GUEDES (2004), ao longo do tempo muitas aves foram retiradas na natureza para alimentar o comércio ilegal de filhotes e penas. Projetos de pesquisas envolvendo educação ambiental, hábitos alimentares, biologia e conservação de psitacídeos são importantes para a preservação das espécies e do habitat. O projeto arara azul no pantanal sul-mato-grossense, por exemplo, conseguiu aumentar o número de indivíduos de araras na natureza (GUEDES, 2004; SEIXAS, 2009; NETO et al., 2008).

No entanto a pesquisa sobre os principais patógenos que acometem animais silvestres também é importante para sua preservação. Dantes muitos pesquisadores conservacionistas ignoravam a importância de epizootias em populações de animais silvestres, não considerando essas uma ameaça ao habitat natural. Porém, nos tempos atuais estudos de patógenos em animais silvestres de vida livre e de cativeiro, estão sendo levados em consideração, significando um importante aspecto para a conservação dos mesmos (MANGINI & SILVA, 2007; CATÃO-DIAS, 2012).

Espécies de *Mycoplasma* são importantes patógenos para aves domésticas e aves silvestres em cativeiros e de vida livre. Micoplasmas pertencem à classe Mollicutes e são desprovidos de parede celular, por isso, sua morfologia pode variar entre esféricos a filamentosos e são considerados as menores bactérias com cerca de 100 espécies descritas (QUINN et al., 2005; LIERZ et al., 2008).

A transmissão é principalmente horizontal por meio de aerossóis de aves portadoras. A transmissão venérea por meio do acasalamento ou inseminação artificial também ocorre e por contágio direto com outras aves ou ainda indireto por

meio de pessoas, animais, ração, água e fômites (NASCIMENTO & PEREIRA, 2009).

Galinhas e perus são frequentemente acometidos pelas espécies *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae* que são de grande importância econômica, causando perdas em vários países todos os anos (BUCHALA et al., 2006). *M. gallisepticum* causa a enfermidade denominada de doença respiratória crônica que afeta principalmente filhotes, enquanto nas aves adulta leva a, maiormente a problemas reprodutivos com queda na postura de ovos (YODER, 1997).

Em aves silvestres micoplasmas afetam principalmente a ordem dos Passeriformes, que compreende cerca de 59,1% do total de aves do planeta. A espécie *Carpodacus mexicanus* é frequentemente acometida e esta envolvida em conjuntivites, surtos e infecções experimentais com *Mycoplasma gallisepticum* (FARMER et al., 2005; GRODIO et al., 2008). Cerca de 30 espécies de passeriformes são conhecidas por desenvolverem conjuntivite por *Mycoplasma gallisepticum* (DHONDT et al., 1998).

Por abrigarem espécies de micoplasmas, passeriformes, pombas e aves domésticas podem ser fontes de infecção para psitacídeos e outras aves silvestres. Aves da família Psittacidae desenvolvem a micoplasmose clínica, mas também podem ser portadoras assintomáticas, servindo de fonte de infecção para as demais aves e gerando grande debilidade em seu sistema imune (GERLACH, 1994).

Considerando que a micoplasmose pode gerar doença clínica em psitacídeos e que estudos sobre animais portadores no Brasil são escassos, o presente estudo teve como objetivo investigar as espécies *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* em membros da família Psittacidae em cativeiro no estado de Goiás.

MATERIAL E MÉTODOS

Local

As amostras clínicas foram coletadas em aves da família Psittacidae mantidas em cativeiro no estado de Goiás. Os locais de coleta foram o CETAS - Centro de Triagem de Animais Silvestres, um criadouro conservacionista e um criadouro comercial, (ambos registrados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente – IBAMA). As análises foram realizadas no Laboratório de Diagnóstico Molecular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Coleta das amostras

A coleta de material biológico ocorreu no período de março a junho de 2011. Foram submetidas 300 aves à coleta que correspondeu a aproximadamente 30% do total de indivíduos da espécie em cada criação. Do total de 300 amostras 74, 121 e 105 corresponderam ao CETAS, criadouro comercial e criadouro conservacionista, respectivamente.

As aves foram capturadas com puçá e luvas de procedimentos. Foram colocadas dispostas com o ventre para cima e corpo levemente inclinado, então um suabe foi introduzido na coana e orofaringe, tendo sido previamente lubrificado com solução salina. Após coleta o suabe foi acondicionado em tubo *Eppendorf* estéril e mantido sob refrigeração até o transporte para o laboratório, onde foram acondicionados a temperatura de -20°C em freezer e posteriormente processados pela técnica da reação em cadeia da polimerase.

