UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

PESQUISA DE AGENTES ETIOLÓGICOS PATOGÊNICOS PARA GALINHAS DE PRODUÇÃO, EM AVES SELVAGENS PRÓXIMAS AS INSTALAÇÕES AVÍCOLAS

Eliane de Sousa
Médica Veterinária

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

PESQUISA DE AGENTES ETIOLÓGICOS PATOGÊNICOS PARA GALINHAS DE PRODUÇÃO, EM AVES SELVAGENS PRÓXIMAS AS INSTALAÇÕES AVÍCOLAS

Eliane de Sousa

Orientadora: Prof. Dra. Karin Werther

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Animal)

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Junho de 2007

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ELIANE DE SOUSA - nascida em Uberaba-MG, em 23 de Junho de 1979. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade de Uberaba, em dezembro de 2002. Concluiu o Curso de Pós-graduação *Lato Sensu* em Ciências Aviárias pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em janeiro de 2005. Ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Animal, em nível de mestrado, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, em março de 2005.

OFEREÇO,

Aos meus pais
Haroldo Ângelo de Sousa e Edilma Botta de Sousa,
Pelo exemplo de dedicação, seriedade e honestidade que sempre
Representaram e pelo incentivo e confiança depositados em mim durante essa
Caminhada.

Á minha irmã Elaine e meu sobrinho Willian
pelo apoio incondicional e amizade
ao longo destes anos.

DEDICO,

Ao Thiago, meu grande amor e companheiro,
Por todo incentivo, apoio e
Principalmente, compreensão
Nessa caminhada

Aos meus animais de estimação
Pela companhia em todos
os momentos

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guiar em todos os momentos da minha vida.

À Profa. Dra. Karin Werther, minha orientadora, pelo exemplo de dedicação profissional, pela transmissão de inúmeros conhecimentos e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Ângelo Berchieri Junior, por acreditar em mim e na realização de um grande trabalho.

À empresa Hy-Line do Brasil e seus funcionários, por tornar possível a realização desse projeto de pesquisa.

À Profa. Dra. Rosângela Zacarias Machado, pelo auxílio na execução deste trabalho.

Aos docentes do Departamento de Patologia Veterinária, que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Aos colegas de pós-graduação, pela amizade e ajuda nas mais diversas etapas deste trabalho, e pelos anos de agradável convivência.

À todos os funcionários e residentes do Departamento de Patologia Veterinária, que me auxiliaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

Aos estagiários e residentes do setor de Silvestres e graduandos de medicina veterinária da UNESP-Jaboticabal, que colaboraram com capturas e manejo das aves selvagens.

Aos funcionários do laboratório de Ornitopatologia, que colaboraram na realização da cultura para *Salmonella* sp.

Ao Prof. Dr. Gener Tadeu Pereira, pelo auxílio na análise estatística dos resultados.

Aos médicos veterinários Márcio Botrel e Edison Rossi, pelo auxílio com as técnicas laboratoriais.

Ao Prof. Dr. Luís Fábio Silveira do departamento de Zoologia da Universidade de São Paulo- USP, pela ajuda na classificação das espécies de aves.

Ao Instituto Adolfo Lutz, por realizar as tipificações da *Salmonella*.

À D. Maria de Lourdes Rettondin, pela dedicação maternal.

Às aves selvagens, que tiveram suas vidas solicitadas para este projeto.

SUMÁRIO

Página

1. INTRODUÇÃO 1
2. REVISÃO DE LITERATURA 3
2. 1. Doença de Newcastle 3
2. 2. Micoplasmoses 7
2. 3. Salmoneloses 10
2. 4. Bronquite Infecciosa 14
3. OBJETIVOS 17
3. 1. Objetivo geral 17
3. 2. Objetivos específicos 17
3. 2. 1. Averiguar a presença de agente etiológico 17
3. 2. 2. Averiguar a presença de anticorpo anti 17
4. MATERIAL E MÉTODOS 18
4. 1. Locais 18
4. 2. Aves 20
4. 3. Exame clínico 21
4. 4. Colheita de material biológico 21
4. 4. 1. Sangue 21
4. 4. 2. Suabes 21
4. 4. 3. Órgãos e conteúdo intestinal 22
4. 5. Técnicas laboratoriais 23
4. 5. 1. Teste de HI para a detecção de anticorpo anti-VDN 23
4. 5. 2. Teste para diagnóstico de anticorpo anti-*Mycoplasma* sp. 24
4. 5. 3. Teste para diagnóstico de anticorpo anti-*Salmonella* 25
4. 5. 4. Teste de SN em cultivo celular para pesquisar a presença de anticorpo anti-VBI 25
4. 5. 5. Cultura de órgãos e conteúdo intestinal para *Salmonella* sp. 26
5. RESULTADOS 27
5. 1. Aves 27

5. 2. Exame clínico 29
5. 3. Exames sorológicos 29
5. 3. 1. Bronquite Infecciosa 29
5. 3. 2. Doença de Newcastle 29
5. 3. 3. *Mycoplasma* sp. 29
5. 3. 4. *Salmonella* sp. 30
5. 4. Cultura microbiológica 30
6. DISCUSSÃO 37
6. 1. Bronquite Infecciosa 39
6. 2. Doença de Newcastle 40
6. 3. *Mycoplasma* sp. 41
6. 4. *Salmonella* sp. 42
7. CONCLUSÃO 46
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 47

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1: Foto aérea da fazenda onde são visíveis vários núcleos e cada um composto por 2 galpões 18
FIGURA 2: Visualização das limitações entre as Zonas I, II e III 19
FIGURA 3: Modelo de armadilha tipo arapuca 20
FIGURA 4: Esquema mostrando as diversas etapas da colheita do material biológico e seus respectivos destinos 22
FIGURA 5: Esquema mostrando o número de amostras de material biológico colhido e seus respectivos destinos quanto às técnicas laboratoriais empregadas para pesquisa de *Mycoplasma* e/ou seu anticorpo 30
FIGURA 6: Esquema mostrando o número de amostras de material biológico colhidas, seus respectivos destinos quanto as técnicas laboratoriais empregadas na cultura de *Salmonella* sp. e/ou no seu anticorpo pesquisado 31

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1: Relação da quantidade das ordens e espécies de aves estudadas e seu respectivo local de origem G1 e G2 28

TABELA 2: Resultados dos testes realizados para *Salmonella*, *Mycoplasma,* BI e DN das aves do G1 32

TABELA 3: Resultados dos testes realizados para *Salmonella*, *Mycoplasma*, BI e DN das aves do G2 35

ANEXOS

ANEXO I: Técnica de Inibição da Hemaglutinação para DN

ANEXO II: Técnica de Soroneutralização para BI

ABREVIATURAS

APMV-1: *Paramyxovirus* aviário do sorotipo 1
BIG: Bronquite Infecciosa das galinhas
DN: Doença de Newcastle
DRC: Doença respiratória crônica
ELISA: Enzyme Linked Immunosorgent Assay
HI: Hemagglutination inhibition
IPIC: índice de patogenicidade intracerebral
Mg: *Mycoplasma gallinarum*
Mi: *Mycoplasma imitans*
Mm: *Mycoplasma meleagridis*
Ms: *Mycoplasma synoviae*
OIE: Organização Internacional de Epizootias
PNSA: Programa Nacional de Sanidade Avícola
RT-PCR: Reverse-transcriptase polymerase chain reactions
SAR: Soroaglutinação Rápida em placa
SE: *Salmonella* Enteritidis
SG: *Salmonella* Gallinarum
SN: Soroneutralização
SP: *Salmonella* Pullorum
SPF: livres de patógenos específicos
ST: *Salmonella* Typhimurium
VBIG: Vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas
VDN: Vírus da Doença de Newcastle

PESQUISA DE AGENTES ETIOLÓGICOS PATOGÊNICOS PARA GALINHAS DE PRODUÇÃO, EM AVES SELVAGENS PRÓXIMAS AS INSTALAÇÕES AVÍCOLAS

RESUMO - Aves selvagens podem ser consideradas portadores/carreadores de agentes etiológicos patogênicos para galinhas de produção. O objetivo desse trabalho foi verificar, em aves selvagens, a presença de anticorpo contra: *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma sinoviae* (MS), *Salmonella* Pullorum (SP), *Salmonella* Gallinarum (SG), Vírus da Doença de Newcastle e Vírus da Bronquite Infecciosa; bem como a presença de *Salmonella* sp. Foram utilizadas 82 aves selvagens, e todas foram negativas na detecção de anticorpo anti-vírus da Doença de Newcastle e Bronquite Infecciosa, usando as técnicas de Inibição de Hemaglutinação e Soroneutralização, respectivamente. Para o diagnóstico de anticorpo anti Mycoplasma (MG e MS) foi utilizado inicialmente a técnica de Soroaglutinação Rápida em Placa, sendo sete aves positivas para MS e duas para MG. Amostras biológicas dessas aves foram posteriormente submetidas a técnicas de HI e/ou PCR, sendo todas negativas. Quanto ao diagnóstico de *Salmonella* sp., foi isolado *Salmonella* Muenchen da cultura de suabe de cloaca de uma curicaca; de uma seriema, foi isolado *Salmonella* Muenchen e *Salmonella* Saintpaul da cultura de órgãos e conteúdo intestinal, respectivamente; e do conteúdo intestinal de uma pomba foi isolado *Salmonella* Enteritidis. Apenas com os resultados dessa pesquisa, não foi possível concluir que as aves selvagens possam representar um risco sanitário para a avicultura. São necessários mais estudos envolvendo um número maior de aves e locais para elucidar o real potencial de transmissão e portador são das aves selvagens para os respectivos agentes pesquisados.

Palavras-chave: Aves selvagens, galinha, Doença de Newcastle, Bronquite Infecciosa, *Mycoplasma* sp., *Salmonella* sp.

RESEARCH OF CHICKEN PATOGENIC AGENTS IN WILD BIRDS, NEAR POULTRY FACILITIES

SUMMARY- Wild birds can be considered carrier/transmitter of patogenic etiologic agents for chickens. The objective of this work was to verify in wild birds the presence of antibody *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma sinoviae* (MS), *Salmonella* Pullorum (SP), *Salmonella* Gallinarum (SG), Newcastle Disease Virus, and Infectious Bronchitis Virus; as well as the presence of *Salmonella* sp. Eighty-two wild birds were sampled, and all was negative for antibody anti-virus Newcastle Disease and Infectious Bronchitis, using the techniques of Hemagglutination Inhibition and Seroneutralization, respectively. For the detection of antibodies anti *Mycoplasma* (MG e MS) were used initially the Fast Serum Agglutination on Plate method, seven birds were positive for MS and two for MG. Subsequently the positive sera and/or traqueal swab were submitted for HI and/or PCR techniques being all exams negative. Regarding the diagnosis of *Salmonella* sp., *Salmonella* Muenchen was isolated from a culture of cloacal swab of a buff-necked Ibis; from a red-legged seriema, Salmonella Muenchen and Salmonella Saintpaul were isolated from culture of organs and intestinal content, respectively; and Salmonella Enteritidis was isolated of intestinal content from a dove. It was not possible to conclude that the wild birds can represent a sanitary risk for aviculture considering only these results. More studies are necessary to elucidate the real potential of transmission and carrier of wild birds for the researched agents.

Keywords: Wild birds, chicken, Newcastle Disease, Infectious Bronchitis, *Mycoplasma* sp., *Salmonella* sp.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado atualmente o maior exportador de carne de frango do mundo (FRANÇA, 2007) e ocupa a sétima posição do *ranking* mundial de produção de ovos (UBA, 2007).

Para a manutenção da avicultura brasileira e conservação dos seus altos índices de produção e exportação de produtos avícolas, são exigidas medidas sanitárias principalmente em relação a saúde das galinhas, sendo necessário utilizar rigoroso programa de controle de agentes patogênicos nos equipamentos, instalações e nas pessoas que tenham contato com as aves.

Uma das medidas do programa de biosseguridade é a localização dos galpões avícolas longe das cidades e do fluxo de pessoas, ou seja, próximos as matas, que atuam como barreiras, porém ao mesmo tempo este é o local habitado naturalmente por aves selvagens, que por serem da mesma classe animal, poderiam albergar agentes etiológicos patogênicos para as galinhas.

Os agentes patogênicos podem ser carreados por aves portadoras/reservatórios, disseminados pelos seus excrementos e secreções ou ainda serem transportados nos ectoparasitas existentes nas aves (HUBALEK, 2004).

Na literatura são diversas as citações de aves selvagens transportando e disseminando microrganismos, como por exemplo o vírus do Oeste do Nilo (WNV) na América do Norte e sendo responsáveis pela extensa distribuição geográfica da Influenza aviária, Doença de Newcastle, *Salmonella* sp., *Mycoplasma* sp. e protozoários (RAPPOLE & HUBALEK, 2000).

Estão registradas perdas econômicas, onde os lotes são sacrificados, devido à Doença de Newcastle, *Micoplasma* sp. (MOHAMMED et al., 1987) e *Salmonella*

sp. (BARROW, 1999). No caso de Bronquite Infecciosa, há prejuízo pela diminuição na produção de ovos e problemas respiratórios.

Considerando as diversas doenças, virais e bacterianas, que podem acometer galinhas, gerando grandes prejuízos sócio-econômicos e podem até afetar a saúde pública, o presente trabalho tem como objetivo elucidar quais dessas doenças ou agentes etiológicos são encontrados na população de aves selvagens que vivem próximas às instalações avícolas e dessa forma poderiam representar uma fonte de infecção para as galinhas de produção.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2. 1. DOENÇA DE NEWCASTLE

A Doença de Newcastle (DN) é uma doença infecciosa que afeta aves e é causada por um vírus da família *Paramyxoviridae* do gênero *Rubulavirus.* Nove sorotipos de *Paramyxovirus* aviários têm sido relatados: PMV-1 a PMV-9, destes a DN é causada pelo PMV-1 (*Paramyxovirus* sorotipo 1) (ALEXANDER, 1997), provocando índice de patogenicidade intracerebral (IPIC) igual ou maior 0,7 em pintos SPF de 1 dia de idade (OIE, 2002).

É uma das doenças mais importantes em aves domésticas e ocorre enzooticamente e epizooticamente, causando perdas econômicas consideráveis (KHAN, 1994).

No final do ano de 1960, uma panzootia atingiu vários países no Oriente Médio, provavelmente pelo intenso comércio de espécies de psitacídeos, oriundos principalmente da América do Sul, América Central e Sudeste da Ásia, transportados por aviões até seus destinos. Uma outra panzootia que emergiu em 1970, foi relatada em pombos-correio, sendo a forma de difusão do agente por meio da exposição e comercialização dessa espécie aviária. Na Inglaterra, em 1984, uma amostra viral de pombos foi responsável por vinte surtos da doença em frangos de corte. Os pombos infectados contaminaram a ração que foi ingerida pelos frangos (ALEXANDER, 1988).

Há dois principais reservatórios do Vírus da Doença Newcastle (VDN), o vírus com baixa patogenicidade que é associado com aves aquáticas e o vírus com alta patogenicidade que é associado com aves selvagens, especialmente os psitacídeos. Algumas aves são mais susceptíveis a DN, tais como os galináceos, faisões, papagaios e ratitas. Outras têm uma susceptibilidade intermediária, entre elas corujas, falcões, águias, cegonhas, pingüins, pardais e pássaros. Outras

ainda apresentam pouca susceptibilidade, tais como aves aquáticas em geral, pelicanos, gaivotas, grande garça azul (CROSS, 1991).

Conforme ALEXANDER (1997) o VDN foi encontrado em mais de 250 espécies de aves de 27 ordens, infectados natural ou experimentalmente.

Vários autores relataram a ocorrência mundial do VDN em aves selvagens e de cativeiro, tais como:

- abetarda (*Chlamydotis undulata*) (OSTROWSKI et al., 1995; BAILEY et al., 1997);
- abutre quebra-ossos (*Gypaetus barbatus*) (LUBLIN et al., 2001);
- ratitas (HUCHZERMEYER & GERDES, 1993; JORGENSEN et al., 1998; KING & SEAL, 1998);
- papagaio (*Amazona aestiva*), biguatinga (*Anhinga anhinga*) (KING & SEAL, 1998);
- biguá de crista (*Phalacrocorax auritus*) (KUIKEN, et al., 1998; FARLEY et al., 2001);
- pombos (*Columba livia*) (PEARSON et al., 1987; BARTON et al., 1992);
- galinhas comerciais (*Gallus gallus domesticus*), (BRUGH & BEARD, 1984; ONCEL et al., 1997; KOMMERS et al., 2001);
- galinhas de criação “caipira” (*Gallus gallus domesticus*) (CRESPO et al., 1999).

No Brasil, o primeiro surto da DN ocorreu concomitantemente em Belém do Pará e Macapá, por volta de 1953 (SANTOS et al., 1954), sendo o primeiro isolamento do vírus realizado por Silva, 1954. A entrada do VDN no país foi atribuída à importação de carcaças de aves contaminadas procedentes dos EUA, para hotéis da capital paranaense (CUNHA & SILVA, 1955). Posteriormente, foram isolados o VDN em aves ornamentais de cativeiro do estado do Rio de Janeiro (COUCEIRO et al., 1990), em flamingo (*Phoenicopterus ruber*) (DORETTO JR. et al., 1999 a) e avestruzes (*Struthio camelus*) (DORETTO JR. et al., 1999 b; DORETTO JR. et al., 1999 c).

Segundo alguns autores, a DN ainda continua endêmica no Brasil, bem como em toda a América do Sul, servindo, por isso, como fonte constante de disseminação do vírus, principalmente por meio do tráfico de aves silvestres (CLAVIJO et al., 2000).

