

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DETECÇÃO DE *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* E ANTICORPOS
CONTRA O VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM ESPÉCIMES DE
Paroaria coronata E *Saltator similis* APREENDIDOS PELA FISCALIZAÇÃO
AMBIENTAL NO RS**

GUSTAVO DA ROSA FÜNKLER

Porto Alegre

Abril / 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DETECÇÃO DE *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* E ANTICORPOS
CONTRA O VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM ESPÉCIMES DE
Paroaria coronata E *Saltator similis* APREENDIDOS PELA FISCALIZAÇÃO
AMBIENTAL NO RS

Autor: Gustavo da Rosa Fünkler

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração de Medicina Veterinária Preventiva e Patologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Cláudio Estêvão Farias da Cruz

Porto Alegre
Abril / 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Fünkler, Gustavo da Rosa

Detecção de Salmonella spp., Mycoplasma gallisepticum e anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em espécimes de Paroaria coronata e Saltator similis apreendidos pela fiscalização ambiental no RS / Gustavo da Rosa Fünkler. -- 2018. 48 f.

Orientador: Cláudio Estêvão Farias da Cruz.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Pássaros silvestres. 2. Conservação. 3. Manejo sanitário. 4. PNSA. I. Cruz, Cláudio Estêvão Farias da, orient. II. Título.

GUSTAVO DA ROSA FÜNKLER

DETECÇÃO DE *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* E ANTICORPOS
CONTRA O VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM ESPÉCIMES DE *Paroaria
coronata* E *Saltator similis* APREENDIDOS PELA FISCALIZAÇÃO AMBIENTAL
NO RS

Aprovada em

APROVADO POR:

Prof. Dr. Cláudio Estêvão Farias da Cruz
Orientador e Presidente da Comissão

Dra. Fabiana Quoos Mayer
Membro da Comissão

Prof. Dra. Franciele Maboni Siqueira
Membro da Comissão

Prof. Dr. Helton Fernandes do Santos
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todos os colegas do Laboratório Porto Belo pela ajuda e compreensão em todas as fases do projeto, em especial ao colega William Gustavo Couto pela ajuda nas coletas e as colegas Ana Maria Paiva Oliveira e Maria Teresa Poittevin Gilmet por todo o suporte e auxílio desde o começo da minha caminhada profissional, sem dúvida as tenho como grandes referências profissionais e pessoais, e espero poder continuar a desenvolver minha jornada como seu colega ainda por muitos anos.

A toda a equipe do Laboratório Simbios Biotecnologia pela realização das análises moleculares confirmatórias, em especial a André Fonseca, Flávia Carvalho, Dr. Nilo Ikuta e Dr. Vagner Lunge pelo auxílio na interpretação dos resultados e todas as indagações e ideias levantadas para auxiliar no desenvolvimento do projeto.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cláudio Estevão Farias da Cruz, pela oportunidade de participar deste projeto, pela parceria e suporte desde o surgimento da primeira ideia, até os detalhes finais do trabalho, e pelo incentivo em todos os momentos de dúvida ou questionamentos do caminho. Obrigado por ser além de orientador, ser um novo amigo, e por acreditar em mim.

Obrigado ao meu maior parceiro Lucas Oliveira de Mello por todos estes anos de convivência e pelo apoio incondicional. Cada conquista obtida tem um valor ainda maior quando é dividida com pessoas especiais.

Obrigado a todos que contribuíram direta e indiretamente com esse estudo. Aos amigos e a minha família que estiveram ao meu lado durante todo esse percurso.

Obrigado a todos!

DETECÇÃO DE *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* E ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM ESPÉCIMES DE *Paroaria coronata* E *Saltator similis* APREENDIDOS PELA FISCALIZAÇÃO AMBIENTAL NO RS¹

Autor: Gustavo da Rosa Fünkler

Orientador: Cláudio Estêvão Farias da Cruz

RESUMO

A perda de habitats e espécies tem atingido cifras alarmantes; entretanto, as medidas de conservação começam a contrapor tais tendências. Ainda que não sejam as mais eficazes, projetos de recuperação de aves silvestres em cativeiro têm, cada vez mais, auxiliado na luta contra a extinção de espécies. Nesse sentido, métodos aplicáveis em manejo de recintos, nutrição, sanidade e genética são prioritários. Esse estudo inclui a pesquisa de *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e vírus da doença de Newcastle (DNC) em amostras de pássaros *Paroaria coronata* (Cardeal) e *Saltator similis* (Trinca-ferro), duas das espécies mais traficadas e, portanto, mais apreendidas pela fiscalização ambiental, no Rio Grande do Sul (RS). Amostras de sangue, fezes e swabes de cloaca e orofaringe de cardeais e trinca-ferros apreendidos, além de amostras de fezes de coespecíficos de vida livre foram incluídas no estudo. Amostras de 03 espécimes de cada espécie mantidos no plantel de chamuscas do projeto e vacinados contra MG e DNC foram controles positivos. Os ensaios foram realizados utilizando os métodos oficiais (adaptados) do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA). Foram analisadas 138 amostras de fezes e/ou swabes de cloaca, e *Salmonella enterica* Sorovar Cerro (Grupo K) foi isolada de um pássaro de vida livre. A Soroaglutinação Rápida (SAR) para MG foi positiva em 80,2% de 94 amostras, das quais 10,3% confirmaram por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) para MG, em swabes orofaríngeos. Todas as 86 amostras foram negativas na inibição da hemaglutinação (HI) para NC. Através da amostragem e métodos aplicados, não foi possível verificar evidência de exposição relevante de cardeais e trinca-ferros apreendidos e de vida livre a *Salmonella* spp., bem como de cardeais e trinca-ferros apreendidos ao vírus da doença de Newcastle. Entretanto, houve evidência de exposição relevante de *Paroaria coronata* e *Saltator similis* apreendidos a *Mycoplasma gallisepticum*. Há necessidade de elevar os números amostrais de pássaros apreendidos e coespecíficos de vida livre.

Palavras chaves: pássaros silvestres, conservação, manejo sanitário, PNSA.

¹Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias – Medicina Veterinária Preventiva e Patologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS (44p.). Abril de 2018.

SEARCH FOR *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* AND ANTIBODIES AGAINST THE NEWCASTLE DISEASE VÍRUS IN SPECIMENS OF *Paroaria coronata* AND *Saltator similis* SEIZED BY ENVIRONMENTAL RS SURVEILLANCE.²

Author: Gustavo da Rosa Fünkler

Adviser: Cláudio Estêvão Farias da Cruz

ABSTRACT

The habitats and species losses have reached catastrophic numbers; however, conservation measures begin to counter such trends. Although not the most effective, captive wild bird rescue projects have increasingly aided in the fight against species extinction. In this sense, methodologies applicable to the management of enclosures, nutrition, sanitation and genetics are priorities. This study searched *Salmonella* spp., *Mycoplasma gallisepticum* (MG) and Newcastle Disease (NCD) disease virus in samples from birds *Paroaria coronata* (Red crested Cardinal) e *Saltator similis* (Green-winged Saltator), two of the most common species included in the illegal wildlife trade in Rio Grande do Sul, Brazil. Samples of blood, feces and cloacal and oropharyngeal swabs from seized Red crested Cardinal and Green-winged Saltator, apart of samples from free life conspecifics were included in the study. Samples from 03 birds in each species previously vaccinated for MG and NCD were positive controls. Tests were performed using the official methods (adapted) of the Nacional Poultry Health Program (PNSA). In total, 138 feces samples /cloacal swabs were analyzed, and *Salmonella enterica* Serovar Cerro (Group K) was isolated from one free living bird. Positive Rapid Serum Agglutination (RSA) for MG were detected in 80.2% of 94 samples, of which 10.3% were confirmed by quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) for MG, as positive in oropharyngeal swabs. All the 86 samples were negative in hemagglutination inhibition (HI) test for NC. Using this sampling and methods, it was not possible verify evidence of relevant exposure with *Salmonella* spp. in seized and free living Red crested Cardinal and Green winged Saltator, as well as of exposure to NC disease virus in seized Red crested Cardinal and Green winged Saltator. However, consensus remains that *Mycoplasma gallisepticum* may be an important pathogen or carried by seized *Paroaria coronata* and *Saltator similis*. There is a need to increase the sample numbers of confiscated and conspecific free-living birds.