A arara-canindé (*Ara ararauna*) (48/300 – 16%) foi à espécie com maior número de indivíduos com amostras coletadas. Em sequência, as espécies com mais amostras foram o papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) (47/300 – 15,6%), o papagaio do mangue (*Amazona amazonica*) (19/300 – 6,3%), o periquito do encontro amarelo (*Brotogeris chiriri*) (17/300 – 5,6%), o periquitão-maracanã (*Aratinga leucophthalmos*) (17/300 – 5,6%), a arara-macaco (*Ara macao*) (12/300 – 4%), a jandaia-estrela (*Aratinga aurea*) (11/300 – 3,6%), a arara-vermelha (*Ara chloroptera*) (10/300 – 3,3%), a maracanã-pequena (*Diopscitaca nobilias*) (10/300 – 3,3%), a jandaia da testa vermelha (*Aratinga auricaphilus*) (08/300 – 2,6%) e a

arara-azul (*Anodorhynchus hyacinthinus*) (07/300 – 2,3%). As demais espécies com material coletado tiveram amostras de cinco ou menos indivíduos.

Execução da reação em cadeia da polimerase – PCR

Extração do DNA

O protocolo seguido foi o proposto por LAUERMAN (1995). Após o descongelamento as amostras foram acrescidas de 1mL de água-ultra pura e foram imergidas e mantidas em banho-maria com água fervente por 10 minutos, seguido de resfriamento a -20°C por mais dez minutos e então centrifugadas a 14.000g por 5 minutos.

Amplificação da amostra

As sequências dos oligonucleotídeos utilizados para *Mycoplasma gallisepticum* foram: *M. gallisepticum*-14 (5'-GAG CTA ATC TGT AAA GTT GGTC – 3') e *M. gallisepticum*-13 (5'-GCT TCC TTG CGC TTA GCA AC – 3'). O produto amplificado é de 180 pares de bases (pb). Para *Mycoplasma synoviae* foram utilizados os seguintes oligonucleotídeos: *M. synoviae* forward (5'-GAG AAG CAA AAT AGT GAT ATC A – 3') e *M. synoviae* reverse (5'-CAG TCG TCT CCG AAG TTA ACA A – 3'). Que amplificam um produto de 211 pares de bases (pb).

Para cada 5 µL de amostra foram preparados 45 µL do mix para amplificação do DNA. Portanto, 30,75 µL água ultra-pura (mili-Q); 5,00 µL 10 X solução tampão (Buffer 10 x reaction); 1,00 µL base nitrogenada dATP (10 mM); 1,00 µL base nitrogenada dCTP(10mM); 1,00 µL base nitrogenada dGTP(10 mN); 1.00 µL base nitrogenada dTTP(10mN); 0,50 µL *primer* F (20 pMol/ µL); 0,50 µL *primer* R (20 pMol/ µL); 0,25 µl Taq polimerase DNA; 4,00 µL *M. gallisepticum* MgCl₂(50 nM) (LAUERMAN, 1995).

Após preparar 45 µL do mix de amplificação do DNA e adicionar 5 µL da amostra estas foram levadas ao termociclador, programado com uma sequência de 40 ciclos na temperaturas e tempos de 94 °C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos e 72 °C por mais 60 segundos. Após o último ciclo a reação foi finalizada com um período extra de extensão de 5 minutos a 72 °C.

Evidenciação dos produtos amplificados

Após a amplificação das amostras, essas foram aplicadas em gel de agarose a 1,2% corado com brometo de etídio (Pharmacia Biotech, Plus One – 10mg/mL). As amostras foram submetidas à eletroforese a 80v por 1 a 2 horas e as bandas visualizadas e analisadas com auxílio do aparelho *Eletronic UV Transilluminator, Ultra-Lum*. Para a determinação do tamanho dos fragmentos amplificados, foi utilizado, para cada corrida de eletroforese, 5 mg de marcador de peso molecular de 100pb (e-invitrogen, 100pb DNA Ladder, 10 µg/mL – 50 µg). Os resultados foram capturados e gravados utilizando o sistema de imagem digital (*Doc Print, Vilber Lourmat*).