Em um estudo realizado por OLIVEIRA JR. et al. (2003), usando o método HI, analisaram 837 soros provenientes de galinhas não vacinadas e de aves silvestres tanto de vida livre quanto de cativeiro, dos municípios de Seropédica, Japeri, Paulo de Frontin, Paracambi, Valença, Barra do Piraí, Rio de Janeiro e Nova Friburgo. O resultado revelou uma soropositividade de 1,43% para o VDN.

Em uma pesquisa realizada com amostras de soros de irerês (*Dendrocygna viduata*), utilizando a técnica de HI, foi detectada a presença de anticorpo (85,7%) contra o VDN. No entanto, a pesquisa de genoma viral por RT-PCR não revelou a presença do agente nas amostras de suabes traqueais ou cloacais nessa espécie (DEMÉTRIO, 2002).

Um estudo com pombos domésticos mostrou alta infectividade e rápida disseminação do VDN entre essas aves. Foram utilizados dois grupos de aves, um grupo infectado experimentalmente e outro grupo com aves sadias (sentinelas). Quatro dias após infecção os dois grupos foram colocados juntos. A eliminação do genoma viral nas fezes foi detectado em algumas aves a partir do 5° DPI, perdurando até o 24° DPI. Entre os 11° e 13° DPI todas as aves eliminavam o vírus. Ao final do experimento ambos os grupos de aves soroconverteram sem apresentarem sintomatologia clínica da doença. (CARRASCO, 2005).

Algumas aves apresentaram-se refratárias à doença clínica após infecção com o VDN, como as galinhas d' Angola (*Numida meleagridis*) (PAULILLO et al., 2005 a), perdizes (*Rhynchotus rufescens*) (PAULILLO et al., 2005 b), pombas (*Columba livia*) (CARRASCO, 2005), codornas (*Coturnix coturnix japonica*) (LIMA et al., 2004) e patos (*Anas platyrhynchos*) (FRANZO et al., 2004; NISHIZAWA, 2007).

A transmissão do VDN é via horizontal, pelas secreções e aerossóis das aves. A disseminação do agente é favorecida pelo deslocamento de pessoas e

equipamentos ou pelo transporte de animais vivos ou mortos contaminados (SALLE, 2002; BACK, 2004).

A técnica sorológica para diagnóstico da DN mais utilizada é a inibição da hemaglutinação (HI) (SALLE, 2002; BEARD, 1992), podendo também ser utilizada a soroneutralização (PAULILLO & DORETTO JR, 2000) e ELISA (SOUSA et al., 2000), além da prova de PCR (BACK, 2004).

De acordo com BEARD (1992) o vírus pode ser isolado a partir de fezes, material cloacal, secreções respiratórias, macerados do baço, cérebro ou pulmões, sendo para isso cultivado na membrana alantóide de ovos embrionados de 10 dias. Posteriormente ao cultivo é realizada a identificação pela técnica de HI.

CADMAN et al. (1997) ao compararem os testes ELISA e HI para a detecção de anticorpos contra o VDN em avestruzes, concluíram que ambos os testes são eficientes, porém esses dois testes não diferenciam entre as estirpes de baixa, média ou alta virulência (DI FABIO, 2006).

Conforme a padronização do HI para o diagnóstico da DN em avestruzes relatada por FERNANDES (2006), revelou a necessidade da utilização de hemáceas da mesma espécie ou, alternativamente, de perus.

Foi relatado que o RT-PCR (Reverse-transcriptase polymerase chain reactions) duplex para o VDN, apresentou maior sensibilidade que o HI, sendo um teste eficiente no monitoramento do vírus em aves migratórias e silvestres (SOARES, 2002).

Uma das formas de prevenção da DN consiste na criação das aves em galpões fechados com tela à prova de pássaros e aves migratórias. Outra forma é restringir visitas e veículos dentro da propriedade, evitando assim que o agente seja carreado pelo homem (DI FABIO, 2006).

Vacinas são amplamente usadas na prevenção da DN. O tipo de vacina usado, a via e a freqüência de aplicação dependem principalmente da espécie da ave e dos aspectos epidemiológicos geográficos. As mais comumente usadas são as amostras B1, La Sota e Clone 30 (BACK, 2004).

Em galinhas d'angola, os programas imunoprofiláticos ensaiados, mediante o

emprego das amostras vacinais Ulster 2C, B1 e LaSota (viva ou inativada) e diferentes vias de aplicação, foram igualmente eficientes no estímulo da resposta imune humoral (NISHIZAWA et al., 2006). Nessas aves vacinadas não foi possível o reisolamento do VDN (LIMA et al., 2005).

No Brasil, o monitoramento dos plantéis de galinhas vacinadas contra o VDN é regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) através da instrução normativa/SDA n. 32, de 13 de maio de 2002, com o intuito de controlar a doença em nosso país.

2. 2. MICOPLASMOSES

A micoplasmose aviária é uma doença infecciosa causada por microrganismos do gênero *Mycoplasma*, da família *Mycoplasmatoceae* (KREIG & HOLT, 1984). *Mycoplasma* é a denominação para os microorganismos da classe Mollicutes (Mollis= macio; cutis= pele), que são caracterizados pela ausência de membrana celular, decorrente da falta de informação genética para sua síntese, fato este que mais os distingue das bactérias verdadeiras (NASCIMENTO, 2000).

Existem mais de vinte espécies de *Micoplasma* que infectam aves em geral, porém apenas duas espécies têm significado econômico para galinhas, são elas: *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *Mycoplasma synoviae* (MS) (KLEVEN, 1997).

A micoplasmose acarreta grandes perdas econômicas na avicultura brasileira e mundial devido ao decréscimo na taxa de crescimento e no ganho de peso, perdas por condenações de carcaças, devido à doença respiratória crônica (DCR) em frangos de corte, bem como redução na produção e eclodibilidade de ovos, além dos custos com profilaxia e uso de drogas terapêuticas (GAMA et al., 2005).

O *Mycoplasma* é transmitido verticalmente pelo ovo ou horizontalmente por meio de aerossóis e secreções, inclusive sêmen (LEY & YODER, 1997).

Pesquisadores relataram a ocorrência de diferentes espécies de *Mycoplasma* acometendo várias aves no mundo, entre eles:

- MS em faisões (BRADBURY et al., 2001), patos (BENCINA et al., 1988a), gansos (BENCINA et al., 1988b) e avestruzes (PECCATI et al., 1995);
- MG em passeriformes como os "house finches" (*Carpodacus mexicanus*) e em "goldfinch" (*Carduelis tristis*) (LEY et al., 1996; DHONDT et al., 1998; LUTTRELL et al., 1998; HARTUP & KOLLIAS, 1999; O'CONNOR et al., 1999; ROBERTS et al., 2001; WELLEHAN et al., 2001; HARTUP et al., 2001);
- MG em gralha americana (*Cyanocitta cristata*) (LEY et al., 1997), falcões peregrinos (*Falco peregrinus*), papagaio campeiro (*Amazona ochrocephala*) (FRIEND & FRANSON, 1999), codornas (*Coturnix coturnix japonica*) (MURAKAMI et al., 2002) e emas (*Rhea americana*) (PHALEN & WIGLE, 1994);
- MG e MI (*Mycoplasma iowae*), concomitantes em perdiz (*Alectoris rufa*) (GANAPATHY & BRADBURY, 1998);
- MI em papagaio campeiro (*Amazona ochrocephala*) (BOZEMAN et al., 1984);
- *Mycoplasma buteonis* em "saker falcon" (*Falco cherrug*) (ERDÉLYI et al., 1999);
- *Mycoplasma sturni* em sabiá poliglota (*Mimus polyglottos*) e gralha americana (*Cyanocitta cristata*) (LEY et al., 1998).

No Brasil, foi realizado um estudo soroepidemiológico da micoplasmose, por meio da técnica de SAR, em plantéis de aves reprodutoras, mostrando resultados negativos para MG e positivos (23 %) para MS (ORSI et al., 2004).

RAUBER et al. (2004) relataram a ocorrência de MG em três granjas (A, B e C) de poedeiras comerciais no Rio Grande do Sul, utilizando o teste SAR. Das 27 amostras coletadas na Granja A, 7 foram positivas para MG (26 %), na Granja B, 34 (56,6 %) foram positivas, das 60 analisadas e na Granja C, das 149 amostras, 27 foram positivas (18,1%).

Numa pesquisa em passeriformes de um criadouro conservacionista, no município de Itanhaém – SP, foram colhidos 24 suabes de traquéia e/ou de

cavidade oral das aves. A técnica de PCR multiplex revelou a presença de *Mycoplasma* spp. em 7 (29%) amostras (DUARTE et al., 2006).

Os testes de anticorpos anti *Micoplasma* utilizados no monitoramento são: Soroaglutinação Rápida (SAR), Soroaglutinação Lenta (SAL), Inibição da Hemaglutinação (HI) e ELISA. Além disso existe o diagnóstico pelo isolamento e tipificação e/ou detecção de material genético do agente pelo PCR (NASCIMENTO, 2000; BACK, 2004).

A prova de SAR inicialmente empregada para evidenciação de MG e MS tem sido usada largamente como procedimento sorológico para verificar a presença dos anticorpos dos agentes etiológicos em criações de frangos de corte, galinhas e outras aves reprodutoras (MA/ Programa Nacional de Sanidade Avícola, 1994). A prova de SAR se caracteriza pela baixa sensibilidade, devendo não ser empregada isoladamente (MENDONÇA et al., 2003), sugerindo a realização de HI para a confirmação dos resultados (MENDONÇA et al., 2004). Em situações onde não necessite de rápido diagnóstico, a microbiologia ou PCR podem ser usado.

WELLEHAN et al. (2001) & IKUTA et al. (2001) demonstraram que o PCR do MG é um método mais efetivo quando comparado com a cultura, ao analisarem "house finches", onde em 67% dos casos foi detectado MG pelo PCR e apenas 33% foram positivos na cultura. FEBERWEE et al. (2005) ao comparar os testes de diagnósticos usando cultura, PCR e sorologias (SAR, ELISA, HI), mostraram resultados falso-positivos nos testes sorológicos, recomendando a utilização de várias técnicas diagnóstica concomitantes.

BUIM (2005) padronizaram a técnica de PCR para detecção simultânea de MS e MG, sendo assim um diagnóstico rápido e sensível, auxiliando nos programas de monitoramento das granjas.

De acordo com ITO et al. (2002) a principal e única medida preventiva que pode ser adotada para evitar a introdução do MG e MS em plantéis de galinhas é a adoção de medidas de biosseguridade. Entre elas, evitar o contato com outras espécies aviárias (aves de vida livre, galinhas caipiras, lotes vacinados com MG vivo) e trânsito de pessoas e equipamentos que possam representar meios de transporte do agente etiológico. Conforme BACK (2004) tanto o MG quanto o MS

são transmitidos verticalmente, portanto a forma mais efetiva de controle e prevenção é a eliminação dos lotes positivos, efetuando a repopulação da granja com aves livres da doença.

Os recentes avanços na prevenção das micoplasmoses incluem o uso de vacinas para MG (FIORENTIN, 2000) inativadas e vivas, existentes à disposição dos criadores de aves. A vacina viva é aconselhável para galinhas poedeiras e não deve ser usada em aves reprodutoras (galinhas e perus) em virtude de prejudicar o monitoramento da doença (NASCIMENTO, 2000).

2. 3. SALMONELOSES

As salmoneloses são enfermidades provocadas por bactérias do gênero *Salmonella*, da família *Enterobacteriaceae* (GAST, 1997). A *Salmonella* pode ser envolvida por macrófagos, não serem destruídas e ainda multiplicar, o que de certa forma explicaria a resistência do microrganismo à fagocitose, refletindo uma tendência de latência da doença (GÁLAN et al., 1992).

Salmonella pode permanecer viável no material fecal por longo período (anos), particularmente em fezes secas, podendo resistir mais de 28 meses nas fezes de aves, 30 meses em fezes de bovinos, 280 dias no solo cultivado e 120 dias na pastagem, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto, como resultado de contaminação fecal (RODRIGUES, 2005).

Conforme GERLACH (1994), muitos vertebrados podem ser infectados com *Salmonella* sp., entretanto, a susceptibilidade do hospedeiro e o desenvolvimento do estado de portador variam amplamente entre as espécies. Espécies de aves desprovidas de ceco ou que apresentam involução cecal, parecem ser mais susceptíveis à infecção por *Salmonella* sp. do que aves com funcionamento completo do ceco, já que os microrganismos anaeróbios Gram-negativos presentes na flora cecal, podem funcionar como antagonistas naturais para *Salmonella* sp.

De acordo com BERCHIERI JR. (2000) são conhecidos mais de 2.500 sorotipos de *Salmonella,* contudo cerca de 80 a 90 são os mais comuns em casos

de infecção nos animais e em seres humanos. Nas galinhas podem causar três enfermidades distintas: a pulorose, cujo agente é a *Salmonella* Pullorum; o tifo aviário, causado pela *Salmonella* Gallinarum; e o paratifo aviário, causado como por exemplo pela *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis. Em humanos, a ingestão de alimentos de origem avícola contaminados com *Salmonella* sp. podem causar toxinfecção alimentar.

Em decorrência da perda econômica que estas doenças causam na avicultura e por impedir a exportação de produtos avícolas brasileiros, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) contemplam as *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis, visando o controle dessa enfermidade em plantéis brasileiros (BRASIL, 2004).

Vários autores relataram a ocorrência mundial de diversos subtipos de *Salmonella* sp. em aves de várias espécies, entre eles:

- *Salmonella* Pullorum em cacatua de palma preta (*Probosciger aterrimus*) (LIOW, 1978);
- *Salmonella* Typhimurium em: "bullfinch" (*Pyrrhula pyrrhula*), "eurasian siskin" (*Carduelis spinus*), "common redpoll" (*Carduelis flammea*) e "eurasian greenfinch" (*Carduelis chloris*) (REFSUM et al., 2003), em lorikeets e lories (WARD et al., 2003), codornas (*Colinus virginianus*) (HELM et al., 1999) e pombos (*Columba livia*) (KIMPE et al., 2002);
- *Salmonella* sorotipo Typhimurium variante Copenhagen e Hadar em codornas (*Coturnix coturnix japonica*) (SANDER et al., 2001);
- *Salmonella arizonae* em cacatua de penacho amarelo claro (*Cacatua galerita galerita*) (ORÓS et al., 1998);
- *Salmonella* spp. em abetarda (*Chlamydotis undulata*) (D'ALOIA et al., 1996);
- *Salmonella enterica* subespécie *enterica* serovar Kottbus em patos e marrecos de um dia de idade (GALLETTI et al., 1999);
- *S. havana*, *S. virchow*, *S. livingstone*, *S. hadar*, *S. paratyphi* B e *Salmonella* sp. em coruja orelhuda (*Bubo bubo*), falcões peregrinos (*Falco peregrinus*),

águia dourada (*Aquila chrysaetos*), e gaviões (*Buteo buteo*) (BATTISTI et al., 1998).

No zoológico infantil (local onde crianças têm contato com animais) de Nagano (Japão), 11 aves domésticas entre eles 4 gansos da China (*Anser cygnoide*), 1 ganso de Toulouse (*Anser anser*), 3 patos (*Anas platyrhynchos*) e 3 perus (*Meleagris gallopavo*) foram positivos quanto ao isolamento de *Salmonella* Typhimurium (SATO et al., 1999).

GOPEE et al. (2000) analisaram 435 amostras de soros de aves, dentre os quais 7% (2/30) em Ramphastidae (*Ramphastos vitellinus*), 6% (6/106) em aves aquáticas, 6% (3/53) em aves de rapina e a freqüência de menos de 1% (1/140) em psitacídeos (*Pionus menstrus*), mostrando que 12 (3%) das aves analisadas foram positivos para *Salmonella* spp.

No Brasil, no zoológico do Rio de Janeiro, FREITAS et al. (1977) isolaram *S.* Typhimurium de garça-branca-grande (*Casmerodius alba*) e da água do lago. Anos mais tarde no mesmo zoológico LEMOS et al. (1999) analisaram 78 suabes de cloaca de 21 espécies de aves, obtendo resultados negativos para *Salmonella* em todas as amostras analisadas.

Durante o controle sanitário realizado pelo LANAGRO/ Campinas, no desembarque de filhotes de avestruzes (*Struthio camelus*) importados, foram isolados vários sorotipos de *Salmonella*, entre *S.* Newport (35,48%), *S.* Mbandaka (19,35%), *S.* Saintpaul (6,45%), *S.* Panamá (6,45%), *S.* Typhimurium (6,45%) e *S.* Enteritidis (6,45%) (RIBEIRO et al., 2002).

Em pombos domésticos capturados no município de Jaboticabal-SP foi isolado *Salmonella* spp. de órgãos (pulmão, gônadas e fígado/baço) e conteúdo intestinal em dez (7,94%) de 126 pombos estudados. Dos dez pombos positivos para *Salmonella* spp., em sete aves o agente foi isolado de apenas um órgão e, em três aves o isolamento ocorreu em mais de um órgão, concomitantemente. A tipificação realizada pelo Instituto Adolfo Lutz revelou oito isolamentos pertencentes ao sorotipo *S.* Typhimurium, um sorotipo *S. enterica* subsp. *enterica* 4, 12 e um *S. enterica* subsp. *enterica* 4, 12, i (MARCIANO, 2004).

BUCHALA et al. (2006) relataram uma resposta imune humoral contra *Salmonella* Pullorum, em aves de fundo de quintal do estado de São Paulo.

Uma ave ou um lote de aves podem infectar-se com *Salmonella* sp. por meio da ingestão de ração ou água contaminados, contato com equipamentos e seres vivos contaminados (não necessariamente da mesma espécie), ou por transmissão vertical (DORRESTEIN, 1997; BARROW, 2000).