Key words: wild birds, conservation, sanitary management, PNSA.

² Master dissertation in Veterinary Science – Preventive Veterinary Medicine and Pathology. Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS (44p.). April de 2018.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APMV-1	-	Paramixovírus Aviário Tipo 1
CETAS	-	Centro de Triagem de Animais Silvestres
DNA	-	Ácido Desoxirribonucleico
DNC	-	Doença de NewCastle
ECDC	-	European Center for Disease Prevention and Control
EFSA	-	European Food Safety Authority
G + C	-	Guanina + Citosina
HI	-	Inibição da Hemaglutinação
HN	-	Hemaglutinina-neuraminidase
ICMBio	-	Instituto Chico Mendes da Conservação da Biodiversidade
IN	-	Instrução Normativa
IUCN	-	Internacional Union for Conservation of Nature
LC	-	Least Concern (menor preocupação)
LPB	-	Laboratório Porto Belo
LPS	-	Lipopolissacarídeo
MAPA	-	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MERCOSUL	-	Mercado Comum do Sul
MG	-	Mycoplasma gallisepticum
mRNA	-	Ácido Ribonucleico mensageiro
NC	-	NewCastle
OIE	-	Organização Mundial da Saúde Animal
PCR	-	Reação em Cadeia da Polimerase
PNSA	-	Programa Nacional de Sanidade Avícola
qPCR	-	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa
RENCTAS	-	Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres
RNA	-	Ácido Ribonucleico
SAR	-	Soroaglutinação Rápida
SDA	-	Secretaria de Defesa Agropecuária
SNC	-	Sistema Nervoso Central
ssRNA	-	Ácido Ribonucleico de cadeia simples

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1. Tráfico de Aves Silvestres.....	10
2.2. <i>Paroaria coronata</i> (Cardeal).....	13
2.2.1. Descrição detalhada.....	14
2.2.2. Distribuição.....	16
2.2.3. Habitat.....	17
2.2.4. Dieta.....	17
2.2.5. Comportamento.....	18
2.2.6. Reprodução.....	18
2.3. <i>Saltator similis</i> (Trinca-ferro)	19
2.3.1. Descrição detalhada.....	20
2.3.2. Distribuição.....	20
2.3.3. Dieta.....	21
2.3.4. Reprodução.....	21
2.4. Patógenos do PNSA aplicáveis em protocolos sanitários/pássaros silvestres.....	21
2.4.1. <i>Salmonella</i> spp.....	21
2.4.2. <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	24
2.4.3. Doença de Newcastle.....	26
3. OBEJTIVOS	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
5. RESULTADOS	32
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÕES	36
8. PERSPECTIVAS	36
7. REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, embora a devolução das aves apreendidas à natureza seja solução frequente dos órgãos de fiscalização e gestão de fauna, estudos científicos associados são escassos, apesar de indispensáveis para o desenvolvimento de métodos diagnósticos adequados (COIMBRA-FILHO, 2000; LIMA & SANTOS, 2005; CAVALCANTI, 2011). Além disso, a necessidade de observar critérios e diretrizes estabelecidos para esses processos (IUCN, 1998 e 2000; EFE et al., 2006; BRASIL, 2015) depende do conhecimento da dinâmica populacional das espécies e da condição sanitária dos indivíduos e das comunidades envolvidas (CUBAS, 1996; FERREIRA & GLOCK, 2004; COSTA et al., 2010; GODOY & MATUSHIMA, 2010), ambos, em grande parte, desconhecidos, em nosso meio.

As diretrizes aplicáveis para destinação de pássaros apreendidos, conforme a *International Union for Conservation of Nature* (IUCN, 2000) e a Sociedade Brasileira de Ornitologia (EFE et al. 2006) incluem, basicamente, as opções de manutenção em cativeiro, libertação e eutanásia. Exceto pela aplicação da eutanásia, as demais alternativas propostas dependem de investimentos consideráveis em infraestrutura, nutrição e mão-de-obra. Enfatiza-se que os programas de reabilitação e libertação são as únicas alternativas que incluem chances adicionais à manutenção da vida dessas espécies em seu ambiente natural e, conseqüentemente, da biodiversidade. Entretanto, essa alternativa tem sido alvo de ampla controvérsia devido às possibilidades de insucesso e os riscos de disseminação de doenças (WOODFORD, 2000; ALLEY et al., 2002).

Novamente, poucos recursos científicos e tecnológicos têm sido destinados para esclarecimento desses fatores em nosso país. Além disso, a manutenção de espécimes em zoológicos, parques, criações amadoras, comerciais e industriais são riscos sanitários comparáveis aos supracitados à sanidade avícola e todas são atividades de longa data em nosso país. A instrução normativa ICMBio nº 23, de 31 de dezembro de 2014, que define diretrizes e procedimentos para destinação desses animais, não inclui a possibilidade de eutanásia, a qual é, pelo menos, aparentemente, contraproducente, uma vez que o destino da maciça maioria dos espécimes incluídos no tráfico já é a morte.

Os animais apreendidos oriundos do comércio ilegal, normalmente estão em condições precárias, alojados em locais sem ventilação, em altas concentrações e com oferta de alimentos inadequada, o que resulta em elevada taxa de mortalidade. As aves

sobreviventes frequentemente desenvolvem doenças causadas por agentes etiológicos que podem estar presentes de forma subclínica. Desta forma, podem se tornar reservatórios e disseminar agentes patogênicos na natureza, caso o processo de soltura não passe por um rígido controle sanitário. Apesar da diversidade de infecções que pode acometer os animais silvestres apreendidos, estas quase nunca são selecionadas para o isolamento de patógenos, tornando-se impossível avaliar o verdadeiro risco de transmissão de doenças que representa o comércio ilegal de animais silvestres (ROSEN & SMITH, 2010).

Investigações associadas com prevalência de patógenos, ou ocorrência de doenças (de interesse na avicultura industrial) em aves silvestres são escassas no Brasil (SOUZA et al., 2010; CUNHA et al., 2016), como em outros países (ALLEY et al., 2002; PEDERSEN et al., 2003; DESVAUX et al., 2009; IBU et al., 2009). Similarmente, raros são os estudos de causas de morte em aves silvestres e de vida livre no Brasil (SANCHES, 2008; GODOY & MATUSHIMA, 2010; OLIVEIRA et al., 2017a e b). Usualmente, fatores predisponentes adicionais, entre os quais se destacam as instalações e práticas de manejo inadequadas (CUBAS, 1996; CRUZ et al., 2011) são determinantes na ocorrência das mortandades. Há uma longa lista de patógenos registrados em doenças de aves silvestres (THOMAS et al., 2007), entre os quais merecem destaque os gêneros *Salmonella*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Toxoplasma*, *Eimeria*, *Isospora*, *Candida*, *Cryptosporidium*, *Aspergillus*, Poxvirus, Newcastle e Influenza aviária (ANDERSEN & VANROMPAY, 2000; WOODFORD, 2000; SANCHES, 2008; GODOY & MATUSHIMA, 2010; MAPA, 2012). A maioria do contingente de animais que chega às instalações dos centros de triagem apresenta péssimas condições de saúde, o que favorece, sobremaneira, a ocorrência de doenças e baixas por mortes. Nesse contexto, a usual ausência de equipamentos e instalações adequados à manutenção desses animais durante sua permanência em cativeiro são limitações adicionais. A mortalidade também é associada com o estresse e as precárias condições de cativeiro e transporte durante o tráfico. (PAGANO et al., 2009; GODOY & MATUSHIMA, 2010; OLIVEIRA et al., 2017a e 2017b).