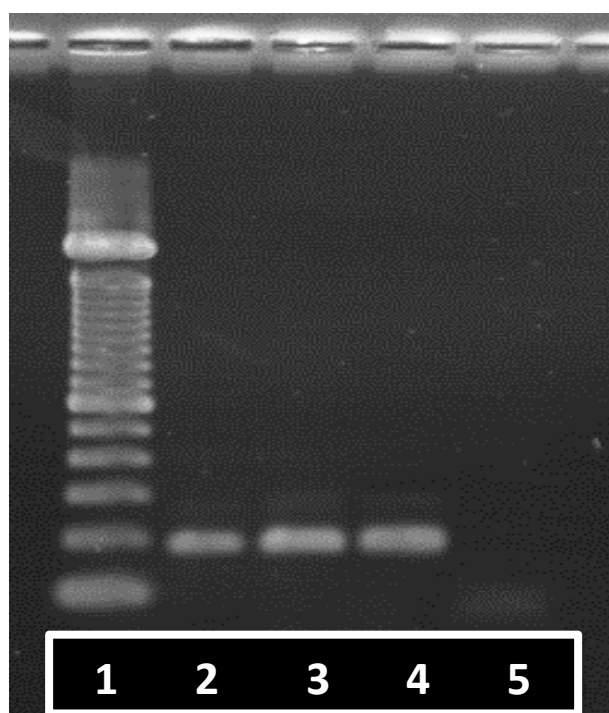


FIGURA 1 – Eletroforese das amostras de psitacídeos em cativeiro no Estado de Goiás, 2011. Produto de 180pb de *Mycoplasma gallisepticum* obtidos pela PCR. 1- marcador de peso molecular; 2- controle positivo; 3 e 4- amostras positivas; 5 controle negativo.

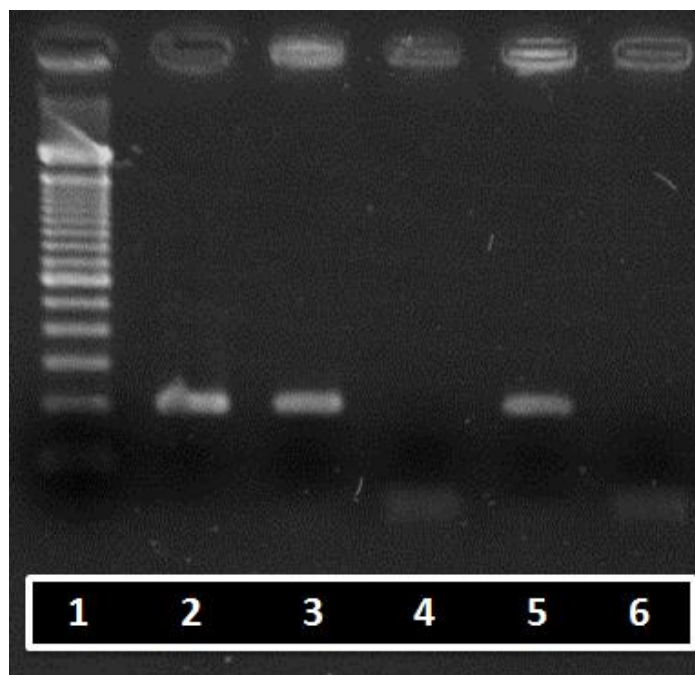


FIGURA 2 – Eletroforese das amostras de psitacídeos em cativeiro no Estado de Goiás, 2011. Produto de 211pb de *Mycoplasma gallisepticum* obtidos pela PCR. 1- marcador de peso molecular; 2- controle positivo; 3 e 5- amostras positivas; 4- amostra negativa; 6- controle negativo.

Análise estatística

Os resultados foram comparados quanto à frequência de aves positivas, por espécie e local de coleta. Através do teste Exato de Fisher foram analisadas as diferenças entre as frequências de amostras positivas a *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* dos diferentes locais de coleta, sendo que foram feitas análises separadas entre CETAS e criadouros, CETAS e criadouro comercial, CETAS e criadouro conservacionista, e criadouro comercial e criadouro conservacionista. As análises foram feitas no *QuickCalcs – Online Calculators for Scientists* (GRAPHPAD SOFTWARE, 2012). Adotou-se como nível de significância 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* foi investigada em 41 espécies de psitacídeos da fauna brasileira. Encontrou-se um total de em 14 espécies de aves positivas a *M. gallisepticum* e três para *M. synoviae*.