A técnica de SAR é um método rápido no diagnóstico de anticorpo de *Salmonella* sp. (BACK, 2004), podendo também ser realizado a técnica ELISA (OLIVEIRA et al., 2006).

Segundo a Portaria n°126 de 03/11/1995 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que aprova as normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios para diagnóstico da Pulorose e do Tifo aviário, o diagnóstico de *Salmonella* sp. deve ser realizado por meio do método bacteriológico tradicional, com isolamento e identificação do agente (UBA, 2004). As pesquisas de NASCIMENTO et al. (2000) e FERNANDES et al. (2004) mostraram que a utilização de mais um meio de enriquecimento e de plaqueamento podem aumentar as chances de isolar *Salmonella* sp.

São necessárias medidas de biosseguridade, tais como evitar a presença de pássaros selvagens, roedores, animais domésticos e insetos, como também criações de aves de idade múltipla em todas as etapas das operações avícolas, principalmente em granjas reprodutoras e incubatórios, para evitar a transmissão vertical e horizontal em salmoneloses (BERCHIERI JR. & BARROW, 1995; BERCHIERI JR., 2000).

SILVA & DUARTE (2002) relataram que quando a SE (*Salmonella* Enteritidis) está presente num lote de aves, outra *Salmonella* sp. normalmente encontrada, desaparece, podendo postular que a infecção por SE possui um excelente mecanismo de competição com outra *Salmonella*.

A vacinação com sorotipos homólogas de *Salmonella* ajuda na redução da colonização intestinal e excreção fecal. As vacinas previnem a transmissão transovariana e a contaminação da casca dos ovos por *Salmonella*. Em aves

vacinadas para SE, observa-se pouco isolamento tanto em órgãos como fezes, mas as aves permanecem sorologicamente positivas (BARROW et al., 1991).

PROUX et al. (1998) realizaram vacinação com *S.* Typhimurium inativada, verificando que a vacina induz proteção de 85% em pombos que tinham sido vacinados em 7 e 11 semanas de idade e de 50% em pombos que tinham sido vacinados em 11 semanas de idade, enquanto que todos os pombos do controle não vacinados morreram algumas semanas após o desafio. Nos pombos vacinados, foram detectados anticorpos conta *S.* Typhimurium utilizando a técnica de ELISA.

2. 4. BRONQUITE INFECCIOSA

A Bronquite Infecciosa (BI) das Galinhas é uma doença viral, de caráter agudo, altamente infecciosa, que acomete os tratos respiratórios e genito-urinário das aves (CAVANAGH & NAQI, 1997).

O vírus pertence ao gênero *Coronavírus*, da família *Coronaviridae*, os quais são estruturalmente e antigenicamente diferentes das espécies de *Coronavírus* que infectam os mamíferos. Os Vírus da Bronquite Infecciosa (VBI) das Galinhas são geneticamente idênticos com os *Coronavírus* que infectam os perus e os faisões (CAVANAGH et al., 2002), no entanto são considerados espécie específicos, causando doenças principalmente em galinhas (CAVANAGH, 2003).

De acordo com BACK (2004) a morbidade geralmente é elevada podendo chegar a 100%, causando impacto econômico devido a problemas reprodutivos ou respiratórios. A mortalidade é variável, dependendo da cepa do vírus, idade, condição imunitária da ave e dos agentes etiológicos secundários presentes, como por exemplo: *E. coli*, *Mycoplasma gallisepticum* e vírus da doença de Newcastle.

Foram isolados coronavírus de pombos na Austrália, revelando uma relação antigênica com o VBI de galinhas, pois quando pintos SPF foram inoculados com o vírus de pombos, foram observados sinais respiratórios e produção de anticorpos anti VBI nos pintos (BARR et al., 1988).

KARESK et al. (1999) relataram o primeiro caso de pingüins (*Eudyptes chrysocomes*) soropositivos para o VBI das galinhas.

Há relatos de coronavírus causando BI em perus (*Meleagris gallopavo*), galinha-D'angola (*Numida meleagridis*), em psitaciformes, pombas, avestruzes (GERLACH, 1994), em faisão (*Phasianus colchicus*) (CAVANAGH et al., 2002), cerceta (*Anas crecca*) e pavão (*Pavo cristatus*) (LIU et al., 2005). E a presença de coronavírus em *Anser anser*, *Columba livia*, *Anas platyrhynchos* (JONASSEN et al., 2005) e *Amazona viridigenalis Cassin* (GOUGH et al., 2006).

No Brasil, foi diagnosticada pela primeira vez no ano de 1957 pelo professor Hipólito, no estado de Minas Gerais (HIPÓLITO et al., 1979). Atualmente, em galinhas está amplamente distribuída em todas as regiões, sendo mais prevalente em locais com maiores concentrações de criações de galinhas de produção, acometendo tanto aves jovens como aves adultas, sendo o sorotipo mais prevalente o Massachusetts (BACK, 2004). Em aves exóticas, o VBI foi isolado em galinhas d' angola (ITO et al., 1991; MIYAJI, 1996) e de codornas japonesas (DI FABIO et al, 2000).

O VBI das galinhas multiplica-se principalmente nas células epiteliais do trato respiratório, intestinal, renal e oviduto. A disseminação do vírus entre as aves do mesmo lote e entre lotes é bastante rápida. Ocorre principalmente por inalação de partículas virais expelidas pelo trato respiratório ou eliminadas pelas fezes (BACK, 2004). Em geral, os portadores podem transmitir o vírus até 2 meses depois da infecção inicial e as aves recuperadas da infecção permanecem susceptíveis a infecção subseqüente por outro sorotipo (DI FABIO & ROSSINI, 2000).

O diagnóstico sorológico do VBI das galinhas é convencionalmente realizado pela Soroneutralização (SN) (GELB JR. et al., 1991), porém é uma técnica considerada onerosa e de difícil aplicação por ser realizada em cultura de células (DI FABIO & ROSSINI, 2000).

GARCIA & BANKOWSKI (1981) relataram o uso de ELISA para avaliar anticorpos contra o VBI. No Brasil são utilizados kits de ELISA importados, o que torna sua aplicação onerosa.

No sentido de fornecer um método alternativo para a detecção de anticorpos anti o VBI das galinhas, SAKAI et al. (2000) desenvolveram e aplicaram um método novo de ELISA que usa a lectina Concanavalina A (Con A) no sistema

Competitivo-ELISA (C-ELISA). Estes pesquisadores demonstraram que a técnica C-ELISA-Con A, pode ser um método alternativo, simples e de baixo custo para o diagnóstico da BI das galinhas.

A melhor forma de prevenir a ocorrência de BI nas galinhas é associar cuidados de biosseguridade, como controlar o fluxo de pessoas, o acesso de veículos de ração e de ovos de áreas não infectadas para áreas infectadas e seguir um programa de vacinação em galinhas adequado para cada região (FABRICANT, 1998; BACK, 2004).

As vacinas inativadas não provocam reação ou doença, protegem a integridade do aparelho reprodutor, porém não impedem infecção das vias respiratórias superiores, necessitando de prévia sensibilização por vacina viva dos sorotipos Mass, Arkansas, D274 (DI FABIO & ROSSINI, 2000).

3. OBJETIVOS

3. 1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi pesquisar, em aves selvagens que vivem nas proximidades de instalações avícolas, agentes etiológicos considerados patogênicos para galinhas e, eventualmente para seres humanos.

3. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3. 2. 1. Averiguar a presença de agente etiológico:

1. *Salmonella* sp.

3. 2. 2. Averiguar a presença de anticorpos anti:

1. *Salmonella* Pullorum (SP),
2. *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e *Mycoplasma synoviae* (MS),
3. Vírus da doença de Newcastle (VDN),
4. Vírus da Bronquite infecciosa (VBI).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4. 1. Locais

As aves utilizadas nesta pesquisa foram oriundas de dois locais diferentes.

LOCAL 1: Uma parte da pesquisa (colheita de material biológico) foi realizada com o apoio logístico de uma empresa avícola, que gentilmente disponibilizou o seu espaço físico (Figura 1) (proximidades das instalações, fábrica de rações, galpões de crescimento e de produção da fazenda de matrizes) para a captura das aves.

Figura 1: Foto aérea da fazenda onde são visíveis vários núcleos e cada um composto por 2 galpões.

A fazenda é constituída por 14 núcleos, onde cada núcleo compreende 2 galpões que medem 125x10 metros, silos de ração, vestuário, cozinha e fumigador. A distância entre os núcleos é de aproximadamente 500 metros.

A área localizada ao redor de cada núcleo, foi dividida em Zonas I, II e III (Figura 2), sendo que as Zonas I e II (áreas limpas) localizam em uma área de 200x60 metros. A Zona I compreendeu uma área gramada circunscrevendo os galpões. A Zona II compreendeu uma área localizada ao redor da Zona I com metragem de 5 a 10 metros de largura, onde não existe nenhuma vegetação, apenas terra. Ao redor da Zona II, existe vegetação variada similar a do cerrado com árvores, arbustos, gramíneas, sendo uma parte vegetação original e outra parte reflorestada com mudas nativas e onde existe a presença de gado. Esta área foi denominada de Zona III (área suja). Entre a Zona II e III existe cerca elétrica impedindo o acesso do gado às proximidades do galpão.

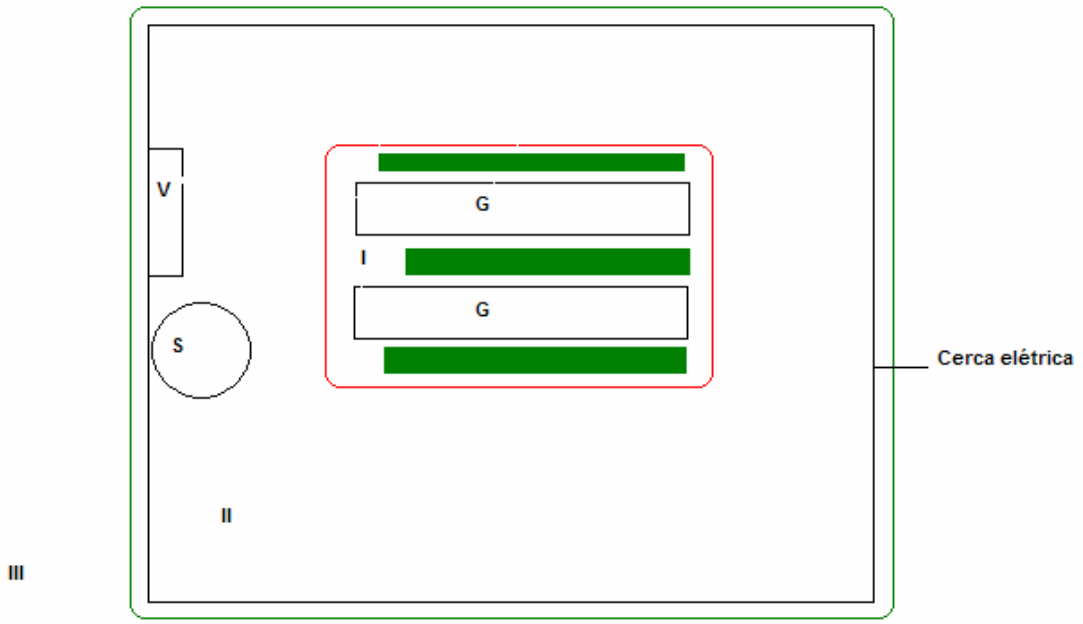


Figura 2: Visualização das limitações entre as Zonas I, II e III. G: galpões, V: vestuário, S: silo de ração.

LOCAL 2: Ambulatório de Animais Silvestres, anexo ao Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" (HVGLN), FCAV - UNESP, Campus Jaboticabal-SP. Neste local são recebidas aves oriundas de vida livre encaminhadas por bombeiros, polícia florestal e pelas concessionárias de rodovias da região.

4. 2. Aves

Foram utilizadas nesta pesquisa 82 exemplares de aves selvagens.

Ao longo de um ano (2005-2006), foram capturadas nas instalações da empresa avícola (Local 1) um total de 50 aves selvagens, denominadas de Grupo 1 (G1). Essas capturas e as respectivas colheitas de materiais biológicos foram devidamente autorizadas pelo IBAMA-SP (Processo n°02027.000775/2005-25; licença IBAMA n° 500/2005).

Para a captura das aves selvagens, foram utilizadas diversas técnicas descritas na literatura (BUB, 1995), porém também foi necessário desenvolver técnicas de capturas adaptadas utilizando redes, gaiolas, armadilhas (Figura 3) de acordo com a biologia e comportamento das diversas espécies em questão.

Figura 3: Modelo de armadilha tipo arapuca feita de ripas de madeira e com atrativo de alimento no seu interior. (Foto: Eliane de Sousa).

Do Ambulatório de Animais Silvestres do HVGLN (Local 2) foi colhido material biológico de 32 aves selvagens, denominadas de Grupo 2 (G2).

4. 3. Exame clínico

As aves foram identificadas, pesadas e examinadas clinicamente, observando-se o estado nutricional, temperatura corporal, coloração de mucosas, aspectos gerais de aberturas naturais (bico, olhos, ouvidos, cloaca) e presença de ectoparasitas.

4. 4. Colheita de material biológico

4. 4. 1. Sangue

A colheita de sangue foi realizada com a ave anestesiada com Tiletamina associada a Zolazepan (Zoletil 50®), na dose 2-10 mg/Kg (variando de acordo com a espécie aviária) por via intramuscular (IM).

Dependendo do tamanho e da espécie da ave em questão, variou o volume e o local da punção de sangue, podendo ser veia ulnar, braquial, jugular ou do tarso. Foram utilizadas seringas de insulina ou de 3 mL e agulhas de calibre 13 x 4,5 ou 25 x 7. O sangue após a colheita, foi centrifugado a 100 g por 10 minutos, o soro separado, fracionado e armazenado em tubos plásticos a -20°C.

4. 4. 2. Suabes

Para a colheita de amostras de cloaca e de traquéia, foram utilizados suabes estéreis nas 82 aves selvagens com o intuito de realizar, se necessário, exames confirmatórios da técnica de sorologia. Os suabes foram identificados e conservados em tubos plásticos a -20°C.

Após a colheita de suabes e de sangue, as aves do G1 já anestesiadas (item 4. 4. 1), receberam uma dose complementar do mesmo anestésico (Zoletil 50®, 40 mg/Kg), com o objetivo de eutanasiar as aves. Imediatamente foi realizada a dissecção da veia jugular para sangria completa e colheita do máximo de sangue.

4. 4. 3. Órgãos e conteúdo intestinal

Foram colhidos assepticamente, logo após a morte da ave, fragmentos de fígado, baço, gônadas e conteúdo intestinal, sendo colocados em tubos de ensaio estéreis contendo solução de pré-enriquecimento (caldo nutriente Difco®). O conteúdo intestinal foi colocado em tubo separado do restante dos órgãos.

Os soros, suabes, órgãos e conteúdo intestinal descritos no item 4. 4, foram destinados para exames sorológicos e cultura, conforme a Figura 4.

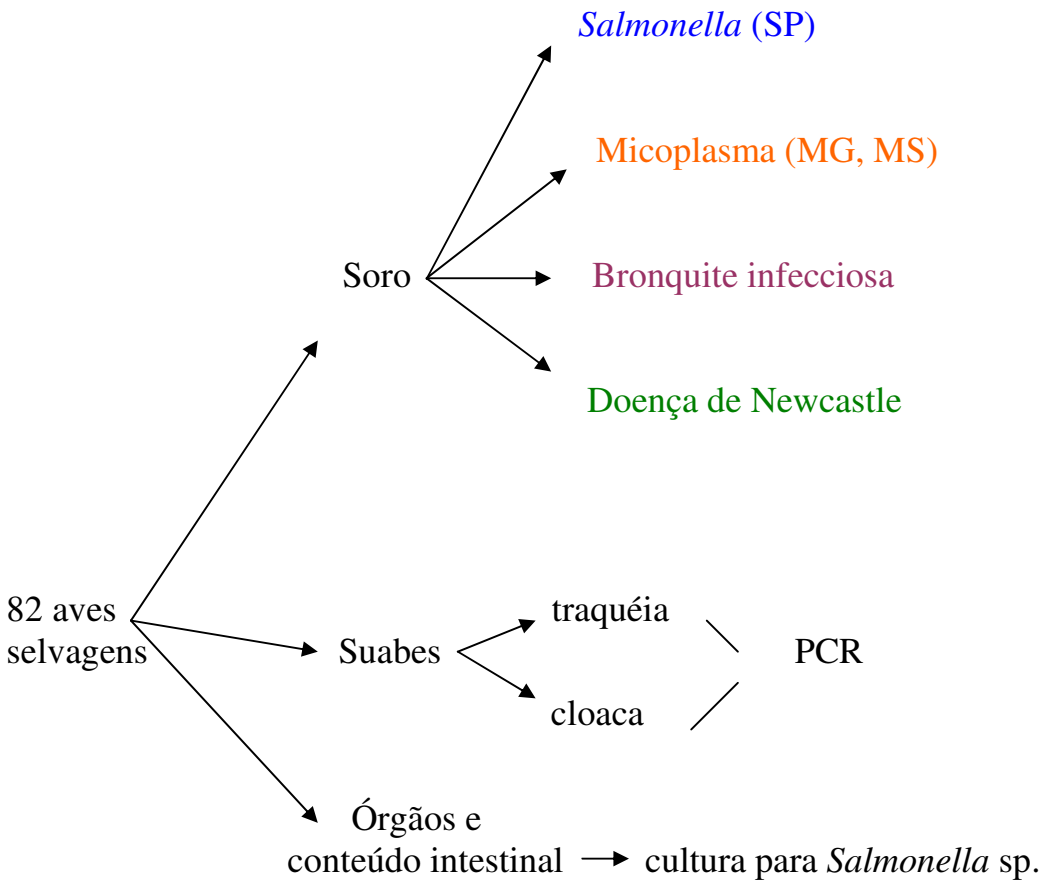


Figura 4: Esquema mostrando as diversas etapas da colheita do material biológico e seus respectivos destinos.