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), define estratégias de vigilância epidemiológica para as doenças avícolas de controle oficial, destacando entre elas a influenza aviária, doença de Newcastle, salmonelose e micoplasmose (MAPA, 2002), porém tais estratégias de vigilância ativa limitam-se a criações avícolas comerciais, ocorrendo de maneira eventual em criações de aves exóticas e em aves silvestres.

Neste contexto, enfatiza-se a necessidade do desenvolvimento de protocolos sanitários aplicáveis em espécies de pássaros apreendidos com vistas à reabilitação e soltura, como medidas para diminuir riscos potenciais ao próprio plantel a ser reabilitado e solto, às populações de vida livre e à avicultura industrial. As espécies foram escolhidas pelo numerário disponível nas apreensões. Além das avaliações físicas e comportamentais, há que definir prioridades quanto à triagem sanitária e, nesse sentido, optou-se pelos testes parasitológicos e pelas doenças do PNSA (Adaptado de IN N°23 ICMBio). Este estudo piloto inclui aplicabilidades/desenvolvimento de métodos diagnósticos para salmonelose, micoplasmose e doença de Newcastle em espécimes de Trinca-ferro e Cardeal apreendidos pela fiscalização ambiental no RS.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tráfico de Aves Silvestres

Apesar de posicionada entre as três mais diversificadas e numerosas do globo, a fauna avícola brasileira tem sido, consideravelmente, afetada pela destruição ambiental e a caça para comércio ilegal. Estima-se que cerca de 20 milhões de espécimes de aves brasileiras sejam retirados da natureza, anualmente. Apenas cerca de 1% dos espécimes capturados e incluídos no tráfico ilegal são apreendidos e redirecionados aos centros de triagem de vida silvestre. Esse número depende das ações de fiscalizações, as quais são limitadas, entre outros motivos, à escassez de centros para destino desses animais (RENTCAS, 2001; DESTRO et al., 2012).

A ordem dos Passeriformes representa 80% das espécies traficadas e, conseqüentemente, também das apreensões no país (RENTCAS, 2002; PAGANO et al., 2009; DESTRO et al., 2012), mas apenas raríssimas iniciativas de programas de reabilitação e liberação de pássaros confiscados tem sido divulgadas no Brasil. Esses dados científicos são imprescindíveis para o aprimoramento desses processos, com vistas à conservação das espécies, especial e urgentemente, das ameaçadas (COIMBRO-FILHO, 2000; LIMA & SANTOS, 2005). As principais falhas e limitações desses programas são decorrentes do inadequado, ou insuficiente conhecimento das condições nas áreas de soltura (genética, sanidade e biologia das populações locais, disponibilidade de dieta, vegetação, etc.) e monitoramento da eficiência dos programas de liberação. Entretanto, fatores antecedentes à soltura tais como instalações e manejo (sanitário e

nutricional) deficientes, reduzem as chances de sobrevivência dos animais (CATÃO-DIAS, 2003; MARINI & GARGIA, 2005; EFE et al. 2006; MARINI & MARINHO FILHO, 2006; OLIVEIRA et al., 2017a). Condições adequadas de manejo e nutrição são os dois alicerces de qualquer sistema de manutenção animal (CUBAS, 1996; CRUZ et al., 2011). Na deficiência desses, os cuidados sanitários são incapazes de preservar a vida.

O comércio ilegal, ou tráfico de animais silvestres é uma atividade altamente lucrativa e é considerado o terceiro maior comércio ilícito no mundo, perdendo apenas para o tráfico de armas e drogas (LIMA, 2007). Estima-se que o comércio ilegal represente de 10 a 20 US\$ bilhões/ano, dos quais, aproximadamente, 15% estejam associados à participação do Brasil e que corresponda à retirada anual de 12 a 38 milhões de animais silvestres das matas brasileiras (RIBEIRO & SILVA, 2007). O cardeal e o trinca ferro estão entre as principais espécies traficadas no RS (FELKER et al., 2013; FERREIRA & GLOCK, 2004; SILVEIRA, 2015).

Não há dúvida de que a manutenção dos ambientes naturais e o controle do tráfico são as principais medidas para a conservação desses animais. Entretanto, a viabilidade de reutilizar essa parcela da biodiversidade recuperada do tráfico merece a oportunidade de ser analisada, adequada e consistentemente. O tráfico de animais é estruturado sobre uma rede formada por um emaranhado de rotas para o escoamento de animais no interior e para fora do país (HERNANDEZ & CARVALHO, 2006). As regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil são responsáveis pela maioria dos animais silvestres comercializados ilegalmente. As rodovias federais são utilizadas para a realização da distribuição desses animais nas regiões Sul e Sudeste. A região Sudeste desempenha o papel de grande consumidora e promotora do tráfico nacional e internacional de animais silvestres (RENCTAS, 2001).

O Rio Grande do Sul por fazer fronteira com países do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) tem importância estratégica para o tráfico, há rotas que passam pelo estado e seguem para os países vizinhos (FERREIRA, 2004; RENCTAS, 2001). O comércio ilegal desses animais no exterior encontra mercado em países da América do Norte, Europa e Ásia (RENCTAS, 2001).

Além da ameaça ao futuro das espécies e ao equilíbrio da biodiversidade pela diminuição do número de indivíduos na natureza, o tráfico contribui para a introdução de espécies invasoras, o que leva à competição por alimento com espécies endêmicas, alterando ecossistemas, ocupando nichos e desalojando espécies, ou destruindo culturas e lavouras (SMITH et al., 2009). A reintrodução de aves traficadas na natureza pode

carrear patógenos que representem ameaças à biodiversidade, à saúde pública e à produção agrícola (SMITH et al., 2009; CUNHA et al., 2016). No Brasil, estima-se que 78% dos animais apreendidos sejam devolvidos à natureza sem critérios sanitários (GODOY & MATUSHIMA, 2010). Além disso, o papel dos pássaros na transmissão de doenças é subestimado, visto que essas aves podem albergar patógenos primários ou oportunistas (BENSKIN et al., 2009).

Conforme a IUCN Redlist (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2016), *Paroaria coronata* (Cardeal) e o *Saltator similis* (Trinca-ferro) são classificados como Least Concern (menor preocupação), o que indica que são espécies abundantes e amplamente distribuídas em seu ambiente natural e, portanto, há pouca preocupação em relação à sua conservação, em comparação com espécies classificadas como vulnerável, em perigo e criticamente em perigo. Entretanto, espécies consideradas comuns podem ser tão suscetíveis a declínios populacionais e risco de extinção quanto aquelas consideradas raras (LINDENMAYER et al., 2011). Considerando que o objetivo chave da biologia da conservação é prevenir declínios populacionais ou extinção das espécies (SODHI & ERLICH, 2010), salienta-se a importância das ações que reconheçam e detectem precocemente possíveis ameaças e alterações nos parâmetros populacionais também das espécies que atualmente são consideradas comuns (LINDENMAYER et al., 2011).

Embora a destruição da biodiversidade mundial atinja cifras catastróficas (BARNOSKY et al., 2011; HOFFMANN et al., 2010; PIMM & BOOKS, 1999; JENKINS et al., 2003), os efeitos positivos das ações de conservação também começam a se tornar evidentes (BUTCHART et al., 2006; HOFFMANN et al., 2015). As principais ações para conservação de aves ameaçadas são proteção e manejo de ambientes naturais, controle de espécies invasoras e reprodução/recuperação de espécies em cativeiro para soltura (BUTCHART et al., 2006). Consideráveis quantias têm sido investidas nessas iniciativas, das quais, a conservação ambiental tem sido, expressivamente, a medida mais efetiva, inclusive com potencial de conservar diversas espécies simultaneamente. As demais têm representado 50% e 33% da efetividade dos projetos, respectivamente. Entretanto, poucas informações têm sido divulgadas sobre efeitos positivos, ou negativos das solturas sobre a conservação das espécies, em nosso meio.