A maracanã-verdadeira (*Primolius maracana*) foi a ave com maior percentual de amostras positivas (01/02 - 50%), porém essa apresentou apenas um indivíduo. A arara-canindé (*Ara ararauna*) (15/48 - 32,%) foi a segunda com maior percentual de amostras positivas, seguida da jandaia-verdadeira (*Aratinga jandaia*) (03/10 - 30%), ararajuba (*Guarouba guarouba*) (01/04 - 25%), papagaio-galego (*Alipopsita xantrops*) (01/04 - 25%), papagaio-campeiro (*Amazona ochrocephala*) (01/04 - 25%), papagaio do mangue (*Amazona amazônica*) (04/19 - 21%), príncipe-negro (*Aratinga nenday*) (01/05 - 20%), jandaia-estrela (*Aratinga aurea*) (02/11 - 18,18%), papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) (07/47 - 14,89%), periquito do encontro amarelo (*Brotogeris chiriri*) (02/17 - 11,76%), maracanã-pequena (*Diopcitaca nobilies*) (01/10 - 10%), arara-vermelha (*Ara chloropthera*) (01/10 - 10%), arara-macao (*Ara macao*) (01/12 - 8,33%). (TABELA 1).

TABELA 1. - Número de aves positivas para a pesquisa de *Mycoplasma gallisepticum* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) por cativo (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista) e percentual de aves positivas por espécie estudada - Estado de Goiás, 2011

Nome popular	Espécie	CETAS	CM	CV	TOTAL Positivos	Total aves	%
Arara-canindé	<i>Ara ararauna</i>	10	05	-	15	48	32,0%
Arara-vermelha	<i>Ara chloroptera</i>		01	-	01	10	10%
Arara-macaco	<i>Ara macao</i>	-	01	-	01	12	8,33%
Papagaio do mangue	<i>Amazona amazonica</i>	01	03	-	04	19	21%
Papagaio-verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	03	04	-	07	47	14,89%
Papagaio-campeiro	<i>Amazona ochrocephala</i>	-	01	-	01	4	25%
Papagaio-galego	<i>Alipiopsita xanthops</i>	-	01	-	01	4	25%
Jandaia-estrela	<i>Aratinga aurea</i>	01	01	-	02	11	18,18%
Príncipe-negro	<i>Aratinga nenday</i>	-	-	01	01	5	20%
Jandaia-verdadeira	<i>Aratinga jandaia</i>	-	-	03	03	10	30%
Ararajuba	<i>Guarouba guarouba</i>	-	01	-	01	04	25%
Maracanã-verdadeira	<i>Primolius maracana</i>	-	-	01	01	02	50%
Maracanã-pequena	<i>Diopcitaca nobilies</i>	-	-	01	01	10	10%
Periquito do encontro amarelo	<i>Brotogeris chiriri</i>	01	01	-	02	17	11,76%

As aves maracanã-pequena (*Primolius maracana*), arara-macaco (*Ara macao*) e arara-canindé (*Ara ararauna*) foram positivas em 10%, 8,3% e 4,1% para *Mycoplasma synoviae*, respectivamente. Um indivíduo de maracanã pequena foi positivo para as duas espécies de micoplasma estudada, entretanto, o mesmo não ocorreu para as outras três espécies positivas. (TABELA 2).

TABELA 2 - Número de aves positiva para a pesquisa de *Mycoplasma synoviae* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) por cativo (CETAS; CM – criadouro comercial; CV – criadouro conservacionista) e percentual de aves positivas por espécie estudada - Estado de Goiás, 2011

Nome popular	Espécie	CETAS	CM	CV	Total Positivos	Total Aves	%
Arara-canindé	<i>Ara ararauna</i>	2	-	-	2	48	4,16%
Arara-macaco	<i>Ara macao</i>	-	-	1	1	12	8,3%
Maracanã-pequena	<i>Diopcitaca nobilies</i>	-	-	1	1	10	10%

A espécie *Ara ararauna* foi a segunda com maior percentual de amostras positivas para *Mycoplasma gallisepticum* e foi a espécie com maior número de amostras positivas para *Mycoplasma synoviae*. É sabido que as araras-canindé se encontram em grande número em criadouros, zoológicos e centros de triagem. Uma vez que, junto com o papagaio verdadeiro (*Amazona aestiva*) se situa entre as espécies de psitacídeos mais populares e frequentemente comercializadas (PINHO et al., 2000; NASCIMENTO et al., 2010).