4. 5. Técnicas laboratoriais

Os materiais biológicos obtidos das aves (item 4. 4.) foram destinados para o laboratório de Ornitopatologia do Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP-Jaboticabal, sob orientação do prof. Dr. Ângelo Berchieri Junior, para pesquisa de *Salmonella* sp. em órgãos e conteúdo intestinal; e para um laboratório avícola particular para detecção de anticorpos anti-*Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*, *Salmonella*, Vírus da Doença de Newcastle e Vírus da Bronquite Infecciosa.

4. 5. 1. Teste de Inibição de Hemaglutininas (HI) para a detecção de anticorpos anti-VDN (anexo I)

Para a detecção de anticorpos anti o Vírus da Doença de Newcastle (VDN), foi realizada a reação de Inibição da Hemaglutinação (HI), sendo essa técnica descrita por CUNNINGHAM (1971).

Inicialmente, foi determinada a atividade hemaglutinante (4UHA) da estirpe vacinal lentogênica Lasota do VDN utilizada no teste. Tal estirpe era mantida por passagens sucessivas na cavidade alantóide de ovos embrionados provenientes de galinhas SPF, com 8 a 10 dias de desenvolvimento. Os soros utilizados na reação, foram inativados a 56°C durante 30 minutos e, novamente submetidos à temperatura de 56°C por 10 minutos, para a remoção de possíveis inibidores não específicos da HA (atividade hemaglutinante viral). Com o auxílio de micropipetas calibradas os soros foram submetidos a diluições seriadas de razão 2 (1: 2 até 1: 2048) num volume de 25 µL por cavidade da microplaca. As diluições foram realizadas com solução salina tamponada em fosfato (PBS: 0,01 MPO4= 0,14 M Nacl pH 7,2). Este mesmo tampão também foi utilizado para o ajuste da concentração constante do antígeno viral, ou seja, 4 UHA. A seguir, 25 µL da suspensão de antígeno foi colocada em contato com as diferentes diluições dos soros e incubados à temperatura ambiente por 15 minutos e, logo após, foram adicionados 25 µL da suspensão de hemáceas de galinhas SPF, previamente

padronizada com a solução tampão PBS pH 7,2 a 1,0% (0,5 mL de hemáceas + 50 mL de PBS) padronizada em espectrofotômetro.

A leitura da reação foi realizada após um período de incubação de 30 minutos à temperatura ambiente, tempo suficiente para ocorrer a deposição nítida das hemáceas nas cavidades dos controles da reação. O título final do soro foi expresso pela recíproca da maior diluição deste, capaz de inibir completamente a atividade hemaglutinante viral. Obedecendo aos padrões e normas da OIE, no caso da utilização de antígenos na concentração de 4 UHA, amostras com título igual ou superior a 16 foram considerados positivos.

4. 5. 2. Teste para diagnóstico de anticorpo anti-Mycoplasma

Todas as amostras submetidas à avaliação sorológica para MG e MS foram testadas pela técnica de SAR (Soroaglutinação Rápida em Placa), conforme metodologia preconizada pela OIE (2007). A prova permite o reconhecimento macroscópico (chamado aglutinação), resultante da união de anticorpos específicos das amostras dos soros teste e o antígeno.

A técnica de SAR consiste na homogenização de uma gota de antígeno (MG ou MS) fabricado no próprio laboratório, com uma gota de soro a ser testado, sendo realizado em placa de vidro e na temperatura ambiente de 20 a 25°C, pois em temperaturas superiores pode ocorrer falsa reação positiva de auto-aglutinação.

A reação positiva é caracterizada pela aglutinação no prazo de dois minutos após a mistura do soro com o antígeno, sendo cada teste realizado junto com controles positivos e negativos, este último obtido pela reação de antígeno puro misturado a solução salina tamponada.

As reações de SAR consideradas positivas para MS foram encaminhadas para a realização de HI, semelhante ao descrito no item 4. 5. 1. As reações de SAR positivas para MG foram realizados PCR utilizando os suabes de traquéia. Tanto a técnica de HI como o PCR foram realizadas para confirmar a positividade da amostra.

4. 5. 3. Teste para diagnóstico de anticorpo anti-*Salmonella* (teste de pulorose)

As amostras de soro foram encaminhadas para o teste SAR para SP conforme metodologia preconizada pela OIE (2007), foram realizadas conforme descrito na SAR para *Micoplasma* (item 4. 5. 2), sendo o antígeno utilizado a SP, fabricado pelo laboratório avícola.

4. 5. 4. Teste de Soroneutralização (SN) em cultivo celular para pesquisar a presença de anticorpo anti-VBI (anexo II)

A determinação do título da suspensão viral (200 doses infectantes) foi previamente realizada pelo método de REED & MUENCH (1938).

O teste de Soroneutralização, foi realizado pelo procedimento β, ou seja, fazendo reagir várias diluições do soro teste, frente a diluição viral constante, conforme WOOLEY et al. (1976). Foram adicionados 100 µL de meio de cultivo celular (Eagle sem bicarbonato, com L Glutamina, acrescido de sulfato de gentamicina e 1,5% de dextrose) em todas as cavidades da microplacas rígidas de fundo chato. Em seguida, foram adicionados 50 µL das diferentes diluições dos soros testes (diluídos em razão 2) na microplaca, a partir da segunda coluna (controle do soro), deixando a primeira coluna para o controle de células. A seguir foi colocado 50 µL de suspensão viral em todas as cavidades da microplaca a partir da terceira coluna, seguida de incubação por 30 minutos, a temperatura de 37°C. Imediatamente após, foram adicionados em todas as cavidades da microplaca, 100 µL de suspensão de células renais de pintos de 1 dia SPF (800.000 células/1000 mL).

A seguir, as microplacas foram recobertas com tampas plásticas e deixadas a incubar por 3 dias consecutivos em estufa de CO2. A leitura final da reação foi realizada no último dia com auxílio de microscópio invertido, para avaliar a presença ou não de efeito citopático (EC).

4. 5. 5. Cultura de órgãos e conteúdo intestinal para *Salmonella* sp.

As etapas necessárias para o isolamento e identificação de espécimes do gênero *Salmonella* seguem uma seqüência que inclui as etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento direto (seletivo), plaqueamento em meios semi-sólidos, análise bioquímica e tipificação sorológica (LITCHFIELD, 1973).

Os órgãos (fígado, baço e gônadas) e conteúdo intestinal coletados de acordo com o item 4. 4. 3, foram destinados para a cultura de *Salmonella,* sendo armazenados separadamente em frascos contendo solução de pré-enriquecimento (caldo nutriente Difco®) e incubados por 24 horas a 37°C. Em seguida, alíquotas de 0,1 mL desta solução foi transferida para tubos contendo 10 mL de Rappaport (RP) e 1 mL da solução dos órgãos e conteúdo intestinal com o caldo nutriente foi transferida para tubos contendo 10 mL de Selenito (SN) e incubados a 37° C por 24 horas. Após o enriquecimento seletivo, cada caldo foi plaqueado em 2 diferentes meios de cultivo: Ágar Verde Brilhante (OXOID CM 263) e Ágar de MacConkey (OXOID CM 115), todas as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. De cada placa, 3 colônias sugestivas de pertencer ao gênero *Salmonella* foram inoculadas em tubos contendo agar TSI (Triple Sugar Iron) (OXOID CM 277) inclinado e em LIA (Lisina Iron Agar) (OXOID CM 381). As colônias positivas no LIA e TSI foram submetidas ao teste de aglutinação em lâmina, com soro polivalente anti-antígenos somáticos (O) e soro polivalente anti-antígenos flagelados (H) de *Salmonella* e posteriormente encaminhadas ao Laboratório Adolfo Lutz, SP, para a tipificação.

5. RESULTADOS

No final deste item estão todos os resultados copilados em duas tabelas.

5. 1. Aves

No total foram analisadas 82 aves, sendo 50 capturadas (G1) e 32 encaminhadas (G2). Do G1, oito aves (16%) foram capturadas na zona II e 42 animais (84%) na zona III, não sendo nenhuma ave capturada na zona I. Quanto a ocorrência das espécies, foram capturados duas espécies, quero-quero e coruja buraqueira, na zona II. Na zona III, ocorreu a captura de todas outras espécies além de quero-quero e coruja buraqueira.

Foram capturadas 24 aves (48%) durante os meses de primavera, 16 aves (32%) no outono, 6 aves (12%) no verão e 4 aves (8%) no inverno.

Todas as aves estudadas pertenciam a 11 ordens e 19 espécies. As ordens com maior número de representantes foram Columbiformes (19,51%), Charadriiformes (18,29%) e Strigiformes (18,29%).

Os dados referentes as espécies capturadas (G1) e encaminhadas (G2) e suas respectivas freqüências, estão listadas na Tabela 1.

Das aves que foram sacrificadas do G1, 28 (56%) eram fêmeas e 22 (44%) eram machos, do G2, oito (57%) eram fêmeas e seis (43%) eram machos, sendo que a freqüência de fêmeas e machos, não foi estatisticamente significativa ($p= 0,325$) pelo teste das proporções. Todas as aves eram adultas.

Tabela 1: Relação da quantidade das ordens e espécies de aves estudadas e seu respectivo local de origem G1 e G2.

Ordem e espécies	N° de aves G1	G2
Columbiformes (19,51%)		
rolinha (*Columbina talpacoti*)	2	-
pomba doméstica (*Columba livia*)	-	9
pomba avoante (*Zenaida auriculata*)	1	4
Charadriiformes (18,29%)		
quero-quero (*Vanellus chilensis*)	15 (5+10)*	-
Strigiformes (18,29%)		
coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	9 (3+6)*	1
coruja suindara (*Tyto alba*)	2	3
Gruiformes (10,97%)		
seriema (*Cariama cristata*)	5	4
Passeriformes (10,97%)		
sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	8	-
bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*)	1	-
Psittaciformes (7,32%)		
maritaca (*Aratinga leucophthalmus*)	-	5
periquito rei (*Aratinga áurea*)	1	-
Ciconiiformes (4,9%)		
urubu (*Coragyps atratus*)	-	2
socó (*Nycticorax nycticorax*)	-	1
curicaca (*Theristicus caudatus*)	1	-
Cuculiformes (3,65%)		
anu branco (*Guira guira*)	2	1
Falconiformes (2,44%)		
gavião (*Buteo magnirostris*)	1	1
Piciformes (2,44%)		
tucano (*Ramphastos toco*)	-	1
pica-pau do campo (*Colaptes campestris*)	1	-
Apodiformes (1,22%)		
beija-flor (*Eupetomena macroura*)	1	-
TOTAL	50	32

* : Valores dentro do parêntese referem-se às aves capturadas na Zona II e III, respectivamente.

5. 2. Exame clínico

Em todas as aves examinadas foram considerados parâmetros como: estado nutricional, coloração de mucosas e aberturas naturais. Apenas um quero-quero (1,3%), que foi encontrado em uma fossa séptica, apresentou desidratação e mau estado nutricional. A temperatura corpórea variou de 39° a 41,8°C, sendo considerada dentro dos parâmetros de normalidade. Quanto a procura por ectoparasitos, nenhum foi encontrado.

5. 3. Exames Sorológicos

Das 82 amostras de soro, duas (n° 5 e 10) hemolisaram, sendo descartadas para esse exame.

5. 3. 1. Bronquite Infecciosa

Em relação ao diagnóstico de BI, todos os 80 soros testados foram negativos.

5. 3. 2. Doença de Newcastle

Para esse estudo foram utilizados 74 amostras, pois de seis aves o volume de soro obtido foi insuficiente. Todos os soros testados foram negativos.

5. 3. 3. *Mycoplasma* sp.

Na SAR para *Mycoplasma*, foram analisados 80 soros tanto para MG como MS. Seis soros (aves n° 8, 65, 68, 69, 73, 74) reagiram positivamente para MS, sendo em seguida realizado o teste de HI e confirmadas negativas. Um soro (ave n° 19) reagiu positivamente para MG, sendo feito em seguida o controle pelo teste de PCR do suabe de traquéia e o resultado foi negativo. Dois soros (aves n° 13, 45) reagiram tanto para MS como para MG e, ao serem submetidos aos testes de confirmação os resultados foram negativos (Figura 5).

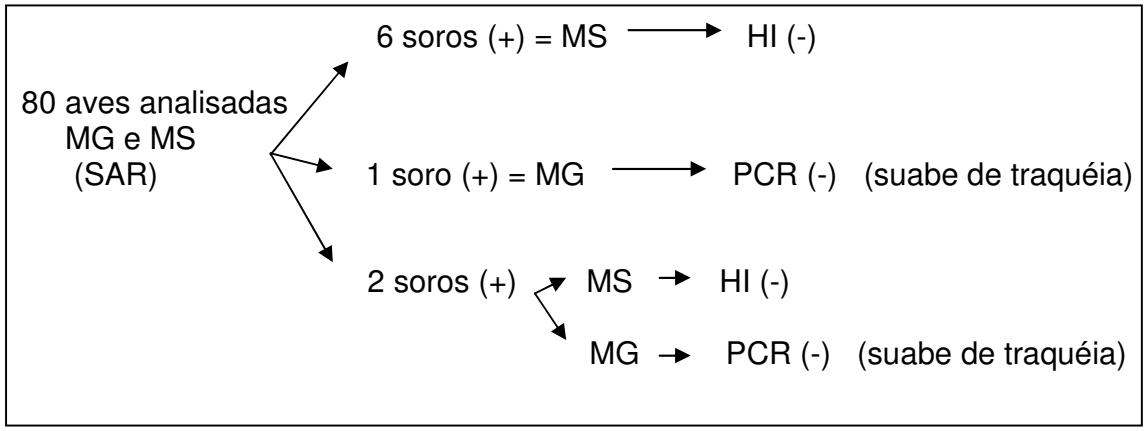


Figura 5: Esquema mostrando o número de amostras de material biológico colhido e seus respectivos destinos quanto às técnicas laboratoriais empregadas para pesquisa de *Mycoplasma* e/ou seu anticorpo.

5. 3. 4. *Salmonella* sp.

Foram realizados testes de SAR para SP em 80 soros e apenas uma ave n° 75 (curicaca - *Theristicus caudatus*) foi positiva, sendo o respectivo suabe de cloaca encaminhado para a cultura microbiológica.

5. 4. Cultura microbiológica

De cada uma das 64 aves estudadas foi realizada a cultura de órgãos e de conteúdo intestinal. Na ave n° 38 (seriema – *Cariama cristata*) foi isolada *Salmonella* Muenchen dos órgãos e *Salmonella* Saintpaul do conteúdo intestinal. De uma outra ave n° 61 (pomba - *Zenaida auriculata*) foi isolada *Salmonella* Enteritidis do conteúdo intestinal.

Da ave n° 75, cuja sorologia foi positiva e a cultura de órgãos e conteúdo intestinal foi negativa, da cultura do suabe de cloaca foi isolada *Salmonella* Muenchen (Figura 6).

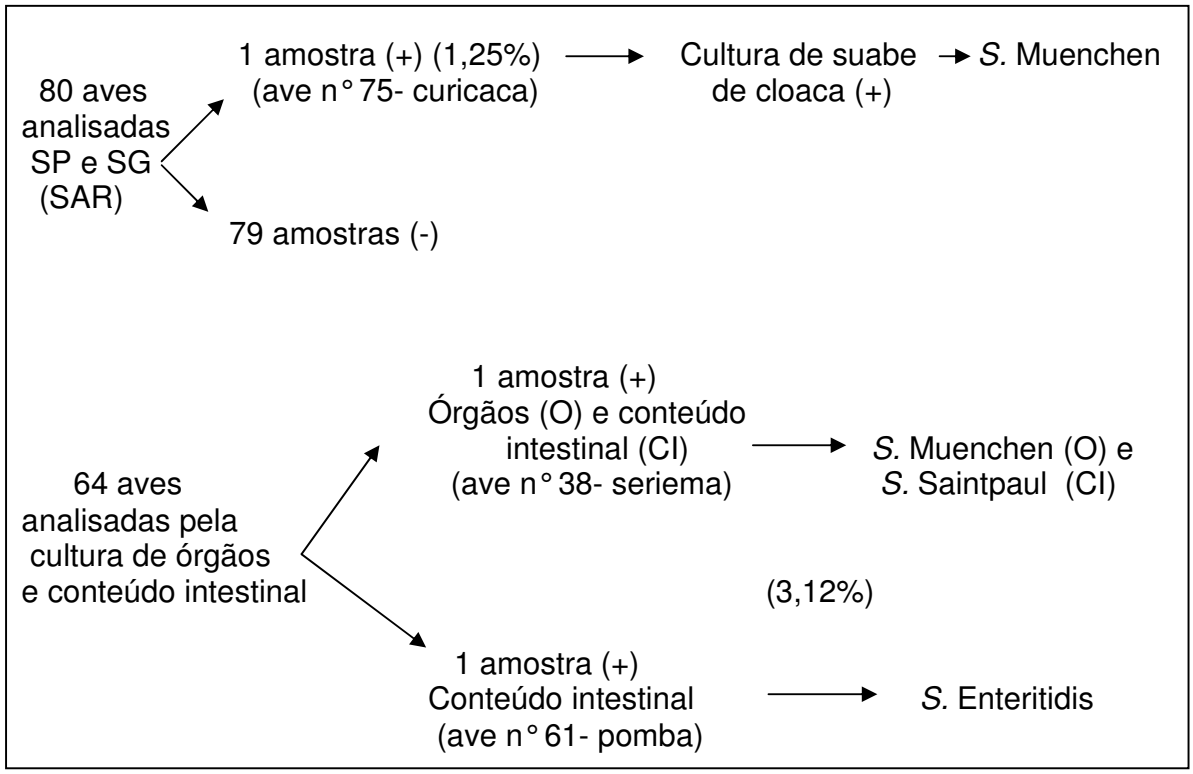


Figura 6: Esquema mostrando o número de amostras de material biológico colhidas, seus respectivos destinos quanto as técnicas laboratoriais empregadas na cultura de *Salmonella* sp. e/ou no seu anticorpo pesquisado.