Há consenso quanto a necessidade urgente de desenvolvimento de métodos diagnósticos adequados para os processos de reintrodução ou soltura de passeriformes apreendidos (COIMBRA-FILHO, 2000; LIMA & SANTOS, 2005; CAVALCANTI, 2011). Nesse sentido, os conhecimentos associados com a condição sanitária dos

indivíduos e das comunidades envolvidas (CUBAS, 1996; FERREIRA & GLOCK, 2004; COSTA et al., 2010; GODOY & MATUSHIMA, 2010), ainda que, amplamente desconhecidos, são prioridades dos órgãos gestores de fauna, especialmente devido às possibilidades de insucesso e os riscos de disseminação de doenças (WOODFORD, 2000; ALLEY et al., 2002). Os pássaros apreendidos do comércio, ou manutenção ilegais, normalmente são mantidos em precaríssimas condições, sem quaisquer atendimentos às suas necessidades mínimas e, portanto, sujeitas a altas taxas de enfermidade e mortalidade. Parcelas expressivas das aves sobreviventes desenvolvem doenças subclínicas e podem se tornar reservatórios e disseminadores de patógenos nas áreas de soltura, caso o processo de soltura não passe por um rígido controle sanitário. Apesar da diversidade de infecções que pode acometer os animais silvestres apreendidos, estudos associados com prevalência de patógenos, ou ocorrência de doenças de interesse na avicultura industrial em aves silvestres são escassas no Brasil (SOUZA et al., 2010; CUNHA et al., 2016), como em outros países (ALLEY et al., 2002; PEDERSEN et al., 2003; DESVAUX et al., 2009; IBU et al., 2009), tornando-se impossível avaliar o verdadeiro risco de transmissão que representa o comércio ilegal de animais silvestres (GODOY & MATUSHIMA, 2010; ROSEN & SMITH, 2010).

2.2 *Paroaria coronata* (Cardeal)

O Cardeal é uma ave passeriforme da família Thraupidae, também conhecida como Cardeal-do-Sul, Cardeal-de-topete (ou crista) -vermelho, etc. Pássaro de tamanho médio, de coloração vermelho, cinza e branco. Tem ventre e peito brancos e dorso, asas e cauda cinzas. As suas características mais distintivas incluem cabeça e crista vermelhas. O nome científico, *Paroaria* é Tupi e significa pequeno pássaro vermelho e cinza, enquanto *coronata* significa coroadado, em latim (JOBBLING, 2010).

Aparentemente, o Cardeal se assemelha com o Galo-de-Campina (*Paroaria dominicana*) e o Cavalaria (*Paroaria capitata*), este é menor, tem garganta preta e dorso mais escuro que o Cardeal. Embora compartilhe seu alcance com Cardeal, tanto em distribuição como em elevação, o Cavalaria prefere habitats mais úmidos, como os pântanos e as margens, enquanto o Cardeal não se restringe às áreas úmidas (PAYNE & WHITNEY, 2009). O Galo-de-Campina também é menor, com mais contraste no bico e dorso mais escuro. Ambos, Galo-de-Campina e Cavalaria não possuem a crista que caracteriza o Cardeal (RIDGELY & TUDOR, 1989).

2.2.1 Descrição detalhada

O Cardeal adulto é facilmente identificado pela cabeça, crista e garganta vermelhos (Figura 1). Toda a cabeça tem cor escarlate brilhante, da crista e do rosto para os auriculares até um babador na garganta que se estende até o peito (RIDGELY & TUDOR, 2009; JARAMILLO, 2011). A nuca, o peito, o ventre e o lado inferior da cauda são brancos, com pontos pretos atrás dos auriculares e uma linha preta entre o branco e o vermelho. As asas, o dorso e as pernas são cinzentas, com algumas manchas brancas. Os revestimentos das asas são de coloração cinzenta, mas as penas das asas primárias, secundárias e retrizes são de cor cinza mais escura com branco ao longo da borda principal das primárias e secundárias. Os axilares são brancos, enquanto a parte inferior das penas primárias e secundárias é cinza mais claro do que o lado dorsal (SHORT, 1975). Ambos os sexos são semelhantes ao olho humano (SHORT, 1975; JARAMILLO, 2011). A espécie é dicromática, quando as cores da plumagem são quantificadas por um modelo de visão aviária (BURNS & SHULTZ, 2012). Assim, os cardeais podem distinguir entre machos e fêmeas, mas os humanos não percebem essas diferenças. Entretanto, o comportamento e a vocalização dos indivíduos, especialmente na época reprodutiva, podem fornecer indicações do sexo desses pássaros. A maxila varia de marrom a cinza escuro, às vezes com borda branca. A mandíbula varia de cinza claro a branco. Os tarsos são negros e a íris é de cor marrom claro a vermelho pálido (BELTON, 1985). O juvenil é semelhante ao adulto, mas com a cabeça e o babador de coloração acastanhada (Figura 2), variando de tons de marrom a cinza no topo da cabeça e com bico mais escuro (BELTON, 1985; RIDGELY & TUDOR, 2009; JARAMILLO, 2011).

Figura 1. Cardeal (*Paroaria coronata*).



Fonte: Site da Reserva Natural Educativa Montecito de Lovera. Disponível em: <http://cerrito.gob.ar/reservalovera/?p=910>

Figura 2. Cardeais juvenis nas laterais e adulto, ao centro.

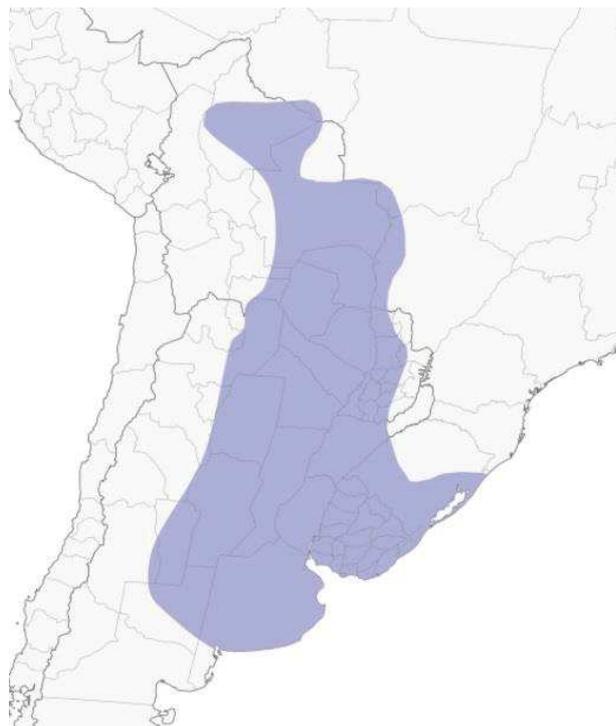


Fonte: Silveira, L.F., 2015. Cardeal (*Paroaria coronata*): espécimes jovens (à direita e à esquerda) e um adulto (ao centro).

2.2.2 Distribuição

O Cardeal ocorre no nordeste e no leste da Bolívia (norte a Santa Cruz e Beni do Sul), sudoeste e sul do Brasil (sudoeste de Mato Grosso, na região do Pantanal e sul do Rio Grande do Sul), oeste e região central do Paraguai (rio Paraguai), do Uruguai e do norte da Argentina (sul a norte de Mendoza, centro de La Pampa e Buenos Aires) (SHORT, 1975; RIDGELY et al., 1989; SICK, 1993; JARAMILLO & JUANA, 2014; LYNN, 2015 – Figura 3). Ocorre em toda a região do Chaco, no Paraguai, com exceção da franja do Norte (fronteira entre o Paraguai e a Bolívia) (SHORT, 1975). É comumente encontrado em cativeiro e foram encontrados indivíduos, provavelmente provenientes de fugas de cativeiro, nos parques da cidade de São Paulo (RIDGELY & TUDOR, 2009), em Caracas, Venezuela (SICK, 1993), Santiago, Chile (IRIARTE et al., 2005), em Lima, Peru (JARAMILLO & JUANA, 2014), em Porto Rico (AMERICAN ORNITHOLOGISTS' UNION, 1998) e no sul da Flórida (LONG, 1981). O Cardeal não é migratório (SHORT, 1975), ocorre do nível do mar até 500 m de altitude (RIDGELY et al., 1989). A espécie ocorre nas regiões zoogeográficas da América Central, do Sul e Pampas (PARKER et al., 1997).