Além do grande volume de araras-canindé em cativeiros, a micoplasmose assintomática em aves, debilita o sistema imune do hospedeiro pré-dispondo a infecções. Pesquisas de patógenos em psitacídeos no Brasil mostram que dentre as espécies desta família *Ara ararauna* está frequentemente acometida pelos agentes investigados (BELO, 2007; SILVA et al., 2008).

GOMES et al. (2010) avaliaram pela técnica de PCR para pesquisa de *Mycoplasma gallisepticum*, 140 amostras de suabes coletados na fenda palatina, traqueia e cloaca de psitacídeos mortos em Belo-Horizonte. A arara-canindé foi a ave com maior percentual de amostras positivas (80%). Sugere-se que a grande ocorrência de patógenos em araras-canindé de cativeiro seja devido a fatores negativos como alta-densidade, contato com aves de outras famílias, má-higiene de recintos e estresse, que é agravado no transporte das aves em permutas entre cativeiros ou para o comércio.

O CETAS e o criadouro comercial tiveram alta ocorrência de aves positivas para a presença de *Mycoplasma gallisepticum*, 21,62% e 15,70%, respectivamente. Por outro lado o criadouro conservacionista teve um resultado significativamente menor com 14% de amostras positivas. (TABELA 3).

São escassos os relatos na literatura da presença de *Mycoplasma synoviae* em psitacídeos. Contudo os resultados obtidos para a presença de *M. synoviae* no presente estudo demonstraram a baixa ocorrência deste patógeno em aves desta família. No criadouro comercial (0/121 - 0,0%) não ocorreram amostras positivas para *M. synoviae*, diferentemente do criadouro conservacionista (2/105 - 1,9%) e do CETAS (2/74 - 2,7%). (TABELA 3).

TABELA 3 - Percentual de psitacídeos reagentes nos três estabelecimentos estudados para a presença de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* - Estado de Goiás, 2011

	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<i>Mycoplasma synoviae</i>
CETAS	16/74 (21,62%)	2/74 (2,7%)
Comercial	19/121 (15,70%)	0/121 (0,0%)
Conservacionista	7/105 (6,66%)	2/105 (1,9%)
TOTAL	42/300 (14%)	4/300 (1,3%)

Os resultados obtidos pelo Teste Exato de *Fisher* para *Mycoplasma gallisepticum* revelaram diferença significativa entre CETAS e o criadouro conservacionista, entre CETAS e os criadouros e entre o criadouro comercial e criadouro conservacionista. A diferença encontrada entre o CETAS e o criadouro comercial não foi significativa (TABELA 4).

TABELA 4 - Número de animais infectados e não infectados por *Mycoplasma gallisepticum* em cada tipo de criadouro, com o valor de p (Teste Exato de *Fischer*) para cada comparação realizada - Estado de Goiás, 2011

Criadouros	Não Infectados	Infectados	p-valor
CETAS	58	16	= 0.3381
Comercial	102	19	
CETAS	58	16	=0.0055*
Conservacionista	98	7	
CETAS	58	16	=0.0348*
Conservacionista + Comercial	200	26	
Comercial	102	19	= 0.0388*
Conservacionista	98	7	

* Valor de p significativo (nível de significância de 5%)

Devido à baixa presença de aves positivas para *Mycoplasma synoviae*, não foi observada também diferença significativa entre os cativeiros estudados (TABELA 5).

Tabela 5 - Número de animais infectados e não infectados por *Mycoplasma synoviae* em cada tipo de criadouro, com o valor de p (Teste Exato de Fischer) para cada comparação realizada - Estado de Goiás, 2011

Criadouros	Não Infectados	Infectados	p-valor
CETAS	72	2	= 0.1428
Comercial	121	0	
CETAS	72	2	=1.0000
Conservacionista	103	2	
CETAS	72	2	= 0.2554
Conservacionista + Comercial	224	2	
Comercial	121	0	= 0.2147
Conservacionista	103	2	

* Valor de p significativo (nível de significância de 5%)

A alta ocorrência de aves positivas para *Mycoplasma gallisepticum* no CETAS pode estar relacionada com o contato direto e indireto de psitacídeos com aves hospedeiras de micoplasmas como os passeriformes. Segundo WIEDERHECKER et al. (2011) no período de 2007 a 2010 dentre as ordens de aves silvestres recebidas no CETAS-GO, Centro de Triagem de Animais Silvestres - Goiânia, as aves das ordens Passeriforme e Psitaciforme foram as mais recebidas. Devido à boa adaptação de *M. gallisepticum* ao organismo de aves passeriformes, alguns autores consideram a bactéria parte da microbiota das aves desta família (FARMER et al., 2005).