A seguir estão apresentadas as tabelas 2 e 3 nas quais estão detalhadas as espécies das aves do G1 e G2, respectivamente, e os seus resultados dos exames laboratoriais.

Tabela 2: Resultados dos testes realizados para *Salmonella*, *Mycoplasma*, BI e DN das aves do G1.

N° da ave	ave/nome científico	*Salmonella*		*Mycoplasma* (SAR)		*Mycoplasma*		BI	DN
		SAR (SP)	cultura (*)	MG	MS	HI	PCR	(SN)	(HI)
1	coruja buraqueira *(Speotyto cunicularia*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
2	anu branco (*Guira guira*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
3	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
4	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
5	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	-	neg.	-	-	-	-	-	-
6	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
7	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
9	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
10	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	-	neg.	-	-	-	-	-	-
13	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	POS.	POS.	neg.	neg.	neg.	neg.
17	rolinha (*Columbina talpacoti*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
18	coruja suindara (*Tyto alba*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
19	rolinha (*Columbina talpacoti*)	neg.	neg.	POS.	neg.	-	neg.	neg.	neg.
20	seriema *(Cariama cristata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
21	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
22	anu branco (*Guira guira*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
32	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
33	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.

34	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	-
35	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
36	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
37	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
38	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	POS.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
39	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
40	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
49	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
50	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
51	bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
52	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
53	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
54	sabiá do campo (*Mimus saturninus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
57	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
58	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
59	pica-pau-do-campo (*Colaptes campestris*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
60	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
61	pomba de bando (*Zenaida auriculata*)	neg.	POS.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
65	coruja suindara (*Tyto alba*)	neg.	neg.	neg.	POS.	neg.	-	neg.	neg.
66	periquito-rei (*Aratinga áurea*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
67	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.

68	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	POS.	neg.	-	neg.	neg.
69	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	POS.	neg.	-	neg.	neg.
70	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
71	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
72	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
73	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	POS.	neg.	-	neg.	neg.
74	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	POS.	neg.	-	neg.	neg.
75	curicaca (*Theristicus caudatus*)	POS.	POS.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
76	gavião carijó (*Buteo magnirostris*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
77	quero-quero (*Vanellus chilensis*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
78	beija-flor (*Eupetomena macroura*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.

neg.: amostra negativa

POS.: amostra positiva

-: amostra não analisada

(*): cultura para órgãos, conteúdo intestinal, suabe

BI: Bronquite Infecciosa SN: Soroneutralização

DN: Doença de Newcastle HI: Inibição de Hemaglutinação

Tabela 3: Resultados dos testes realizados para *Salmonella*, *Mycoplasma*, BI e DN das aves do G2.

N° da ave	ave/nome científico	*Salmonella*		*Mycoplasma* (SAR)		*Mycoplasma*		BI	DN
		SAR (SP)	cultura (*)	MG	MS	HI	PCR	(SN)	(HI)
8	gavião carijó (*Buteo magnirostris*)	neg.	-	neg.	POS.	neg.	-	neg.	neg.
11	coruja suindara (*Tyto alba*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	-
12	maritaca (A*ratinga leucophthalmus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
14	maritaca (A*ratinga leucophthalmus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
15	maritaca (A*ratinga leucophthalmus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
16	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
23	maritaca (A*ratinga leucophthalmus*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	-
24	coruja buraqueira (*Speotyto cunicularia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
25	tucano toco (*Ramphastos toco*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
26	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
27	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
28	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
29	pomba de bando (*Zenaida auriculata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	-
30	pomba de bando (*Zenaida auriculata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	-
31	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	-
41	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
42	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
43	urubu (*Coragyps atratus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.

44	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
45	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	-	POS.	POS.	neg.	neg.	neg.	neg.
46	urubu (*Coragyps atratus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
47	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
48	coruja suindara (*Tyto alba*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
55	socó (*Nycticorax nycticorax*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
56	pomba doméstica (*Columba livia*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
62	coruja suindara (*Tyto alba*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
63	pomba de bando (*Zenaida auriculata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
64	pomba de bando (*Zenaida auriculata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
79	maritaca (A*ratinga leucophthalmus*)	neg.	-	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
80	anu branco (*Guira guira*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
81	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.
82	seriema (*Cariama cristata*)	neg.	neg.	neg.	neg.	-	-	neg.	neg.

neg.: amostra negativa

POS.: amostra positiva

-: amostra não analisada

(*): cultura para órgãos, conteúdo intestinal, suabe

BI: Bronquite Infecciosa SN: Soroneutralização

DN: Doença de Newcastle HI: Inibição de Hemaglutinação

6. DISCUSSÃO

A idéia dessa pesquisa surgiu a partir do interesse da empresa avícola. Para manter a qualidade dos pintinhos comerciais, a empresa investe em medidas que proporcionem saúde aos seus plantéis e em medidas sanitárias dos funcionários. A preocupação teve como ponto de partida a presença de várias espécies de aves selvagens nas proximidades das instalações de galinhas poedeiras matrizes, e que, eventualmente, poderiam transmitir agentes patogênicos para estas.

Na literatura, vários autores relataram que aves selvagens carreiam agentes patogênicos (RAPPOLE & HUBALEK, 2000; HUBALEK, 2004; CARRASCO, 2005), podendo causar perdas econômicas na avicultura (MOHAMMED et al., 1987; HLINAK et al, 1998; CAVANAGH, 2007) ou afetando a saúde pública (BERCHIERI JR., 2000; RASO, 2006).

Neste trabalho a quantidade de aves selvagens capturadas (G1), variou nas diferentes estações do ano, ocorrendo mais capturas nos meses quentes, coincidindo talvez com a maior oferta de alimentos (SIGRIST, 2006).

O sucesso na captura das aves (G1) foi freqüentemente influenciada pelas condições climáticas e problemas logísticos de transporte e de mão-de-obra. O tamanho da granja dificultou o deslocamento para vistoriar a presença de aves selvagens dentro de armadilhas próximas aos 14 núcleos da fazenda.

A atividade e o trânsito dos funcionários tanto nos galpões e suas proximidades, foi inversamente proporcional à quantidade de aves capturadas nas diversas zonas (I, II, III), esses resultados corroboram com COSTA (2002), ao pesquisar o comportamento de defesa entre quero-queros. Devido às zonas I e II serem consideradas áreas limpas onde o acesso só foi permitido após muda de vestuários e banhos, dificultou e tornou mais lento o acesso às armadilhas e possíveis aves capturadas. Dessa maneira o índice de captura nas zonas I e II foi, 0% e 16%, respectivamente. A maioria das aves (84%) foi capturada na zona III,

onde havia pouco trânsito de pessoas e existia vegetação mais abundante e variada.

As espécies mais capturadas foram: quero-quero, coruja buraqueira e sabiá do campo, possivelmente por serem mais freqüentes no local e devido a sua distribuição endêmica na região sudeste (SIGRIST, 2006). Presença de pássaros, corvos e pombos próximos às galinhas foram também descritos por SCHELLING et al. (1999).

Além das aves capturadas, foram visualizadas durante o experimento, aves migratórias, tais como: anatídeos (*Amazonetta brasiliensis* e *Dendrocygna viduata*), passeriformes (*Notiochelidon cyanoleuca* e *Tyrannus savana*) e ciconiformes (*Ardea alba*), e que por motivos técnicos não foram possíveis suas capturas.

No G2, as espécies mais encaminhadas foram: pomba doméstica e maritaca, por habitar áreas urbanas e terem comportamento sinantrópico (HÖFLING & CAMARGO, 1999; SIGRIST, 2006) e seriema, devido ao freqüente atropelamento em rodovias e estradas. Nesse grupo, a quantidade de animais analisados dependeu da casuística dos acidentes e das pessoas para encaminhá-los ao hospital veterinário.

Quanto ao sexo das aves capturas (G1) e encaminhadas (G2) não foi observado uma diferença estatisticamente significativa entre fêmeas (56,25%) e machos (43,75%).

Todas as aves consideradas nessa pesquisa eram adultas, possivelmente pelo fato dessas aves saírem à procura de alimentos para os filhotes ou devido ao comportamento de defesa territorial, principalmente observado em quero-queros adultos, descrito por COSTA (2002). Essa foi a espécie mais numerosa (15 exemplares) entre as aves analisadas nesse experimento.

Em relação ao exame clínico, 98,7% das aves estudadas não apresentaram sinais clínicos de doença, inclusive as aves que foram positivas nos exames posteriores. Resultados semelhantes foram descritos em pesquisas de campo, nas quais foram pesquisadas diversas doenças em aves de diferentes espécies de vida livre, tais como *Chlamydophila psittaci em psitaciformes (*RASO et al., 2006);

Salmonella sp. em pombos domésticos (MARCIANO, 2004) e Doença de Newcastle em pombos domésticos (CARRASCO, 2005) e em irerês (DEMÉTRIO, 2002).

6. 1. Bronquite Infecciosa

Em relação aos exames sorológicos para detectar a presença de anticorpos contra o VBI, foram testados 80 soros de aves selvagens, pela técnica de SN e todos foram negativos. Resultados semelhantes foram observados em codornas (*Coturnix japonica*), no Paraná e São Paulo, usando a técnica de ELISA (TAMEHIRO et al., 2001). Os resultados sorológicos negativos para o VBI encontrados nessa pesquisa podem ser justificados possivelmente pela falta de conhecimento da cinética de anticorpos nas diversas espécies de aves selvagens, pois como é de conhecimento, nas galinhas por exemplo, a concentração máxima ocorre por volta do sétimo dia pós-infecção, podendo persistir por 20 a 90 dias (DI FÁBIO & ROSSINI, 2000). Dessa maneira no presente estudo as aves podem não mais apresentar anticorpos no momento da colheita do sangue, ou ainda não ter dado tempo de iniciar a resposta imune humoral.

Para complementar o resultado dessa pesquisa do VBI, seria interessante realizar testes de PCR para esse agente, visto que pesquisadores usaram essa técnica em faisões e estorninhos e confirmaram a presença do agente, embora não fizeram sorologia pós-infecção indicando a resposta humoral da ave frente ao desafio (ALLRED et al., 1973, citado por CAVANAGH & NAQI, 1997).

No Brasil, embora o VBI das galinhas tenha sido isolado em galinhas d' angola (ITO et al., 1991; MIYAJI, 1996) e codornas japonesas (DI FABIO et al, 2000), faltam pesquisas para relatar a presença desse agente em aves selvagens. Por outro lado, pesquisadores de vários países relataram o isolamento de coronavírus em: *Anser anser*, *Columba livia*, *Anas platyrhynchos* (JONASSEN et al., 2005) e *Amazona viridigenalis Cassin* (GOUGH et al., 2006), mostrando que essas aves são susceptíveis ao agente e assim poderiam disseminá-lo. Do mesmo modo faltam pesquisas no Brasil, que detectam a presença de coronavírus específico de aves selvagens que poderiam ser patogênicos para as galinhas,

como mostrou uma pesquisa realizada na China, onde foi inoculado coronavírus de pombos em galinhas SPF, e essas desenvolveram pancreatite (QIAN et al., 2006).

6. 2. Doença de Newcastle

Nesse trabalho, todas as aves selvagens analisadas, quanto à presença de anticorpos contra o VDN, foram negativas na técnica de HI. Resultados semelhantes foram descritos em uma pesquisa ao analisar codornas (*Coturnix japonica*), utilizando a mesma técnica sorológica (TAMEHIRO et al., 2001). Num outro trabalho, utilizando a técnica (ELISA) em *Egretta tricolor* e *Tyto alba* (AGUIRRE et al., 1992), e *Buteo buteo*, *Columba livia*, *Passer domesticus* e *Pica pica* (SCHELLING et al, 1999), os resultados também foram negativos.

O resultado sorológico negativo para o VDN, encontrado nessa pesquisa, poderia ser explicado pela cinética e duração dos anticorpos na corrente circulatória (15 a 101 dias pós-infecção), observado em infecção experimental de pombas domésticas (CARRASCO, 2005), ou pelo fato, das aves nesse período não estarem disseminando o antígeno. No Brasil pesquisadores já relataram a presença do VDN detectado pelo PCR, em aves selvagens (DEMÉTRIO, 2002) e a presença de anticorpo em galinhas domésticas não vacinadas (OLIVEIRA JR. et al., 2003). Por outro lado numa pesquisa realizada com amostras fecais de diversas espécies de psitaciformes e passeriformes oriundos do tráfico e utilizando a técnica de RT-PCR, não houve amplificação de material genético desse agente (SAIDENBERG et al., 2006). Um outro trabalho também relata o insucesso no isolamento do vírus a partir de aves de fauna nativa, tanto de cativeiro como de vida livre (papagaios, cacatuas e periquitos), que conviviam com uma galinha clinicamente doente, e da qual foi isolada uma amostra de alta patogenicidade do agente, sugerindo que as aves silvestres eram refratárias (JOHNSON et al., 1986).

Para efeito de diagnóstico, a sorologia apenas não é suficiente, devendo ser acompanhada de outras técnicas para verificar a presença do material genético do antígeno (PCR).

6. 3. *Mycoplasma* sp.

Quanto à pesquisa de anticorpos anti *Mycoplasma* sp., foi utilizada a técnica de SAR para MG e MS, preconizada pela OIE (2007), em seguida realizado HI (MENDONÇA et al., 2004) e/ou PCR (NASCIMENTO et al., 1998) para confirmação das amostras positivas no SAR. Nesse experimento 9 aves (11,25%) reagiram positivamente para MG e/ou MS, pela técnica de SAR, dentre elas: 1 gavião (*Buteo magnirostris*), 3 corujas buraqueira (*Speotyto cunicularia*), 1 rolinha (*Columbina talpacoti*), 1 pomba doméstica (*Columba livia*), 1 coruja suindara (*Tyto alba*), 2 quero-quero (*Vanellus chilensis*).

Utilizando a mesma técnica sorológica e algumas aves da mesma espécie, entre elas: *Speotyto cunicularia*, *Tyto alba*, *Columbina inca* e *Dendrocygna autumnalis,* um trabalho realizado no México mostrou que todas as aves foram negativas para MG e MS (AGUIRRE et al., 1992). Da mesma forma, pesquisas realizadas com canários da terra (*Sicalis flaveola*) e pombas-rola (*Columbina picui*), mostraram resultados negativos tanto na SAR, como no PCR (FIORENTIN, 2004).

Nessa pesquisa os soros que reagiram positivamente para MS pela técnica de SAR, foram em seguida submetidos ao teste de HI, sendo confirmados negativos. Das aves, cujos soros reagiram positivamente para MG, foram realizados PCR do suabe de traquéia, sendo todas negativos.

Esses resultados aparentemente contraditórios foram também descritos na literatura, em galinhas consideradas negativas no SAR tanto para MG e MS, mas positivas pelo HI (NASCIMENTO et al., 1999) e galinhas negativas no SAR e ELISA, mas positivas no HI e PCR (NASCIMENTO et al., 2005). Pesquisas realizadas com codornas (*Coturnix japonica*), usando a técnica de SAR mostraram que as aves reagiram positivamente (7%) para MG e negativamente para MS, (TAMEHIRO et al., 2001). Outro estudo mostrou a presença do *Mycoplasma* spp. em 29% de passeriformes em cativeiro estudados, usando a técnica de PCR multiplex (DUARTE et al., 2006).

A presença de anticorpos contra *Mycoplasma* (MG e MS) e a ausência de isolamento desse patógeno pela técnica de PCR em algumas aves selvagens

analisadas nesse experimento, pode ser explicado por um possível contato dessas aves com galinhas vacinadas ou somente em contato com a vacinação contra esse agente. Outra possível explicação seriam as reações falso-positivas nas sorologias e os erros nos processamentos do PCR (FEBERWEE et al., 2005). A partir dos resultados sorológicos positivos obtidos nesse trabalho, seria importante elucidar a origem dos anticorpos, quanto a sua origem vacinal ou de campo.

Considerando que aves de vida livre podem ser acometidas por outros tipos de *Mycoplasma* como: *Mycoplasma buteonis* e *Mycoplasma sturni*, descritos por vários autores em "saker falcon" (*Falco cherrug*) (ERDÉLYI et al., 1999) e sabiá poliglota (*Mimus polyglottos*) (LEY et al., 1998), há uma necessidade de estudos com *Mycoplasma* sp. em aves selvagens, pois ainda é desconhecida a patogenicidade dos vários tipos desses agentes para as galinhas. Faltam pesquisas relatando a melhor técnica a ser empregada para diagnosticar esses agentes e seus respectivos anticorpos em aves selvagens.

6. 4. *Salmonella* sp.

Nesse estudo foi mostrado que tanto a ave com anticorpo anti-*Salmonella*, e/ou com a presença do agente isolado, não apresentaram sinais clínicos. Dados semelhantes foram descritos em pombas. MARCIANO (2004) isolou *Salmonella* sp. tanto de aves assintomáticas, como de aves com sintomas inespecíficos.