Figura 3. Distribuição do cardeal.



Fonte: Neotropical Birds Online. Disponível em:

<https://neotropical.birds.cornell.edu/Species-Account/nb/species/reccar/overview>

Nas ilhas havaianas, o Cardeal foi introduzido em Oahu em 1928, onde é muito difundido, mas é menos comum em Kauai, Lanai, Molokai, Maui e Havaí (MOULTON & PIMM, 1983; PRATT et al., 1987; KOOPMAN & PITT, 2007). Ocorre principalmente nas terras baixas (JARAMILLO & JUANA, 2014) e outros habitats abaixo de 600 m de altitude, bem como em parques urbanos (MOULTON & FERRIS, 1991). Populações nascidas na natureza, descendentes de aves que escaparam do cativeiro, também foram relatadas no centro de Honshu, no Japão e em Taiwan (BRAZIL, 2009).

2.2.3 Habitat

O Cardeal varia de comum a abundante, em áreas semiabertas com arbustos e árvores dispersas; muitas vezes ocorre perto de fontes de água, como rios, pântanos e lagos, mas não se restringe a estes (RIDGELY et al., 1989; PERLO, 2009). Também é encontrado ao longo das zonas arbóreas e margens de bosques (SHORT, 1975), savanas diversas com maior vegetação (SICK, 1993), bosques espinhosos, áreas abertas dos pampas, áreas agrícolas, parques e cidades (JARAMILLO & JUANA, 2014). Embora viva principalmente em áreas abertas e margens, durante a época de reprodução, ele pode ser encontrado na floresta densa, mas ainda utiliza, extensivamente, as áreas abertas e pastagens adjacentes à floresta (SEGURA & ARTURI, 2012).

2.2.4 Dieta

O Cardeal tem dieta variada, consistindo principalmente de sementes, frutas e insetos, bem como brotos e bagas jovens. Ele se alimenta no chão e em árvores baixas e arbustos, em pares ou pequenos grupos (JARAMILLO, 2011). DE LE PENA & PENSIERO (2003) observaram 22 indivíduos em Santa Fe, Argentina e detalharam nove diferentes espécies de plantas onde frutas e sementes foram consumidas em vários meses. A alimentação incluía frutos de *Celtis tala*, *Grabowskia*, *Holmbergia tweedii*, *Morus alba*, *Sapium haematospermum*, e sementes de *Chloris virgata*, *Eleusine tristachya*, *Setaria parviflora* e *Spergula villosa*.

2.2.5 Comportamento

O Cardeal é geralmente encontrado em pares ou em pequenos grupos de aproximadamente 3 indivíduos (SEGURA et al., 2014) e durante os períodos da estação não reprodutiva, em bandos de 25 indivíduos (BELTON, 1985), ou mais. O modo primário de forrageamento é feito no solo, e ocorre em pares ou pequenos grupos, juntamente, ou não com outras espécies locais (RIDGELY & TUDOR, 2009). Durante a época de reprodução, os pares são muito territoriais e defendem o local do ninho, com os machos perseguindo outros membros da espécie ou potenciais predadores do ninho, mas o tamanho do território é desconhecido (SEGURA & ARTURI, 2009; SEGURA et al., 2015). Fora do período de reprodução, o Cardeal coexiste com outras espécies (KRATTER et al., 1993). Onde a área de *P. coronata* se sobrepõe com *P. capitata*, as duas espécies parecem competir e também há relato de hibridização com descendência fértil (SICK, 1993).

A espécie é monogâmica durante toda a temporada, e ambos os sexos vocalizam para manter contato. Os comportamentos de cortejo observados incluem ambos os sexos se pavoneando, abanando suas caudas e arqueando suas costas. Inicialmente, a fêmea bate o bico para expressar interesse no macho. O acasalamento ocorre como uma série rápida

de ataques pelo macho, enquanto a fêmea permanece no solo (PENDLETON, 1996, citado em LINDHOLM, 2003).

Existem poucos dados sobre a predação contra os cardeais adultos. A maioria dos registros de predações inclui o ataque de ninho e ovos por predadores aéreos (SEGURA e BERKUNSKY, 2012).

2.2.6 Reprodução

A época de reprodução do cardeal-de-crista-vermelha é de início de outubro a meados de fevereiro (SEGURA & ARTUTI, 2009). Um ciclo completo, desde a construção do ninho até o último cortejo tem média de $25,8 \pm 0,1$ dias, e os pares reprodutores permaneceram juntos durante a temporada (SEGURA et al., 2015). Os ninhos têm forma de tigela e são construídos com ramos finos de tala e hastes pequenas de capim, enquanto a câmara é revestida com raízes finas, fibras vegetais e pêlos bovinos (SEGURA & REBOREDA, 2011). Os ninhos são construídos unicamente pelos machos (PENDLETON, 1996, citado em LINDHOLM, 2003), em pequenos galhos de árvores a 2-6 m do solo (SEGURA & ARTURI, 2009). Os ovos do Cardeal são esverdeados com marcas marrons uniformemente espalhadas, embora, às vezes eles tenham marcas ocre ou pretas (JARAMILLO, 2011). A fêmea inicia a incubação após a postura do segundo ovo (PENDLETON, 1996, citado em LINDHOLM, 2003; SEGURA & REBOREDA, 2012) e o incuba por cerca de 11-13 dias (SEGURA et al., 2015).

2.3 *Saltator similis* (Trinca-ferro)

O Trinca-ferro (Passeriformes: família Thraupidae) conhecido também por picharro é uma ave onívora que vive em capoeiras, à beira das matas e clareiras, geralmente nas formações secundárias (SICK, 1997 – Figura 4). Tornou-se substituto de espécies que anteriormente eram visadas para a criação em cativeiro, mas que tiveram suas populações reduzidas na natureza devido à captura descontrolada, como o azulão (*Cyanoloxia brissonii*) e o curió (*Sporophila angolensis*). Seu canto forte e melodioso, além do comportamento agressivo (SICK, 1997) a tornam uma espécie muito apreciada por criadores e requisitada em torneios e campeonatos de pássaros (NARDY, 2006; RAMIRO, 2008; MARQUES, 2009). O sexo, tipo de canto e agressividade são as

principais características que valorizam a espécie, sendo os machos mais caros e mais visados que as fêmeas devido ao canto (NARDY, 2006; RAMIRO, 2008).

Figura 4. Trinca-ferro (*Saltator similis*).



Fonte: Site da Confederação Brasileira de Criadores de Pássaros Nativos – COBRAP.
Disponível em: <http://www.cobrap.org.br/especie/3/trinca-ferro>