Pesquisa de DUARTE et al. (2006) revelaram 29% de passeriformes reagentes a *Mycoplasma* spp. De acordo com NASCIMENTO & PEREIRA (2009) a transmissão de micoplasmas ocorre geralmente entre espécies de hospedeiros estreitamente relacionados. Contudo, é possível que a proximidade de gaiolas ou viveiros de passeriformes com viveiros de psitacídeos, possa favorecer a infecções. Assim como a presença de aves de vida livre, como os pardais, que são considerados dispersores e por tanto se sugere que possam aumentar significativamente o número de psitacídeos positivos para *M. gallisepticum* (KLEVEN & FLETCHER, 1983).

O CETAS e o criadouro comercial não tiveram diferença significativa entre as frequências obtidas. O criadouro comercial não cria aves passeriformes,

portanto, esses não podem ser considerados a fonte de infecção para os psitacídeos. De acordo com (WALKER, 2003) a fonte primária de infecção para micoplasmas é o hospedeiro infectado. Por isso é importante que se investigue a presença de micoplasmas em aves recém-chegadas ao plantel, visto que a introdução de um psitacídeo infectado em um criadouro contribuirá para a disseminação e manutenção do agente dentro de uma população.

A diferença encontrada entre o CETAS e os dois criadouros provavelmente é devido a alta ocorrência de amostras positivas no criadouro comercial uma vez que a comparação CETAS e criadouro conservacionista não foi significativa. De acordo com WALKER (2003), medidas de biossegurança como a boa higiene e manejo adequado diminuem a incidência de micoplasmas em uma criação. Contudo a baixa ocorrência de *Mycoplasma gallisepticum* no criadouro conservacionista (6,66%) pode ser devido a um manejo sanitário adequado, bem como uma baixa densidade de aves dentro do mesmo recinto. Além disso, por ser uma criação conservacionista espera-se que esta tenha menor risco de infecções cruzadas, visto que não tem a mesma casuística de entrada e saída de aves como no CETAS e em criadouros comerciais, diminuindo a entrada de aves portadoras.

Devido a capacidade de gerar infecção em psitacídeos e pela debilidade ao sistema imune gerado pelo *Mycoplasma gallisepticum* em aves portadoras (BRADBURY et al., 1993), a presença deste agente em aves desta família deve receber maior atenção. Evitando a entrada de animais portadores dentro de um estabelecimento através de exames diagnósticos, programas de quarentena e tratamento correto das aves com infecção clínica e subclínica.

CONCLUSÃO

A bactéria *Mycoplasma gallisepticum* esteve presente nos três cativeiros estudados e positiva em diferentes espécies de aves da família Psittacidae investigadas. As espécies *Ara ararauna*, *Primolius maracana* e *Aratinga jandaia* foram as mais acometidas. A ocorrência de *Mycoplasma synoviae* foi baixa no CETAS e criadouro conservacionista. Não ocorreram amostras positivas a esse agente no criadouro comercial. As espécies *Ara ararauna*, *Ara macao* e *Diopcitaca nobilies* tiveram amostras positivas.

REFERENCIAS

1. BELO, N. O. **Ocorrência de *Plasmodium* spp. em aves silvestres da família Psittacidae mantidas em cativeiro no Brasil.** Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil. 2007.
2. BRADBURY, J.M.; ABDUL-WAHAB, O.M.S.; YAVARI, C.A.; DUPIELLET, J.P.; BOV'E, J.M. *Mycoplasma imitans* sp. Nov. In Related to *Mycoplasma gallisepticum* and Found in Birds. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 43, n.4, p. 721-728, 1993.
3. BUCHALA, F. G.; ISHIZUKA, M. M.; MATHIAS, L. A.; BERCHIERI JR. A.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I. Detecção de resposta sorológica contra *Mycoplasma* em aves de criatórios de fundo de quintal próximos a explorações comerciais do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico (São Paulo)**. v. 73, n.2, p. 143-148, 2006.
4. CATÃO-DIAS, J. L. Doenças e seus impactos sobre a biodiversidade. **Biodiversidade/Artigos**. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v55n3/a20v55n3.pdf> Acesso em 07 de fev. de 2012.
5. DHONDT, A. A.; D. L. TESSAGLIA; R. L. SLOTHOWER. Epidemic mycoplasmal conjunctivitis in house finches from eastern North America. **Journal of Wildlife Diseases**. v34, p.265–280, 1998.
6. DHONDT, K. V.; DHONDT, A. A.; LEY, D. H. Effects of route of inoculation on *Mycoplasma gallisepticum* infection in captive house finches. **Avian Pathology**. v. 36, n.6, p. 475-479, 2007.
7. DUARTE, V. V.; SINHORINI, J. A.; ALLEGRETTI, L.; FERREIRA, V. C. A.; IKUNO, A. A.; GUIMARÃES, M. B. Identificação de *Mycoplasma* spp. em passeriformes mantidos em cativeiro na cidade de Itanhaém – São Paulo. In: **X CONGRESSO E XV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS**. São Pedro. 2006.