Nesse experimento foram testadas 80 amostras de soros para a presença de anticorpo anti-*Salmonella,* pela técnica de SAR e apenas uma ave (curicaca-*Theristicus caudatus*) foi positiva. Na cultura do suabe de cloaca dessa ave foi isolado *Salmonella* Muenchen. A provável explicação para que essa amostra tenha sido positiva no SAR e o resultado na cultura ter revelado um outro sorotipo não a SP, deve-se ao fato, que a técnica sorológica pode apresentar respostas falso positivas ou reações cruzadas para outras salmonelas, especialmente às do grupo D (BERCHIERI JR., 2000). A cultura de órgãos e conteúdo intestinal dessa ave foi negativo, sendo esse conteúdo colhido em duas porções distintas do intestino. Uma possível explicação do não isolamento a partir do conteúdo

intestinal seria, que a *Salmonella* isolada no suabe de cloaca talvez estivesse restrita à porção final do trato gastrointestinal.

A percentagem de aves positivas na SAR (1,25%) encontrada nesse trabalho foi relativamente baixa, fato este também encontrado por TAMEHIRO et al. (2001) que relataram 3,7% de positividade, nas amostras de codornas para *Salmonella* Pullorum, utilizando a mesma técnica sorológica.

Nesse experimento, o isolamento em órgãos e conteúdo intestinal de *Salmonella* sp. em 2/64 (3,1%) aves, condizem com GOPEE et al. (2000) que também encontraram uma positividade de 3% para esse agente nas aves selvagens analisadas em Trinidad.

No Brasil, outros autores tais como: MARCIANO (2004) e TAMEHIRO et al. (2001), isolaram *Salmonella* sp. em pombos de vida livre (7,94%) e em codornas (11%), respectivamente. Contrariamente, existem relatos onde não foi possível o isolamento desse agente em aves provenientes de vida livre e cativeiro (LOPES et al., 2005), em passeriformes de vida livre e oriundos do tráfico (OLIVEIRA et al., 2006) e em anseriformes (CORRÊA et al., 2006).

Nessa pesquisa, foi possível isolar *Salmonella* Muenchen em órgãos e *S.* Saintpaul no conteúdo intestinal de uma seriema (*Cariama cristata*) e *S.* Enteritidis (SE) do conteúdo intestinal de uma pomba avoante (*Zenaida auriculata*). A sorologia feita pelo SAR foi negativa nessas duas espécies, possivelmente pelo fato das aves serem recém-infectadas e ainda não ter produzido anticorpo contra o agente (BERCHIERI JR., 2000), ou também pode ter ocorrido reações falso negativas na técnica sorológica usada (SNOEYENBOS et al., 1969).

Na literatura, também há relatos de isolamento de SE em pombos (GEORGIADES & IORDANIDIS, 2002), e entre outras aves como: *Amazona finschi Schlater*, *Pyrrhura molinae* (OROSZ et al., 1992) e coruja “eagle owl” (*Bubo bubo*) (KOCABIYIK, et al., 2006). No Brasil, pesquisadores relataram a predominância desse mesmo sorotipo (46,6%) entre todos os sorotipos isolados entre os anos de 1994 e 1999 no Laboratório de Ornitopatologia da FMVZ de Botucatu, SP (ANDREATTI FILHO et al., 2001) e de filhotes de avestruzes (*Struthio camelus*) importados (RIBEIRO et al., 2002).

O isolamento de SE em uma pomba avoante (*Zenaida auriculata*) nesse experimento, pode ter duas explicações. A ave adquiriu esse agente com a ingestão de ração destinada para as galinhas que estavam contaminadas. A segunda possibilidade é da ave ter entrado em contato com o agente existente em galpões vazios contaminados. Considerando que galinhas positivas eliminam SE pelas fezes e estas contaminam o ambiente (SILVA & DUARTE, 2002).

O isolamento de *S.* Saintpaul em aves selvagens, como neste trabalho em uma seriema, também foi documentado por outros autores em: casuar (*Casuarius casuarius*), avestruzes (*Struthio camelus*) (THOMAS et al., 2001) e filhotes de avestruzes importados (RIBEIRO et al, 2002).

Nessa pesquisa, a *S.* Muenchen foi isolada em 2/3 (66,6%) aves positivas para *Salmonella* sp. Contrariamente, HOFER et al. (1997) relataram a freqüência de isolamento de *S.* Muenchen como “raras”. Sendo este fato possivelmente explicado pela introdução desse sorotipo entre as aves, no decorrer dos anos.

Quanto às origens das *S.* Muenchen e/ou *S.* Saintpaul, isoladas nesse experimento em seriema e curicaca, pode ser explicada pela possível ingestão de pequenos vertebrados, que fazem parte da dieta dessas aves (SIGRIST, 2006). Sendo que esses sorotipos já foram isolados em serpentes e anfíbios (*Bufo marinus*) (THOMAS et al., 2001), que são presas dessas aves em vida livre. Importante ressaltar que os répteis em geral são considerados portadores sãos de *Salmonella* sp. (ZIMOVSKI et al., 2005).

Lembrando que aves selvagens podem ser portadoras e disseminadoras de patógenos, como descritos anteriormente, também podem representar foco de infecção para os seres humanos. Na literatura há descrições de vários sorotipos de *Salmonella* isolados em humanos com osteomielite (*Salmonella* Muenchen) (MILLS, 1964), gastroenterites (*S.* Saintpaul) (TAYLOR, et al., 2000) e o sorotipo Enteritidis sendo o responsável por surtos de intoxicação alimentares (KAKU, et al., 1995).

Existe um relato em que humano adquiriu *Salmonella* Typhimurium do seu gato doméstico, que por sua vez se infectou com uma ave selvagem (TAUNI &

OSTERLUND, 2000). Considerando assim, uma forma de transmissão desses agentes entre os animais e o homem.

Os fatores que podem influenciar a transmissão de patógenos, são entre outros: a presença do agente nas aves selvagens, a proximidade entre as aves selvagens e domésticas, a via de transmissão do agente e sua patogenicidade para as galinhas. A presença do agente nas aves selvagens, pode ser influenciada pela convivência interespécies, de aves de vida livre, aves de estimação e aves migratórias, sendo as duas últimas tanto de origem nativa como exótica.

7. CONCLUSÃO

Apenas com os achados desse experimento, não foi possível concluir a existência do risco de transmissão de agentes etiológicos de aves selvagens para as galinhas de produção. São necessárias mais pesquisas para elucidar o papel das aves selvagens como portadores e/ou transmissores dos agentes da Bronquite Infecciosa e da Doença de Newcastle, *Mycoplasma* sp e *Salmonella* sp., para galinhas de produção. A partir dos resultados aqui descritos, fica a sugestão de uma maior barreira entre aves selvagens e/ou seus produtos biológicos, e funcionários de granja e as aves de produção.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIRRE, A. A.; McLEAN, R. G.; COOK, R. S.; QUAN, T. J. Serologic survey for selected arboviruses and other potential pathogens in wildlife from Mexico. **Journal of Wildlife Disease**. v. 28, n. 3, p. 435-442, 1992.

ALEXANDER, D. J. Newcastle disease vírus – an avian paramyxovirus. In: ALEXANDER, D. J. **Newcastle disease.** Boston: Kluwer Academic. 1988. p. 11-22.

ALEXANDER, D. J. Newcastle Diseases and other avian paramyxoviridae infections. In: CALNEK, B. W, BARNES, H. J., BEARD, C. W., McDOUGALD, L. R. (ed), **Diseases of Poultry,**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p. 541-570.

ALLRED, J. N.; RAGGI, L. G.; LEE, G. G. Susceptibility and resistance of pheasants, starlings and quail to three respiratory diseases of chickens. In: CAVANAGH, D., NAQI, S. A. Infectious bronchitis (ed), **Diseases of Poultry**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p. 511-526.

ANDREATTI FILHO, R. L. Sorovares de *Salmonella* isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. **Revista de Educação Continuada**. Conselho Regional de Medicina Veterinária (CRMV-SP). n. 4. p. 90-101, 2001.

BACK, A. **Manual de doenças de aves**. Cascavel, 2004. p. 47-130.

BAILEY, T.; NICHOLLS, P. K.; WERNERY, U.; SAMOUR, J.; COOPER, J. E.; O'LEARY, M. T. Avian paramyxovirus type 1 infection in houbara bustards (*Chlamydotis undulata macqueenii)* : clinical and pathological findings. **Journal Zoo Wildlife Med**., v. 28, n. 3, p. 325-330, 1997.

BARR, D. A.; REECE, R. L.; O'ROURKE, D. Isolation of infectious bronchitis virus from a flock of racing pigeons. **Australian Veterinary Journal.** v. 7, p. 228. 1988.

BARROW, P. A. Salmonella control – past, present and future. **Avian Pathology**. v. 22, p. 651-669, 1993.

BARROW, P. A. *Salmonella* em avicultura - Problemas e novas idéias sobre possibilidades de controle. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.1, n.1, p. 9-16, 1999.

BARROW, P. A. The paratyphoid salmonellae. **Review Science Technology Office International Epizootic**. v. 19, p. 351-375, 2000.

BARROW, P. A.; LOVELL, M. A.; BERCHIERI, A. The use of two live attenuated vaccines to imunize egg-laying hens against *Salmonella* enteritidis phage type 4. **Avian Pathology**. v. 20, p. 681-692, 1991.

BARTON, J. T.; BICKFORD, A. A.; COOPER, G. L.; CHARLTON, B. R.; CARDONA, C. J. Avian paramyxovirus type 1 infections in racing pigeons in California. I. Clinical signs, pathology, and serology. **Avian Diseases**. v. 36, p. 463-468, 1992.

BATTISTI, A.; GUARDO, G.; AGRIMI, U.; BOZZANO, A. I. Embryonic and neonatal mortality from salmonellosis in captive bred raptors. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 1, p. 64-72, 1998.

BEARD, C. W. Serologic Procedures. In: **Manual for Avian Pathogens.** Amer Saan of Avian Pathologic. p. 192-194, 1992.

BENCINA, D.; TADINA, T.; DORRER, D. Natural infection of ducks with *Mycoplasma synoviae* and *Mycolpasma gallisepticum* and *Mycoplasma* egg transmission. **Avian Pathology**, v. 17, p. 441-449, 1988a.

BENCINA, D.; TADINA, T.; DORRER, D. Natural infection of geese with *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* and egg transmission of the mycoplasmas. **Avian Pathology**, v. 17, p. 925-928. 1988b.

BERCHIERI JUNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 185-196.

BERCHIERI JUNIOR, A; BARROW, P. A. (1995). Patologia e métodos de diagnósticos de SE em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1995. Curitiba. **Anais...**Curitiba: FACTA, 1995. p. 1-5.

BOZEMAN, L. H.; KLEVEN, S. H.; DAVIS, R. B. Mycoplasma challenge studies in budgerigars (*Melopsitticus undulatus*) and chickens. **Avian Diseases**. v. 28, p. 426-434, 1984.

BRADBURY, J. M.; YVARI, C. A; DARE, C. M. Detection of *Mycoplasma synoviae* in clinically normal pheasants. **Veterinary Record**, v. 184, p. 72-74, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria**. Disponível em <http:/www.agricultura.gov.br.> Acesso em: 13 de março de 2004.

BRUGH, M.; BEARD, C. W. Atypical diseases produced in chickens by Newcastle diseases virus isolated from exotic birds. **Avian Diseases**. v. 28. n. 2, p. 482-488, 1984.

BUB, H. Bird traping and bird banding. In: _____. **A Handbook for trapping methods al over the Word**. Ithaca: Cornell university Press, 1995, 330 p.

BUCHALA, F. G.; MATHIAS, L. A.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; CASTRO, A. G. M.; IBA, A.; KANASHIRO, A. Ocorrência de reação sorológicas contra *Salmonella* Pullorum em aves de fundo de quintal do estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo. v. 73, n. 1, p. 1-5, 2006.

BUIM, M. R. ***Mycoplasma synoviae*: diagnóstico, caracterização molecular e interação parasita-hospedeiro**. 2005. 70 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

CADMAN, H. F.; KELLY, P. J.; DE ANGELIS, N. D.; ROHDE, C.; COLLINS, N.; ZULU, T. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and haemagglutination inhibition test for the detection of antibodies against Newcastle disease virus in ostriches (*Struthio camelus*). **Avian Pathology**. v. 26, p. 357-363, 1997.

CARRASCO, A. O. T. **Infecção experimental de pombos com estirpes do vírus da doença de Newcastle de baixa e alta patogenicidade**. 2005. 71 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária- Patologia Animal) – Faculdade de ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

CAVANAGH, D. Severe acute respiratory syndrome vaccine developent: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis Coronavirus. **Avian Pathology**. v. 32, n. 6, p. 567-582, 2003.

CAVANAGH, D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. **Veterinary Research**. v. 38, p. 281-297, 2007.

CAVANAGH, D; NAQI, S. A. Infectious Bronchitis. In: CALNEK, B. W, BARNES, H. J., BEARD, C. W., McDOUGALD, L. R. (ed), **Diseases of Poultry,**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p. 511.

CAVANAGH, D.; MAWDITT, K.; WELCHMAN, D. B.; BRITTON, P.; GOUGH, R. E. Coronaviruses from pheasants (*Phasianus colchicus*) are genetically closely related to coronaviruses of domestic fowl (infectious bronchitis virus) and turkeys. **Avian Pathology**. v. 31, p. 81-93, 2002.

CLAVIJO, A.; ROBINSON, Y., BOOTH, T.; MUNROE, F. Velogenic Newcastle disease in imported caged birds. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa. v. 41, p. 404-406, 2000.

CORRÊA, S. H. R.; GUIDA, F. J. V.; LOPEZ, R. P. G.; BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; VILLARREAL, L. Y. B.; SAINDERBERG, A. B. S.; AMAKU, M.; FERREIRA, P. M.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S.; Pesquisa de *Salmonella* em anatídeos na Fundação Parque Zoológico de São Paulo-resultados preliminares. In: X CONGRESSO E XV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS. 2006, São Pedro. **Anais...** São Pedro. 2006, p. 74.

COSTA, L. C. M. O comportamento interespecífico de defesa do quero-quero, *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) (Charadriiformes, Charadriidae). **Revista de Etologia**. v. 4, n. 2, p. 95-108, 2002.

COUCEIRO, J. N.; MACHADO, R. D.; COUCEIRO, E. S.; CABRAL, M. C. Prevalência do vírus da doença de Newcastle em uma comunidade de aves

ornamentais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro. v. 10, p. 31-33, 1990.

CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H. L.; WOOLCOCK, P. R.; CHIN, R. P.; DAVIDSON-YORK, D.; TARBELL, R. Exotic Newcastle disease in a game chicken flock. **Avian Diseases** v. 43, p. 349-355, 1999.

CROSS, G. M. Newcastle disease. In: ROSSKOPF JR., W. J & WOERPEL, R. W. The veterinary clinics of north America. **Pet avian medicine**. v. 21, n. 6, p. 1231-1239, 1991.

CUNHA, R. G.; SILVA, R. A. Isolamento e identificação do vírus da doença de Newcastle no Brasil. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro. v. 23, p. 17-33, 1955.

CUNNINGHAM, C. H. **Virologia practica**. 6.ed. Zaragoza: Acribia, 1971. 260p.

D'ALOIA, M.; BAILEY, T. A.; SAMOUR, J. H.; NALDO, J.; HOWLETT, J. C. Bacterial flora of captive houbara (*Chlamydotis undulata*), kori (*Ardeotis kori*) and rufous-crested (*Eupodotis ruficrista*) bustards. **Avian Pathology**. v. 25, p. 459-468, 1996.

DEMÉTRIO, C. **Levantamento sorológico e pesquisa do vírus da doença de Newcastle em irerês migratórios, *Dendrocygna viduata* (Anseriformes: Anatidae), na cidade de São Paulo, Brasil**. 2002. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas- Microbiologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

DHONDT, A. A.; TESSAGLIA, D. L.; SLOTHOWER, R. L. Epidemic mycoplasmal conjunctivitis in house finches from eastern north America. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 2, p. 265-280, 1998.

DI FABIO, J. Doença de Newcastle: vacinar ou não vacinar. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA. 2006, Santos. **Anais...** Santos: FACTA. 2006. p. 63-73.

DI FABIO J.; ROSSINI, L. I. Bronquite Infecciosa das Galinhas. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 293-300.

DI FABIO J.; ROSSINI, L. I.; ORBELL, S. J.; PAUL, G.; HUGGENS, M. B.; MALO, A.; SILVA, B. G. M.; COOK, J. K. A. Characterization of infectious bronquites viruses isolated from outbreaks of disease in commercial flocks in Brasil. **Avian Diseases**, v. 44, p. 582-589, 2000.

DORETTO JR., L.; ORSI, M. A.; GALLETTI, M. C. M.; RIBEIRO, S. A. M.; PAULILLO, A. C.; ALEXANDER, D. J.; MANVELL, R. J. Isolamento do vírus da DN em flamingo (*Phoenicopterus ruber*) importado pelo Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. Suplemento, p. 86, 1999 a.

DORETTO JR., L.; ORSI, M. A.; GALLETTI, M. C. M.; RIBEIRO, S. A. M.; PAULILLO, A. C.; ALEXANDER, D. J.; MANVELL, R. J. Isolamento do vírus da DN em 2 lotes de pintos de avestruzes (*Struthio camelus*) importados pelo Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. Suplemento, p. 88, 1999 b.

DORETTO JR., L.; ORSI, M. A.; GALLETTI, M. C. M.; RIBEIRO, S. A. M.; PAULILLO, A. C.; ALEXANDER, D. J.; MANVELL, R. J. Primeiro isolamento do vírus da DN em avestruzes (*Struthio camelus*) no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. Suplemento, p. 91, 1999 c.