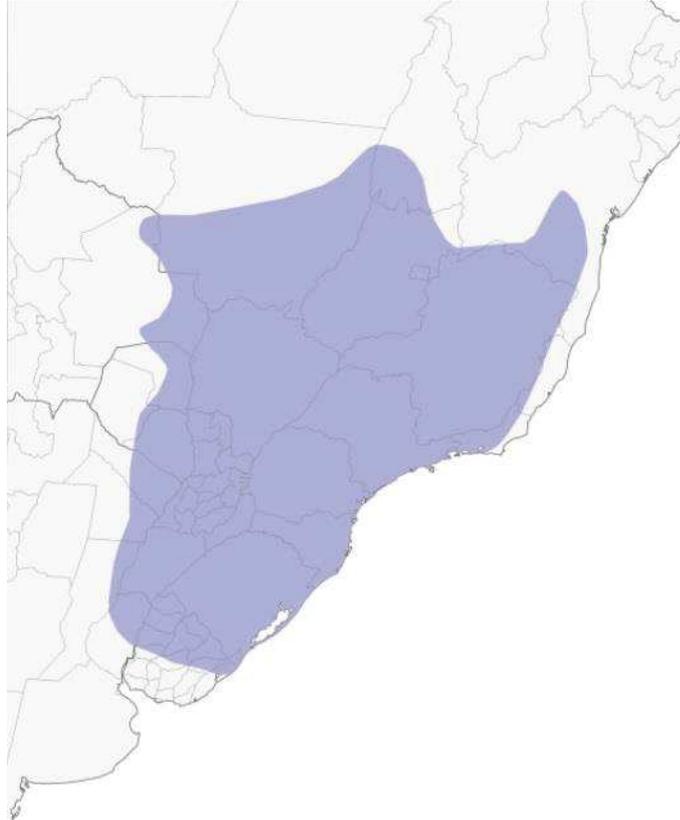
2.3.1 Descrição Detalhada

O Trinca-ferro tem aproximadamente 20 cm de comprimento e pesa de 38 a 46 g. Apresenta dorso verde, cauda e lados da cabeça acinzentados. A listra superciliar é comprida na ave adulta, com o “bigode” preto e garganta branca. Ventralmente, predomina o cinza nas laterais, tornando-se marrom alaranjado e brancacento no centro. As asas são esverdeadas. O espécime juvenil não possui a listra superciliar tão extensa, ou é falhada, ou inexistente, logo após saírem do ninho. Em todo o gênero *Saltator* há variação geográfica e individual do canto (dialetos) (SICK, 1997).

2.3.2 Distribuição

O Trinca-ferro distribui-se no Brasil este-meridional (da Bahia ao Rio Grande do Sul) e central, além da Bolívia, Paraguai, Argentina e Uruguai (SICK, 1997; LINN, 2015 – Figura 5).

Figura 5. Distribuição do Trinca-ferro.



Fonte: Neotropical Birds Online. Disponível em:

<https://neotropical.birds.cornell.edu/Species-Account/nb/species/grwsal1/overview>

2.3.3 Dieta

O Trinca-ferro é um típico onívoro, alimentando-se de frutos, insetos, sementes, folhas e flores (como as do ipê). Na infância, seu regime alimentar é predominantemente animal e constitui-se de insetos variados. O macho costuma trazer alimento para sua fêmea (SICK, 1997).

2.3.4 Reprodução

O Trinca-ferro constrói seu ninho em forma de tigela em arbustos a alturas de 1 a 2 m, os ovos são de tonalidade azul-esverdeado, normalmente, em número de 2 a 3. No período de reprodução, o casal se torna mais territorialista e não aceita nenhum indivíduo da mesma espécie no seu território, o que determina a facilidade de sua captura (SICK, 1997).

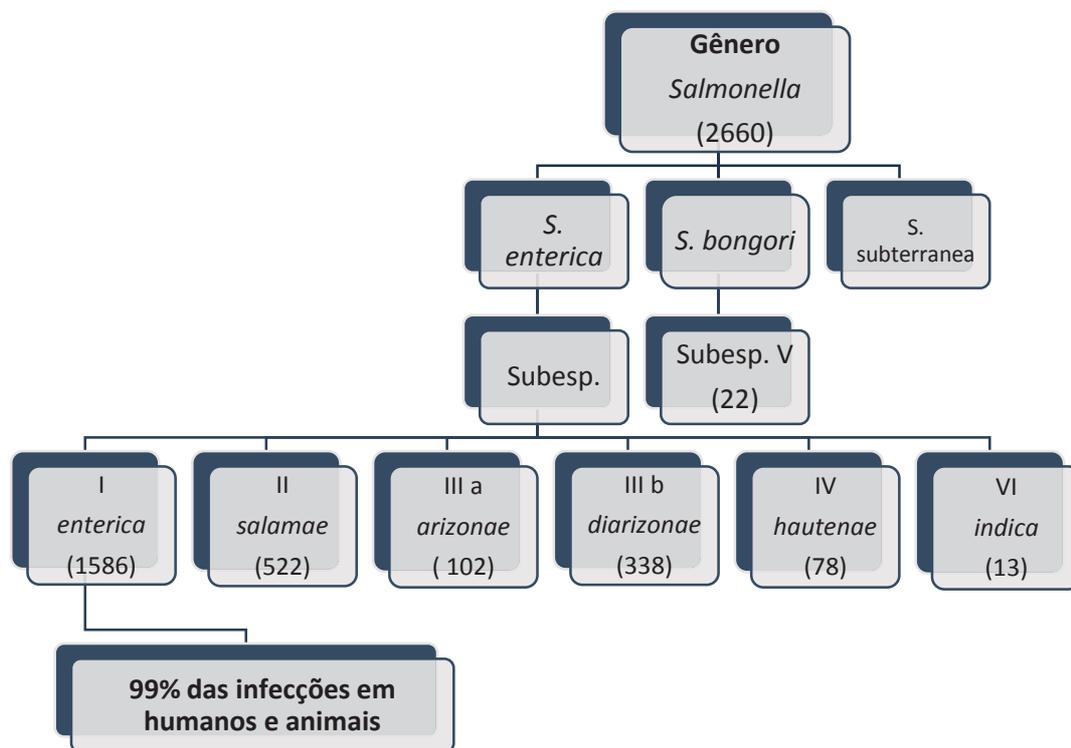
2.3. Patógenos do PNSA aplicáveis em protocolo sanitário / pássaros silvestres

2.3.1. *Salmonella* spp.

As bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella* nomeadas por seu descobridor, Daniel Salmon, são bastonetes gram-negativos, anaeróbicos facultativos e não formadores de esporos. Seu habitat normal é o trato intestinal dos seres humanos e de muitos animais. Todas as *Salmonellas* são consideradas patogênicas em algum grau, causando salmonelose, ou gastroenterite por *Salmonella* (TORTORA et al., 2012). Desde que a *Salmonella* foi descoberta em 1885 (SALMON & SMITH, 1886) tornou-se um dos microrganismos mais estudados, especialmente por ser um patógeno alimentar mundial e o segundo responsável por infecções gastrointestinais humanas, posicionado após *Campylobacter* spp. Em 2016, foram confirmados 94.530 casos de salmonelose em humanos na União Europeia (EFSA & ECDC, 2017). Atualmente, o gênero *Salmonella* é dividido em apenas 2 espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, sendo *Salmonella enterica* dividida em 6 subespécies adicionais. No passado, as subespécies de *Salmonella enterica* foram classificadas como subgêneros e os sorovares/sorotipos de *Salmonella* foram considerados espécies separadas. Se tal classificação ainda estivesse vigente, haveria mais de 2600 espécies de *Salmonella* (ISSENHUTH-JEANJEAN et al., 2014 – Figura 6).

As espécies e subespécies de *Salmonella* são fenotipicamente classificadas de acordo com diferentes testes de crescimento bacteriano e diferenciação bioquímica, enquanto sorovares ou sorotipos são classificados com base no esquema de Kaufmann-White. Primeiramente, é determinado o antígeno "O", que é baseado em polissacarídeos que estão associados com lipopolissacarídeos (LPS). Os diferentes antígenos "O" são expressos em números. Em seguida, é expresso o antígeno —H, que é determinado com base nas proteínas flagelares. As salmonelas podem mudar de fase e se diferem por cepas monofásicas (com uma fase) ou cepas bifásicas (com duas fases) e, ainda, em fenótipos móveis ou imóveis (TERZOLO, 2011). Em decorrência da perda econômica que as salmoneloses causam à avicultura e por afetar a exportação de produtos avícolas brasileiros, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através da Instrução Normativa nº 78 de 03/11/2003, alterada pela Instrução Normativa nº 41 de 04/12/2017, contempla que toda granja de reprodutoras de aves deve ser sorológica, bacteriológica e molecularmente monitorada para detecção de *Salmonella Pullorum*, *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium* (BRASIL, 2009; BRASIL, 2017).

Figura 6. Número de sorovares de acordo com espécie e subespécie de *Salmonella*.



Fonte: ISSENHUTH-JEANJEAN et al, 2014, adaptado.