8. FARMER, K.L.; HILL, G.E.; ROBERTS, S.R. Susceptibility of wild songbirds to the house finch strain of *Mycoplasma gallisepticum*. **Journal of wildlife Diseases**, v. 42, n.2, p. 317-325, 2005.
9. FORSHAM, J. M. **Parrots of the world**. New Jersey: T.F.H. Publications, p. 584-585. 1977.
10. GERLACH, H. Chlamydia. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. (Ed). **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, 1994. p.984-996.
11. GODOY, S.N. Psittaciformes (Arara, Papagaio, Periquito). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 222-227.
12. GOMES, A. M.; COSTA, L. L.; VILELA, D. A. R.; MARQUES, M. V. R.; CARVALHAES, A. G.; MARIN, S. Y.; COSTA, M. P.; HORTA, R. S.; RESENDE, J. S. MARTINS, N. R. S. Detection of *Mycoplasma gallisepticum* in Dead captive Psittacines in Belo Horizonte, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 12, n.2, p.75-78, 2010.
13. GRAPHPAD SOFTWARE. [Online] *Calculators for Scientists*. Disponível em: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/contingency1.cfm> Acesso em 22 de jan. de 2012.
14. GRODIO, J. L.; DHONDT, K. V.; O'CONNELL, P. H.; SCHAT, A. Detection and quantification of *Mycoplasma gallisepticum* genome load in conjunctival samples of experimentally infected house finches (*Carpodacus mexicanus*) using real-time polymerase chain reaction. **Avian Pathology**. v. 37, n.4, p.385-391, 2008. DOI: 10,1080/0307945082216629
15. GUEDES, N. M. R. **Araras azuis: 15 anos de estudos no pantanal**. IV Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal – Corumbá-MS – 23 a 26 de nov 2004.
16. KLEVEN, S. H.; FLETCHER, D. J. Laboratory infection of house sparrows (*Passer domesticus*) with *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. **Avian Disease**. v. 27, p.308-311, 1983.
17. LAUERMAN, L. H. Avian mycoplasma identification using polymerase chain reaction amplicon and restriction fragment length polymorphism analysis. **Avian Disease**. v. 39, p. 804-811, 1995.

18. LIERZ, M.; HAGEN, N.; HERNANDEZ-DIVERS, S.J.; HAFEZ, H.M. Occurrence of Mycoplasmas In free-ranging birds of prey in Germany. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n.4, p. 845-850, 2008.
19. MANGINI, P. R.; SILVA, J. C. R. Medicina da Conservação. In: Cubas, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. p. 222-227
20. NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A. Micoplasmoses. In: BERCHIERI, A. Jr.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2ed. p.485-495.
21. NASCIMENTO, L. S.; MACIEL, C. M. R.; CORREIA, M. A.; FRIES, D. D.; MACIEL, A. Jr. A importância do Parque Municipal da Matinha, Itapetinga – BA, na conservação de espécies de aves ameaçadas pelo tráfico. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 6, n.10, 2010. p. 1-8.
22. NETO, P. S.; KLEMMANN, L. Jr.; PRESTES, N. P.; MARTINEZ, J.; SIPINSKI, E. SEIXAS, G.; CAPARROZ, R.; MIYAKI, C. Y. WAJNTAL, A.; SOMENZARI, M.; SCHUNCK, F.; BODRATI, A.; COCKLE, K.; ABE, L. M.; SOARES, E. S. **Plano de Ação Nacional para a conservação do gênero *Amazona* (papagaios) – Série Espécies Ameaçadas Nº 8**. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, Ministério do Meio Ambiente - MMA, São Paulo – SP, Brasil, 2008.
23. PINHO, J. B.; NOGUEIRA, F. M. B. Mostra da retirada de psitacídeos em cativeiro na cidade de Cuiba e Pantanal de Pocone, Mato Grosso, no período 1995-1997. **Ararajuba**, v.8, n.1, p.51-53, 2000.
24. QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia Veterinária e doenças infecciosas**. Ed. Artmed. Porto Alegre, 2005. p. 200-205
25. SEIXAS, G. H. F. **Ecologia alimentar abundância em dormitórios e sucesso reprodutivo do Papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*)** (Linnaeus, 1758) (Aves:Psittacidae), em um mosaico de ambientes no Pantanal de Miranda, Mato Grosso do Sul, Brasil. Tese (Doutorado em ecologia e conservação).Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

- Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação. Campo-Grande-MT, 2009.
26. SILVA, A. S.; MONTEIRO, S. G.; SILVA, M. K.; OLIVEIRA, C. B.; LIMA, F. P.; ZANETTE, R. A.; SOUZA, C. P. SALOMÃO, E. L. Parasitismo por *Cryptosporidium* spp. em psitacídeos mantidos em cativeiro no município de Cachoeira do Sul – RS, Brasil. **Veterinária de Zootecnia**. v. 15, n.2, p.234-238, 2008.
27. WALKER, R. L. Mollicutes. In: HIRSH, D.C. & ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2003. p.155-162.
28. WIEDERHECKER, L. S.; CARETA, P. B. R.; JESUS, B. M. Animais depositados e destinados pelo Centro de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA em Goiás. **I Encontro Goiano de Animais Silvestres – Anápolis-GO**, 2011.
29. YODER, H.W. Jr. Mycoplasmosis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER, H.W. Jr. **Diseases of poultry**. Ames: Iowa State University Press, 1997. p.197-235

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Algumas espécies de psitacídeos encontram-se na lista de animais ameaçados de extinção e as outras, embora não façam parte, estão em risco, devido à perda de seus *habitats* naturais e à retirada de filhotes da natureza. A manutenção de aves silvestres em cativeiro é também fundamental para a conservação das espécies, já que os animais podem representar importantes bancos de dados genéticos, além de ferramentas para a educação ambiental e pesquisas científicas. Por isso a investigação de patógenos em animais de cativeiro se torna uma importante área da medicina da conservação.

Aves provenientes do comércio ilegal de animais silvestres são transmissoras em potencial e podem desenvolver a clamidiose. Contudo esta doença se coloca como mais um obstáculo na conservação de espécies de psitacídeos brasileiros. Além disso, a presença dessa bactéria em psitacídeos cativos gera a necessidade da realização de educação sanitária aos proprietários de criadouros e de aves de estimação. Uma vez que se trata da principal zoonose transmitida por psitacídeos, mesmo que a casuística em humanos seja esporádica.

Embora a presença de micoplasmas em psitacídeos não seja corriqueira, esse estudo mostrou que populações fechadas podem ter alta ocorrência. A presença de aves de outras famílias ou uma ave portadora introduzida são fontes de contaminação para aves da família Psittacidae. Portanto, o contato próximo entre aves de diferentes famílias deve ser evitado. A infecção inaparentes causada por micoplasmas permite que essa bactéria se instale de maneira silenciosa em uma criação de aves. No entanto, os danos causados por essa bactéria ao sistema imune aumentam a probabilidade de infecções causadas por outras bactérias mais patogênicas, como a *Chlamydophila psittaci*.

Normas sanitárias e de biossegurança devem ser adotadas para o controle da micoplasmose e clamidiose em criadouros de aves. Além disso, o manejo alimentar correto das aves auxilia sua imunidade e diminui a probabilidade do desenvolvimento de doenças. A investigação e o correto diagnóstico são necessários para um tratamento adequado. Após tratamento as aves devem ser reavaliadas quanto à presença da bactéria em questão, lembrando que muitos psitacídeos podem continuar eliminando *Chlamydophila* nas fezes pós-tratamento.

A presença dessas bactérias em psitacídeos cativos mostra que o ato de soltar animais mantidos em cativeiro, pode proporcionar alto risco aos ambientes e às populações naturais da área de soltura, e geralmente trazem poucos benefícios à conservação. Além disso, muitos estudos realizados no Brasil são feitos com poucos critérios, não têm dados adequados e nem monitoramento pós-soltura. Dessa forma, a investigação da ocorrência de patógenos e suas enfermidades são fundamentais para evitar desastres ecológicos, que podem ser provocados por meio da introdução de doenças em *habitats* originalmente saudáveis.