DORRESTEIN, G. M. Bacteriology. In: ALTMAN, R. B., CLUBB, S. L., DORRESTEIN, G. M., QUESENBERRY, K. **Avian medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders Company. 1997, p. 255-280.

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. 2006, São Pedro. **Anais...** São Pedro. 2006, p. 22.

ERDÉLYI, K.; TENK, M.; DÁN, Á. Mycoplasmosis associated perosis type skeletal deformity in a saker falcon nestling in Hungary. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 3, p. 586-590, 1999.

FABRICANT, J. The early history of infectious bronchitis. **Avian Diseases**. v. 42, p. 648-650, 1998.

FARLEY, J. M.; ROMERO, C. H.; SPALDING, M. G.; AVERY, M. L.; FORRESTER, D. J. Newcastle disease virus in double-crested cormorants in Alabama, Florida, and Mississippi. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 37, n. 4, p. 808-812, 2001.

FEBERWEE, A.; MEKKES, D. R.; WIT, J. J.; HARTMAN, E. G.; PIJPERS, A. Comparison of culture, PCR, and different serologic tests for detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infections. **Avian Diseases**. v. 49, p. 260-268, 2005.

FERNANDES, A. C.; BERCHIERI JR. A.; OLIVEIRA, G. H.; PEREIRA, G. T. Avaliação de meios de cultivo para o isolamento de *Salmonella.* **ARS Veterinária**, Jaboticabal-SP. v. 20, n. 3, p. 330-337, 2004.

FERNANDES, L. M. B. **Padronização de testes sorológicos para o diagnóstico da doença de Newcastle e avaliação soroepidemiológica desta zoonose em avestruzes (*Struthio camelus*).** 2006. 110 f. Tese (Doutorado em Imunologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador. 2006.

FIORENTIN, L. Recentes avanços no controle das micoplasmoses. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA. 2000. Santa Maria. **Anais...** Santa Maria. p.70-73.

FIORENTIN, L. O Mycoplasma synoviae em galinhas comerciais. II Contribuições da Embrapa suínos e aves. **Circular Técnica.** Embrapa, Concórdia, v. 40, p. 1-16, 2004.

FRANÇA, J. M. A competitividade da avicultura de corte e a certificação de qualidade para o mercado externo. **Avicultura industrial**. v. 1152, n. 01, p. 20-25, 2007.

FRANZO, V. S.; GAMA, N. M. S. Q.; ARTONI, S. M. B.; SILVA, P. L.; AMOROSO, L.; PAULILLO, A. C. Importância dos patos (*Anas platyrinchus*) na epidemiologia experimental da doença de Newcastle. **Brazilian Journal of Poultry Science**. Suplemento 6, p. 190, 2004.

FREITAS, M. A. Q.; SANTOS, J. A.; PIRES, A. R.; NASCIMENTO, E. Infecção por *Salmonella* Typhimurium de origem hídrica em garça gigante (*Casmerodius albus egretta*) em sua vida livre no Estado do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. São Paulo. v. 11, n. 5, p. 161-166, 1977.

FRIEND, M.; FRANSON, J. C. **Field Manual of Wildlife Diseases - General Field Procedures and Diseases of Birds**. Washington/USA: Library of Congress, Biological Resources Division, Information and Technology Report 1999-001, p. 426, 1999.

GÁLAN, J. E.; GINNOCHIO, C.; COSTEAS, P. Molecular and funcional characterization of the *Salmonella* invasion gene invA: homology of invA to members of a new protein family. **Journal of Bacteriology**. v. 174, n. 13, p. 4338-4339, 1992.

GALLETTI, M. C. M.; RIBEIRO, S. A. M.; REIS, E. M. F.; DORETTO JR., L.; ORSI, M. A. Isolamento de *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Kottbus em aves importadas. **Brazilian Journal of Poultry Science.** Suplemento. p. 87, 1999.

GAMA, N. M. S. Q. Salmoneloses aviárias. In: IX CURSO BÁSICO DE SANIDADE AVÍCOLA FORT DODGE, 2002. Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna, 2002, p. 1-26.

GAMA, N. M. S. Q.; INOUE, A. Y.; BUIM, M. R.; GUASTALLI, E. A. L. Doenças respiratórias. In: II CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM AVICULTURA PARA POSTURA COMERCIAL, 2005. Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 2005. p. 43-49.

GANAPATHY, K.; BRADBURY, J. M. Pathogenicity of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma imitans* in red-legged partridges (*Alectoris rufa*). **Avian Pathology**. v. 27, p. 455-463, 1998.

GARCIA, Z.; BANKOWSKI, R. A. Comparison of a tissue culture vírus neutralization test and the Enzyme Linked Immunosorbent Assay for measurement of antibodies to Infectious Bronchitis. **Avian Diseases**. v. 25, n. 1, p. 121-130, 1981.

GAST, R. K. *Salmonella* Infections. In: CALNEK, B. W, BARNES, H. J., BEARD, C. W., McDOUGALD, L. R. (ed), **Diseases of Poultry,**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p. 81.

GELB JR., J.; WOLFF, J. B.; MORAN, C. A. Variant serotypes of infectious bronchitis virus isolated from commercial layer and broiler chickens. **Avian Diseases**. v. 35, p. 82-87, 1991.

GEORGIADES, G. K; IORDANIDIS, P. Prevalence of *Salmonella* infection in pigeons, canaries and psittacine. **J. Hellenic Vet. Med. Soc**., Athens, v. 53, n. 2, p. 113-118, 2002.

GERLACH, H. Bacteria. In: RITCHIE, B. W; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine:** Principles and Application. Florida: Wingers Publishing. 1994. p.862-956.

GOPEE, N. V.; ADESIYUN, A. A.; CAESAR, K. Retrospective and longitudinal study of Salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 36, n. 2, p. 284-293, 2000.

GOUGH, R. E.; DRURY, S. E.; CULVER, F.; BRITTON, P.; CAVANAGH, D. Isolation of a coronavirus from a green-cheeked Amazon parrot (*Amazona viridigenalis Cassin*). **Avian Pathology**. v. 35, p. 122-126, 2006.

HARTUP, B. K.; DHONDT, A. A.; SYDENSTRICKER, K. V.; HOCHACHKA, W. M.; KOLLIAS, G. V. Host range and dynamics of mucoplasmal conjunctivitis among birds in north America. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 37, n. 1, p. 72-81, 2001.

HARTUP, B. K.; KOLLIAS, G. V. Field investigation of *Mycoplasma gallisepticum* infections in House Finch (*Carpodacus mexicanus*) eggs and nestlings. **Avian Diseases.** v. 43, p. 572-576, 1999.

HARTUP, B. K.; MOHAMMED, H. O.; KOLLIAS, G. V.; DHONDT, A. A. Risk factors associated with mycoplasmal conjunctivitis in house finches. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 34, n. 2, p. 281-288, 1998.

HELM, J. D.; HINES, R. K.; HILL, J. E.; CAVER, J. A. Multiple drug-resistant *Salmonella* typhimurium DT104 and DT104b isolated in bobwhite quail (*Colinus virginianus*). **Avian Diseases**. v. 43, p. 788-791, 1999.

HIPÓLITO, O.; SILVA, J. M. L.; HSIUNG, H. M. **Bronquite Infecciosa das galinhas – A doença no Brasil.** São Paulo, 72 p., 1979.

HLINAK, A.; MÜLLER, T.; KRAMER, M.; MUHLE, R. V.; LIEBHERR, H.; ZIEDLER, K. Serological survey of viral pathogens in bean and white-fronted geese from Germany. **Journal of Wildlife Disease.** v. 34, p. 479-486, 1998.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S. J.; REIS, E. M. F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 17, n. 2, p. 55-62, 1997.

HÖFLING, E.; CAMARGO, H. F. A. **Aves no campus da cidade universitária de Salles Oliveira**. 3. ed. USP. 1999. 157 p.

HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. In: **Journal of Wildlife Diseases**. v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.

HUCHZERMEYER, F. W.; GERDES, G. H. Newcastle disease vírus isolated from ostriches in South Africa. **Journal of The South African Veterinary Association**. v. 64, n. 4, p. 140, 1993.

IKUTA, N.; GARCIA, M.; FONSECA, A. S. K.; LUNGE, V. R.; MARQUES, E. K.; KLEVEN, S. Diagnóstico molecular de micoplasmas em perus. **Brazilian Journal of Poultry Science**. Suplemento 3, p. 94, 2001.

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; CAPELLARO, C. E. M. P. D. N. Studies um boiler's IBV and IB-like vírus from guinea fowl. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF INFECTIOUS BRONCHITIS, Rauischholzhausen, Germany, **Proceedings…** p. 302-307, 1991.

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. Micoplasmoses em aves. In: IX CURSO BÁSICO DE SANIDADE AVÍCOLA FORT DODGE, 2002. Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna, 2002, p. 27-53.

JOHNSON, D. D.; COUVILION, C. E.; PEARSON, J. E. Failure to demonstrate viscerotropic Newcastle disease in psittacine birds in the Republic of the Philippines. **Avian Disease**, v. 30, n. 4, p. 813-815, 1986.

JONASSEN, C. M.; KOFSTAD, T.; LARSEN, I. L.; LOVLAND, A.; HANDELAND, K.; FOLLESTAD, A.; LILLEHANG, A. Molecular identification and characterization of novel coronaviruses infecting greylag geese (*Anser anser*), feral pigeons (*Columba livia*) and mallards (*Anas platyrhynchos*). **J. Gen. Virol**. v. 86, p. 1597-1607, 2005.

JORGENSEN, P. H.; HERCZEG, J.; LOMNICZI, B.; MANVELL, R. J.; HOLM, E.; ALEXANDER, D. J. Isolation and characterization of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease) viruses from a flock of ostriches (*Struthio camelus*) and emus (*Dromaius novaehollandiae*) in Europe with inconsistent serology. **Avian Pathology**. v. 27, p. 352-358, 1998.

KAKU, M.; PERESI, J. T. M.; TAVECHIO, A. T.; FERNANDEZ, S. A.; BATISTA, A. B.; CASTANHEIRA, I. A. Z.; GARCIA, G. M. P.; IRINO, K.; GELLI, D. S. Surto alimentar por *Salmonella* Enteritidis no noroeste de estado de São Paulo, Brasil. **Revista Saúde Pública**. v. 29, n. 2, 1995.

KARESH, W.; UHART, M. M.; FRERE, E.; GANDINI, P.; BRASELTON, W. E.; PUCHE, H.; COOK, R. A. Health evaluation of free-ranging rockhopper penguins (*Eudyptes chrysocomes*) in Argentina. **Journal of Zoological and Wildlife Medicine**. v. 30, n. 1, p. 25-31, 1999.

KHAN, M. I. Newcastle Disease. In: BERAN, G. W. Ed. **Handbook of zoonoses;** section B: viral, 2. ed. CRC Press, 1994.

KIMPE, A.; DECOSTERE, A.; MARTEL, A.; HAESEBROUCK, F.; DEVRIESE, L. A. Prevalence of antimicrobial resistance among pigeon isolates of *Streptococcus gallolyticus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. **Avian Pathology**. v. 31, p. 393-397, 2002.

KING, D. J.; SEAL, B. S. Biological and molecular characterization of Newcastle disease virus (NDV) field isolates with comparisons to reference NDV strains. **Avian Diseases**. v. 42, p. 507-516, 1998.

KLEVEN, S. H. Mycoplasmosis. In: CALNEK, B. W, BARNES, H. J., BEARD, C. W., McDOUGALD, L. R. (ed), **Diseases of Poultry,**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p. 191-193.

KOCABIYIK, A. L.; CANGUL, I. T.; ALASONYALILAR, DEDICOVA, D.; KARPISKOVA, R. Isolation of *Salmonella* Enteritidis phage type 21b from a Eurasia eagle-owl (*Bubo bubo*). **Journal of Wildlife Disease**. v .42, n. 3, p. 696-698, 2006.

KOMMERS, G. D.; KING, D. J.; SEAL, B. S.; BROWN, C. C. Virulence of. Pigeon-origin Newcastle diseases vírus isolates for domestic chickens. **Avian Diseases**. v. 45, p. 906-921, 2001.

KREIG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 9th ed., v. 1. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, pp. 740-793, 1984.

KUIKEN, T.; HECKERT, R. A.; LEIGHTON, F. A.; WOBESER, G. Excretion of pathogenic Newcastle disease virus by double-crested cormorants (*Phalacrocorax auritus*) in absence of mortality or clinical signs of disease. **Avian Pathology**. v. 27, p. 541-546, 1998.

LEMOS, M.; SILVA, G. M.; FEDULLO, L. P. L.; PEREIRA, V. L. A. *Salmonella* em aves silvestres no jardim Zoológico do Rio de Janeiro, RJ. **Brazilian Journal of Veterinary Science**. v. 6, n. 1, p. 40-43, 1999.

LEY, D. H.; BERKHOFF, J. E.; MCLAREN, J. M. *Mycoplasma gallisepticum* isolated from house finches (*Carpodacus mexicanus*) with conjunctivitis. **Avian Diseases**. v. 40, p. 480-483, 1996.

LEY, D. H.; BERKHOFF, J. E.; LEVISOHN, S. Molecular epidemiologic investigations of *Mycoplasma gallisepticum* conjunctivitis in songbirds by random amplifield polymorphic DNA analyses. **Emerging infectious diseases.** v. 3, p. 375-380, 1997.

LEY, D. H.; YODER, H. W. J. Mycoplasmosis/ *Mycoplasma gallisepticum* infection. In: CALNEK, B. W, BARNES, H. J., BEARD, C. W., McDOUGALD, L. R. (ed), **Diseases of Poultry,**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p. 197.

LEY, D. H.; GEARY, S. J.; BERKHOFF, J. E.; MCLAREN, J. M.; LEVISOHN, S. *Mycoplasma sturni* from Blue Jays and Northern Mockingbirds with conjunctivitis in Florida. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 34, n. 2, p. 403-406, 1998.

LIMA, F. S.; SANTIN, E.; PAULILLO, A. C.; DORETTO JR., L.; MORAES, V. M. B.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) as

Newcastle disease vírus carrier. **Internacioanl Journal of Poultry Science**, Faisalabrad-Pakistan, v. 3, n. 7, p. 483-484. 2004.

LIMA, F. S.; PAULILLO, A. C.; DORETTO JR., L.; GAMA, N. M. Q. S.; NISHIZAWA, M.; ALFARO, D. M.; SANTIN, E.; CAMPIONI, J. M.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Estudio de la vacunatión experimental en gallina de guinea (*Numida meleagris*) contra la enfermedad de Newcastle e investigación del estado de portador de virus. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 17-21, 2005.

LIOW, T. M. Pullorum disease in a black palm cockatoo (*Probosciger aterrimus*). **Singapore Vet. J.** v. 2, p. 37-38, 1978.

LITCHFIELD, J. H. *Salmonella* and the food industry: methods for isolation, identification and enumeration. **Critical Reviews in Food Technology**, v. 3, p. 415-456, 1973.

LIU, S.; CHEN, J.; KONG, X.; SHAO, Y.; HAN, Z.; FENG, L.; CAI, X.; GU, S.; LIU, M. Isolation of avian infectious bronchitis coronavirus from domestic peafowl (*Pavo cristatus*) and teal (*Anas*). **J. Gen. Virol.** v. 86, p. 719-725, 2005.

LOPES, L. F. L.; ZIMOVSKI, I. M.; GATTAMORTA, M. A.; SANCHES, T. C.; JOPPERT, A.; MATUSHIMA, E. R. Investigação sobre a freqüência de isolamento de *Salmonella* spp. em aves silvestres no estado de São Paulo. In: IX CONGRESSO E XIV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS. 2005. São José do Rio Preto. **Anais...** São José do Rio Preto. 2005, p. 38.

LUBLIN, A.; MECHANI, S.; SIMAN-TOV, Y.; WEISMAN, Y.; HOROWITZ, H. I.; HATZOFE, O. Sudden death of. A Bearded Vulture (*Gypaetus barbatus*) possibly caused by Newcastle diseases vírus. **Avian Diseases**. v. 45, p. 741-744, 2001.

LUTTRELL, M. P.; STALLKNECHT, D. E.; FISCHER, J. R.; SEWELL, C. T.; KLEVEN, S. H. Natural *Mycoplasma galisepticum* infection in a captive flock of house finches. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 34, n. 2, p. 289-296, 1998.

MARCIANO, J. A. **Pesquisa de *Salmonella* sp., *Cryptococcus neoformans* e anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em pombos urbanos (*Columba livia*) no município de Jaboticabal-SP.** 2004. 65 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária- Patologia Animal) – Faculdade de ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

MENDONÇA, G. A.; PÓLO, P. A.; NASCIMENTO, E. R.; LIGNON, G. B. A prova de SAR em galinhas poedeiras infectadas por micoplasmose e salmonelose. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2003. Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2003. p. 153-157.

MENDONÇA, G. A.; NASCIMENTO, E. R.; LIGNON, G. B.; PÓLO, P. A. O emprego das provas de SAR e HI como rotina laboratorial para evidenciação de *Mycoplasma gallisepticum* (MG). **Brazilian Journal of Poultry Science**. Suplemento 6, p. 177, 2004.

MIKAELIAN, I.; LEY, D. H.; CLAVEAU, R.; LEMIEUX, M.; BÉRUBÉ, J. P. Mycoplasmosis in evening and pine grosbeaks writ conjunctivitis in Quebec. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 37, n. 4, p. 826-830, 2001.