Comumente encontrada no trato intestinal de aves silvestres, a *Salmonella* pode ser uma fonte de infecção para humanos e animais domésticos, especialmente *Salmonella* Typhimurium que possui uma ampla gama de hospedeiros e pode ser associada com doença em seres humanos, bovinos, suínos, roedores e aves. O estudo de ocorrência em pássaros silvestres como sentinelas para este patógeno alimentar também permite a avaliação do seu papel na propagação de resistência antimicrobiana no meio ambiente, um problema emergente (MATIAS, 2016). Após serem infectadas, as aves podem ser portadoras do agente por período indeterminado, excretando intermitentemente a bactéria, a qual pode permanecer viável, por longos períodos, no interior dos macrófagos e das células do sistema mononuclear fagocitário (TERZOLO, 2011). As zoonoses (doenças que são transmitidas de animais para humanos, ou de humanos para os animais) podem ameaçar as populações de aves que compartilham habitat com seres humanos. As salmonelas não tifoideas afetam humanos em todo o mundo (MAJOWICZ et al., 2010) e múltiplos hospedeiros animais, além de causar morbidade e mortalidade em aves sob condições naturais, ou cativas (PENNYCOTT et al., 1998; VELARDE et al., 2012; GIOVANNINI et al., 2013). Por exemplo, o provisionamento demonstrou atrair altas densidades de aves em locais de alimentação levando a contaminação fecal, transmissão

de patógenos e ressurgimento de salmoneloses (PENNYCOTT et al., 1998). A salmonella também é frequentemente isolada de aves detritívoras aparentemente saudáveis que são atraídas por aterros de resíduos e exposições de esgoto humano (BENSKIN et al., 2009). As aves assintomáticas podem disseminar salmonelas para indivíduos suscetíveis através de derramamentos fecais, ambientes compartilhados e via contato direto.

As aves silvestres estão vulneráveis a infecções bacterianas durante todo o seu ciclo de vida. Em espécies que vivem em colônias, onde o contato entre as aves é maior e a densidade aumenta em certos períodos, as ocorrências tendem a ser mais frequentes. A transmissão de agentes bacterianos pode ocorrer tanto através do contato direto entre indivíduos ou pela ingestão de alimento, ou água contaminados. Tanto aves aparentemente saudáveis, carreadoras de uma menor proporção de patógenos em potencial, quanto indivíduos doentes podem servir de fontes de infecção (BENSKIN et al., 2009).

Estudos com foco em aves silvestres como transportadoras de *Salmonella* mostraram que as espécies de aves que vivem perto de seres humanos e se alimentam em lixo humano, ou esgoto têm maior probabilidade de transportar *Salmonella*, mas a prevalência na população de aves silvestres é baixa (PALMGREN et al., 2006). Estudos nos Estados Unidos, de 1985 até 2004, demonstraram que a infecção por *Salmonella* é causa significativa da mortalidade em diversas espécies de aves, especialmente as pertencentes à ordem Passeriforme, a qual apresentou 21,5% das mortes durante os eventos analisados (TIZARD, 2004; HALL & SAITO, 2008). Em 2016, AFENE et al., detectou 18 sorovares diferentes em estudos de campo e encontrou uma série diversificada de sorovares associados a pássaros (n = 12) em comparação com estudos anteriores que encontraram principalmente *Salmonella* Typhimurium (HUGHES et al., 2008; KITADAI et al., 2010). A prevalência de *Salmonella* spp. entre as amostras de aves silvestres aparentemente saudáveis é baixa, quando em comparação com estudos de espécimes mortos ou moribundos. Entretanto, apesar da baixa taxa de detecção, esses resultados assinalam que os sorovares isolados circulam na população de aves (MATIAS et al., 2016). Desta forma, as aves silvestres são mais propensas a ser agentes de dispersão para *Salmonella* do que servir como fonte primária, mas isso também depende das características particulares dos locais de alimentação utilizados pelas aves e alcance territorial de cada espécie, sendo as espécies migratórias as que geram maior preocupação neste sentido (HATCH, 1996).

2.3.2 *Mycoplasma gallisepticum*

Os micoplasmas diferem de outras bactérias em seu tamanho pequeno e ausência total de parede celular, tais características explicam a morfologia de colônia do tipo “ovo frito”, com a resistência completa aos antibióticos que afetam a síntese da parede celular e com seus complexos requisitos nutricionais. Eles tendem a ser hospedeiro-específicos; os micoplasmas aviários geralmente não são conhecidos por infectar mamíferos ou outras espécies. O *Mycoplasma meleagridis*, por exemplo, apenas infecta perus, enquanto o *Mycoplasma gallisepticum* pode infectar muitas espécies de aves, embora os galináceos sejam mais susceptíveis (KLEVEN, 1998). Eles pertencem à classe Mollicutes, família Mycoplasmataceae, frequentemente retratados como a mais simples forma de vida autorreplicativa. O gênero *Mycoplasma* tem mais de 120 espécies, um teor de DNA G + C de 23-40%, tamanho de genoma de 600-1350 kb, sendo o *Mycoplasma gallisepticum* (MG) a espécie de micoplasma mais patogênica para aves e de maior importância econômica na sanidade avícola. Infecções por MG também são conhecidas como doença respiratória crônica de galinhas, sinusite infecciosa de perus, conjuntivite dos pássaros e complexo sinusite-conjuntivite em galiformes silvestres mantidos em cativeiro (CITTI, 2010; KLEVEN, 1998; KLEVEN, 2008; LEY, 2008; OLIVEIRA et al., 2017b).

Os mecanismos de patogenicidade dos micoplasmas são parcialmente atribuídos à competição com suas células hospedeiras por substratos metabólicos como precursores lipídicos, purinas e pirimidinas; à capacidade de adesão a células hospedeiras; à capacidade de invadir as células hospedeiras; à variação do seu fenótipo (variação de fase, antigênica e de tamanho), presumivelmente para evadir a resposta do sistema imune (evasão imunológica); e aos seus efeitos citopáticos (LUTTRELL & FISCHER, 2007). Sugere-se também que a formação de biofilmes por alguns micoplasmas desempenhe um papel na sua patogênese e persistência no hospedeiro e / ou ambiente (McAULIFFE et al., 2006).

As galinhas infectadas por MG geralmente desenvolvem sintomas respiratórios que podem incluir ronqueira, tosse, espirros, descargas nasais e dispneia. A conjuntivite com um exsudato ocular é comum em perus e ocorre ocasionalmente em galinhas. Há queda no desempenho de lotes infectados com diminuição do ganho de peso, eficiência alimentar e produção de ovos. Os sintomas da micoplasmose aviária se desenvolvem lentamente e o curso da doença pode ser prolongado (IOWA, 2007). Nas aves silvestres, a micoplasmose aviária é caracterizada por doença respiratória superior, letargia da conjuntivite, perda de peso, diminuição da produção de ovos e óbitos. Sinais clínicos

como conjuntivite, às vezes acompanhada por inchaço, rinite e descargas oculares e nasais infraorbitárias, ocorre frequentemente em aves e pássaros cativos infectados com MG, evidenciando doença clínica (IOWA, 2007; OLIVEIRA et al., 2017b). Embora as infecções também possam permanecer sem sinais clínicos, essas podem tornar as aves mais propensas às infecções secundárias por bactérias como *Escherichia coli* e *Haemophilus paragallinarum*, e mesmo a alguns vírus como o da doença de Newcastle, bronquite infecciosa e laringotraqueíte infecciosa (KLEVEN, 1998).

A transmissão dos Mycoplasmas pode acontecer de forma horizontal e vertical. A transmissão horizontal acontece pelo contato de aves susceptíveis com aves com infecção clínica ou subclínica, ou com fômites (alimentos, pessoas, equipamentos, entre outros) contaminados, já que a porta de entrada da bactéria é principalmente pelo trato respiratório e/ou conjuntiva (SATO, 1996; KLEVEN, 2008). Desde 1994, após o relato de um surto de conjuntivite em House Finches (*Carpodacus mexicanus*) associada a infecção por MG (FISCHER et al., 1997), acumulam-se evidências que demonstram que um número maior de espécies de aves pode ser infectado por MG e, portanto, potencialmente envolvidas na dinâmica doença-hospedeiro e dos níveis populacionais de MG em aves silvestres.