MILLS, K. L. G. Osteomyelitis of the spine due to *Salmonella* Muenchen. **The Journal of Bone and Joint Surgery**. v. 46 B, n. 4, p. 697-699, 1964.

MIYAJI, C. I. **Vírus da bronquite infecciosa das galinhas: estudo comparativo de amostras isoladas de rim de galinhas d' angola e de frangos de corte**.

1996. Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Faculdade de Medicina Veterinária Zootecnia da Universidade de São Paulo. 1996.

MOHAMMED, H. O.; CARPENTER, T. E.; YAMAMOTO, R. Economic impact of Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae in commercial layer flocks. **Avian Diseases**. v. 31, p. 477-482, 1987.

MURAKAMI, S.; MIYAMA, M.; OGAWA, A.; SHIMADA, J.; NAKANE, T. Occurrence of conjunctivitis, sinusitis and upper region tracheitis in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*), possibly caused by *Mycoplasma gallisepticum* accompanied by *Cryptosporidium* sp. infection. **Avian Pathology**. v. 31, p. 363-370, 2002.

NASCIMENTO, E. R. Micoplasmoses. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p.217-224.

NASCIMENTO, E. R.; FERREIRA NETO, S. M.; GALLETTI, M. C. M.; NASCIMENTO, M. G. F.; LIGNON, G. B.; MENDONÇA, G. A. Chicken *Mycoplasma gallisepticum* infection, diagnosed by agent detection, hemagglutination inhibition, but not agglutination. In: AVMA CONFERENCE/AAAP MEETING, 1999; New Orleans, USA, **Proceedings…** p. 56.

NASCIMENTO, E. R.; NASCIMENTO, M. G. F.; DANELLI, M. G. M.; MACHADO, S. L.; LIGNON, G. B.; POLO, P. A. Comparison of PCR kits for the detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma sinoviae* in MS infected and uninfected chickens. In: WESTERN POULTRY DISEASE CONFERENCE; 1998; Sacramento, Califórnia, USA, **Proceedings…** p. 84-86.

NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A.; NASCIMENTO, M. G. F.; BARRETO, M. L. Avian Mycoplasmosis Update. **Brazilian Journal of Poultry Science.** v. 7, n. 1, p. 01-09, 2005.

NISHIZAWA, M. **Estudo dos estados imune e de portador em marrecos de Pequim (*Anas platyrhynchos*), frente ao vírus da doença de Newcastle**. 2007. 70 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária- Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

NISHIZAWA, M.; LIMA, F. S.; PAULILLO, A. C.; DORETTO JUNIOR, L.; SANTIN, E. Estudo da resposta imune humoral em galinhas d'angola (*Numida meleagris galeata*) vacinadas experimentalmente contra a doença de Newcastle. **Brazilian Journal of Poultry Science**, suplemento 8, p. 196, 2006.

O'CONNOR, R. J.; TURNER, K. S.; SANDER, J. E.; KLEVEN, S. H.; BROWN, T. P.; GÓMEZ JR., L.; CLINE, J. L. Pathogenic effects on domestic poultry of a *Mycoplasma gallisepticum* strain isolated from a wild house finch. **Avian Diseases**. v. 43, p. 640-648, 1999.

OIE. Office International des Epizooties. **The international animal health code**. 11. ed. Paris, 2002. p. 85.

OIE. Office International des Epizooties. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals.** Disponível em <http://www.oie.int/esp/normes/es_mmanual.htm?e1d10> Acesso em: 03 maio 2007

OLIVEIRA, A. S.; SANCHES, T. C.; ZIMOVSKI, I. M.; LOPES, L. F. L.; JOPPERT, A.; MILANELLO, L.; MATUSHIMA, E. R. Freqüência de isolamento de *Salmonella* spp. em passeriformes de vida livre do município de São Paulo e oriundos do tráfico. In: X CONGRESSO E XV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS. 2006. São Pedro. **Anais...** São Pedro. p. 28, 2006.

OLIVEIRA, G. H.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; MONTASSIER, H. J. Ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção da resposta sorológica contra *Salmonella* entérica sorotipo Enteritidis em aves. **Veterinária Notícias**. v. 12, p. 65-69, 2006.

OLIVEIRA JR.; J. G., PORTZ, C.; LOUREIRO, B. O.; SCHIAVO, P. A.; FEDULLO, L. P. L.; MAZUR, C.; ANDRADE, C. M. Vírus da doença de Newcastle em aves não vacinadas no estado do Rio de Janeiro. **Ciência Rural**. v.33, n. 2, p. 381-383, 2003.

ONCEL, T.; ALEXANDER, D. J.; MANVELL, R. J.; TURE, O. Characterization of Newcastle disease viruses isolated from chickens and pigeons in the south Marmara region of Turkey. **Avian Pathology**. v. 26, p. 129-137, 1997.

ORÓS, J.; RODRÍGUEZ, J. L.; FERNÁNDEZ, A.; HERRÁEZ, P.; ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A.; JACOBSON, E. R. Simultaneous occurrence of *Salmonella* arizonae in a sulfur crested cockatoo (*Cacatua galerita galerita*) and Iguanas. **Avian Diseases**. v. 42, p. 818-823, 1998.

OROSZ, S. E.; CHENGAPPA, M. M.; OYSTER, R. A.; MORRIS, P. J.; TROCK, S.; ALTEKRUSE, S. *Salmonella* Enteritidis infection in two species of psittaciformes. **Avian Diseases**. v. 36, p. 766-769, 1992.

ORSI, M. A.; RIBEIRO, S. A.; FERRATI, A. R.; MENDONÇA, A. O.; SILVA, E. V. Estudo soroepidemiológico da micoplasmose em plantéis de aves reprodutoras no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, suplemento 6, p. 176, 2004.

OSTROWSKI, S.; ANCRENAZ, M.; SAINT-JALME, M.; GRETH, A. Concurrent avian pox and Newcastle disease infection in a Houbara bustard (*Chlamydotis undulata*). **Avian Pathology**. v. 24, p. 573-577, 1995.

PAULILLO, A. C.; DORETTO JUNIOR, L. Doença de Newcastle. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 267-281.

PAULILLO, A. C.; LIMA, F. S; DORETTO JUNIOR, L; NISHIZAWA, M.; ALFARO, D. M.; SCHOCKEN, R. P.; SANTIN, E. Importância das galinhas d' Angola (*Numida meleagridis*) como fonte potencial de vírus patogênico da doença de Newcastle para aves domésticas. **Avicultura industrial**. v. 1138, n. 9, p. 22-23. 2005a.

PAULILLO, A. C.; SILVA, G. S.; DORETTO JUNIOR, L; GAMA, N. M. S. Q.; NISHIZAWA, M.; SCHOCKEN-ITURRINO, F. Importância das perdizes (*Rhynchotus rufescens*) como fonte potencial de vírus patogênico da doença de Newcastle para aves domésticas. **Arq. Inst. Biol**., v. 72, n. 3, p. 313-317, 2005b.

PEARSON, J. E.; SENNE, D. A.; ALEXANDER, D. J.; TAYLOR, W. D.; PETERSON, L. A.; RUSSELL, P. H. Characterization of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus-1) isolated from pigeons. **Avian Diseases**. v. 31, p.105-111, 1987.

PECCATI, C.; GRILLI, G.; RAMOIN, T.; GALLAZI, D. Newcastle disease, avian influenza, *Salmonella pullorum gallinarum* and *Mycoplasma screeninh* in ostriches in northern Italy. In: CONFERENCE OF EUROPEAN COMMUNITY ASSOCIATION OF AVIAN VETERINARIANS. 3. 1995, **Proceedings…** p. 48-50.

PHALEN, D. N.; WIGLE, W. L. Sinusitis in five rheas: response to treatment. In: MAIN CONFERENCE, 1994, **Proceedings…** p. 147-150.

PROUX, K.; HUMBERT, F.; GUITTET, M.; COLIN, P.; BENNEJEAN, G. Vaccination du pigeon contre *Salmonella* Typhimurium. **Avian Pathology**. v. 27, p. 161-167, 1998.

QIAN, D. H.; ZHU, G. J.; WU, L. Z.; HUA, G. X. Isolation and characterization of a coronavirus from pigeons with pancreatitis. **American Journal of Veterinary Research**. v. 67, n. 9, p. 1575-1579, 2006.

RAPPOLE, J. H.; HUBALEK, Z. Migratory birds and West Nile virus. **Journal of Applied Microbiology Supplement**. v. 94, p. 47-58, 2000.

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

RAUBER, R. H.; FLÔRES, M. L.; PEREIRA, C. E.; FIORENTIN, L. Ocorrência de *Mycoplasma gallisepticum* em poedeiras comerciais no estado do Rio Grande do Sul e sua relação com a biosseguridade. **Brazilian Journal of Poultry Science.** Suplemento 6, p. 206, 2004.

REED, L. J.; MUENCH, H. A simples method of estimating 50 per cent end point. **American Journal of Hygiene**, v. 27, p. 493-497, 1938.

REFSUM, T.; VIKOREN, T.; HANDELAND, K.; KAPPERUD, G.; HOLSTAD, G. Epidemiologic and pathologic aspects of *Salmonella* Typhimurium infection in passerine birds in Norway. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 39, n. 1, p. 64-72, 2003.

RIBEIRO, S. A. M.; ORSI, M. A. Isolamento de Salmonelas de avestruzes importados no período de nov./99 a set/02. **Anais...** ACAB 2002.

ROBERTS, S. R.; NOLAN, P. M.; LAUERMAN, L. H.; LAN-QING LI; HILL, G. E. Characterization of the mycoplasmal conjunctivitis epizootic in a house finch

population in the southeastern USA. **Journal of Wildlife Diseases. v**. 37, n. 1, p. 82-88, 2001.

RODRIGUES, D. P. Ecologia e prevalência de Salmonella spp. em aves e material avícola no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2005. p. 223-228.

SAIDENBERG, A. B. S.; SINHORINI, J. A.; DUARTE, V. V.; GUIMARAES, M. B.; FERREIRA, A. J. P. Detecção de Paramixovírus tipo 1 e Influenza tipo A em passeriformes e psitaciformes mantidos em cativeiro na cidade de Itanhaém-SP. In: X CONGRESSO E XV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS. 2006. São Pedro. **Anais...** São Pedro. 2006 p. 72.

SAKAI, V.; PINTO, A. A.; BRONZONI, R. V. M.; LANCELLOTTE, M.; MONTASSIER, H. J. Desenvolvimento e aplicação do método C-ELISA-Concanavalina A para a detecção e quantificação de anticorpos contra o VBI. **Brazilian Journal of Poultry Science.** Suplemento 2, p. 95, 2000.

SALLE, C. T. P. Doença de Newcastle. In: IX CURSO BÁSICO DE SANIDADE AVÍCOLA FORT DODGE, 2002. Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna, p. 50-73.

SANDER, J.; HUDSON, C. R.; DUFOUR-ZAVALA, L.; WALTMAN, W. D.; LOBSINGER, C.; THAYER, S. G.; OTALORA, R.; MAURER, J. J. Dynamics of Salmonella contamination in a commercial quail operation. **Avian Diseases**. v. 45, p. 1044-1049, 2001.

SANTOS, J. A.; SILVA, R. A.; BRADA, W.; MARINHO, E.; CUNHA, R. G. Sobre a Doença de Newcastle no Brasil (nota prévia). **Rev. Rem. Vet**., Rio de Janeiro. v. 14, p. 9-11, 1954.

SATO, Y.; FUKUI, S.; KURUSU, H.; KITAZAWA, I.; KUWAMOTO, R.; AOYAGI, T. *Salmonella* typhimurium infection in domesticated fowl in a children's Zoo. **Avian Diseases**. v. 43, p. 611-615, 1999.

SCHELLING, E.; THÜR, B.; GRIOT, C.; AUDIGÉ, L. Epidemiological study of Newcastle disease in backyard poultry and wild bird populations in Switzerland. **Avian Pathology**. v. 28, p. 263-272, 1999.

SIGRIST, T. **Aves do Brasil- uma visão artística**. Editora Avis Brasilis, São Paulo. 2. ed., 2006. 672 p.

SILVA, R. A. Isolamento do vírus da Doença de Newcastle em faisão. **Veterinária (D. A. da Escola Nacional de Veterinária),** Rio de Janeiro. v. 8, n. 4, p. 41-43, 1954.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v. 4, n. 2 p. 85-100, 2002.

SNOEYENBOS, G. H.; SMYSER, C. F.; VAN ROEKEL, H. Salmonella infections of the ovary and peritoneum of chickens. **Avian Diseases**. v. 13, p. 668-670, 1969.

SOARES, P. B. M. **Padronização da RT-PCR dúplex para detecção dos vírus da Influenza A e doença de Newcastle em aves migratórias**. 2002. Dissertação- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

SOUSA, R. L. M.; MONTASSIER, H. J.; PINTO, A. A. Detection and quantification of antibodies to Newcastle disease virus in ostrich and rhea sera using a liquid-phase blocking Elisa. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Estados Unidos, v. 7, n. 06, p. 940-944, 2000.

TAMEHIRO, C. Y.; BRITO, B. G.; GUIMARAES, I. G. Enfermidades diagnosticadas em codornas (*Coturnix japonica*), criadas no Paraná e São Paulo, no período de 1996 a 2000. **Brazilian Journal of Poultry Science**.; Suplemento 3, p. 99, 2001.

TAUNI, M. A.; OSTERLUND, A. Outbreak of *Salmonella* Typhimurium in cats and humans associated with infection in wild birds. **J. Small Animal Pract**. v. 41, n. 8, p. 339-341, 2000.

TAVECHIO, A. T.; FERNÁNDEZ, S. A.; NEVES, B. C.; DIAS, A. M. G.; IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovar: increase of *Salmonella* enteritidis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 38, p. 315-322, 1996.

TAYLOR, R.; SLOAN, D.; COOPER, T.; MORTON, B.; HUNTER, I. A waterborne outbreak of *Salmonella* Saintpaul. **Commun Dis Intell**. v. 24, p. 336-340, 2000.

THOMAS, A. D.; FORBES-FAULKNER, J. C.; SPEARE, R.; MURRAY, C. Salmonelliasis in Wildlife from Queensland. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 37, n. 2, p. 229-238, 2001.

UBA (2004) - União Brasileira de Avicultura. Disponível na internet <http://www.uba.org.br>. Acesso em 30/05/2004.

UBA. União Brasileira de Avicultura. O ovo vale ouro. **Avicultura Industrial**, v. 1153, n. 2, p.22-29, 2007. Disponível em: <http://www.uba.org.br>. Acesso em 30 março 2007.

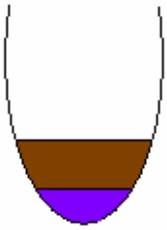
WARD, M. P.; RAMER, J. C.; PROUDFOOT, J.; GARNER, M. M.; JUAN-SALLES, C.; WU, C. C. Outbreak of salmonellosis in a zoologic collection of lorikeets and

lories (Trichoglossus, Lorius, and Eos spp.). **Avian Diseases**. v. 47, n. 2, p. 493-498, 2003.

WELLEHAN, J. F. X.; ZENS, M. S.; CALSAMIGLIA, M.; FUSCO, P. J.; AMONSIN, A.; KAPUR, V. Diagnosis and treatment of conjunctivitis in house finches associated wiyh mycoplasmosis in Minnesota. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 37, n. 2, p. 245-251, 2001.

WOOLEY, R. E.; BROWN, J.; DAVIS, R. B.; BLUE, J. L.; LUKERT, P. D. Comparison of a micro neutralization test in cell culture and virus neutralization test in embryonated eggs for determining infectious bronchitis virus antibodies. **J. Clin. Microbiol**. v. 3, p. 149-156, 1976.

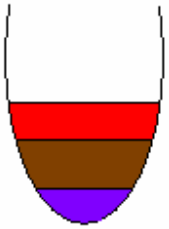
ZIMOVSKI, I. M.; LOPES, L. F. L.; GATTAMORTA, M. A.; SANCHES, T. C.; JOPPERT, A.; GODOY, S. N.; MATUSHIMA, E. R. Freqüência de isolamento de *Salmonella* spp. em répteis silvestres domiciliados, de cativeiro ou de vida livre. In: IX CONGRESSO E XIV ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS. 2005. São José do Rio Preto. **Anais...** São José do Rio Preto. p. 85, 2005.



ANTÍGENO

SORO TESTE

INCUBAR POR 15 MINUTOS



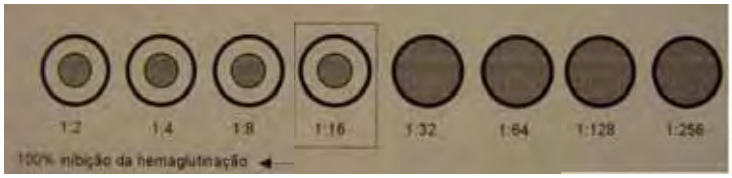
SUSPENSÃO DE HEMÁCEAS

ANTÍGENO

SORO TESTE

INCUBAR POR 30 MINUTOS

LEITURA

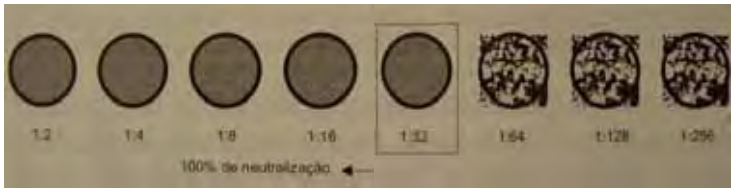


Anexo I: Técnica de Inibição da Hemaglutinação para Doença de Newcastle.

INCUBAR POR 30 MINUTOS

INCUBAR POR 3 DIAS

LEITURA



Anexo II : Técnica de Soroneutralização para Bronquite Infecciosa.