Estudos de caracterização e evolução genômica em diversas cepas de MG isoladas a partir de espécies de House Finches, demonstraram uma rápida evolução gênica e adaptação do patógeno ao novo hospedeiro (DELANEY et al., 2012). Na América do Norte, MG foi isolado de 7 espécies de aves silvestres, e em 18 espécies foram detectados anticorpos contra MG (DHONDT et al., 2014). Uma explicação alternativa para a diversidade de hospedeiros pode ser que o MG esteve presente entre aves silvestres sem ser detectado por um período prolongado. Os reservatórios de aves silvestres são possíveis, embora estes também possam ter sido introduzidos de reservatórios da avicultura. Por exemplo, nos Estados Unidos, em 2001, MG isolado de pássaros demonstrou, por análises filogenéticas, associação com aves comerciais, o que sugere a introdução de uma cepa não mantida em pássaros (HOCHACHKA et al., 2013).

Análises filogenéticas indicam que é possível que as cepas de MG detectadas em aves silvestres ao redor do mundo representem introduções passadas ou recentes a partir de galinhas de fundo de quintal, os reservatórios mais prováveis de uma diversidade de cepas de MG, que são então mantidas nessas populações (DHONDT et al., 2014). Micoplasmas são muito mais comensais do que patógenos e, como muitas vezes se apresentam de formas subclínicas, crônicas ou latentes, aliadas a dificuldades para

cultivar, isolar e identificá-los, seu papel como organismos infecciosos tem sido controverso e subestimado (DHONDT et al., 2014).

2.3.3 Doença de Newcastle

A doença de Newcastle (DNC) ocorre em aves e pode ter efeitos econômicos devastadores sobre produção avícola e são classificados como Paramixovírus aviários (APMV). Todos os APMV fazem parte do gênero *Avulavirus*, subfamília Paramyxovirinae, família Paramyxoviridae, ordem Mononegavirales. Existem 9 sorotipos de APMV, mas todos os isolados do vírus da DNC pertencem ao sorotipo 1 (APMV-1), portanto, o NDV é sinônimo de APMV-1 (CATOLLI et al., 2011).

O vírus da DNC possui RNA de cadeia simples, e é capaz de infectar mais de 250 espécies de aves. Esse vírus é endêmico em muitas partes do mundo e tem sido conhecido por causar surtos de epizootias em aves domésticas em seis dos sete continentes (BROWN, 2017). O genoma viral possui aproximadamente 15 kb e contém 6 genes, os quais correspondem a proteínas estruturais: (1) uma proteína do nucleocapsídeo (NP), (2) a fosfoproteína (P), (3) uma proteína matriz (M), (4) uma fusão de proteínas (F), (5) uma proteína hemaglutinina-neuraminidase (HN), e (6) uma RNA polimerase (L) (CHAMBERS et al., 1986; SEAL et al., 2000).

Os surtos da DNC podem ser devastadores, com mortalidade próxima de 100% em aves susceptíveis. Muitas vezes se espalha rapidamente durante epizootias na avicultura, causando graves perdas econômicas devido à doença e, para países exportadores, perdas resultantes de restrições comerciais e embargos (ALEXANDER et al., 2012). De acordo com a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), a DNC é uma doença notificável, quando atende a certos critérios de virulência. Essas cepas altamente patogênicas podem causar enorme impacto econômico, e assim o reconhecimento imediato e a confirmação são fundamentais. No entanto, a falta de sinais clínicos característicos em muitas espécies de aves, as variações na virulência e sua variabilidade genética representam sérios desafios para o diagnóstico da infecção (CATOLLI et al., 2011).

O vírus da DNC infecta vários grupos taxonômicos diferentes de aves silvestres parece capaz de infectar todas as espécies de aves e alguns outros vertebrados, inclusive humanos (THOMAS et al., 2007). Embora todos os isolados do vírus pertençam a um único sorotipo (APMV-1), existe grande variabilidade genética entre diferentes cepas.

Com base na reconstrução filogenética, os vírus podem ser divididos nas classes I e II. (MILLER et al., 2010). Isolados da classe I pertencem a um único genótipo, enquanto que os isolados da classe II estão divididos em 18 genótipos (DIMITROV, 2016). Neste sistema de classificação, isolados do vírus da classe I são compostos principalmente por vírus que foram isolados de aves aquáticas e costeiras e, ocasionalmente, de amostras coletadas em mercados de aves vivas em todo o mundo e aves silvestres capturadas (KIM et al., 2007; MILLER et al., 2010). Os vírus da classe II foram inicialmente agrupados em 15 genótipos; no entanto, três genótipos adicionais foram adotados desde 2012 (COURTNEY et al., 2013; DIEHL et al., 2012; SNOECK et al., 2013). Os vírus da classe II estão presentes em aves silvestres e aves domésticas, porém, as cepas mais virulentas de Newcastle são obtidas de aves domésticas e são responsáveis por perdas econômicas significativas para a indústria avícola em todo o mundo (MILLER et al., 2015).

Com base na gravidade da doença clínica, as cepas do vírus de Newcastle (NC) foram classificadas em patótipos, com base em patogenicidade, do menos patogênico ao mais patogênico, respectivamente, sendo: assintomática entérica ou lentogênica, mesogênica e velogênica. As velogênicas foram divididas ainda em viscerotrópica e neurotrópica, de acordo com sua capacidade de causar, principalmente, sinais viscerais ou nervosos (ALEXANDER, 2003), caracterizados por lesões hemorrágicas encontradas nos intestinos de aves mortas (velogênicas viscerotrópicas) ou predominantemente infecção respiratória e neurológica (velogênicas neurotrópicas) (MILLER et al., 2010). Os sinais neurológicos geralmente incluem tremores, ataxia, torcicolo e paresia ou paralisia das asas ou pernas que se desenvolvem vários dias após a infecção. Ambas, espécies silvestres e domésticas podem desenvolver sinais neurotrópicos semelhantes (BROWN, 2017). As cepas mesogênicas de NC, geralmente, causam doenças respiratórias em galinhas adultas; enquanto, as cepas lentogênicas não são patogênicas (SCHIRRMACHER, 2017). Lesões associadas tanto a cepas velogênicas como mesogênicas de infecções pelo vírus da DNC são mais frequentemente detectadas no sistema nervoso central (SNC), trato digestivo, trato urinário, ou trato respiratório de aves domésticas e, em populações de aves silvestres, tendem a afetar o SNC, os rins, ou causar doença sistêmica que resulta, rapidamente, em mortalidade e ausência de sinais clínicos ou lesões histopatológicas (BROGGI et al., 2013).

O primeiro contato do vírus em hospedeiros susceptíveis ocorre com células epiteliais respiratórias. A adesão viral é mediada pela proteína hemaglutinina-neuraminidase (HN) que se liga à gangliosídeos e N-glicoproteínas contendo uma

estrutura distinta de ácido siálico e açúcares. A ligação do vírus à célula é seguida pela ativação da proteína de fusão viral F. A fusão do vírus com a membrana celular hospedeira, então, permite a transferência do genoma viral para o citoplasma da célula hospedeira, onde o RNA de cadeia simples não segmentado de 15 kb (ssRNA) é transcrito em mRNAs e traduzido em proteínas virais (SCHIRRMACHER, 2017). O vírus é relativamente estável fora de um hospedeiro e no ambiente, tornando possível a transmissão por fômites. O vírus infectante foi encontrado em instalações contaminadas por aves infectadas após sobreviver 7 dias no verão, 14 dias durante a primavera e 30 dias no inverno (KINDE et al, 2004). Nos últimos anos, houve um aumento de genótipos descobertos, alguns dos quais foram associados com aumento da virulência, ou ampliação do alcance do hospedeiro (LIU, 2008; WAN, 2010; ZOU, 2005).

Espécies de pombas (família Columbidae) e Cormorão-marinheiro-de-orelhas (*Phalacrocorax auritus*) foram implicados como espécies reservatórias para cepas virulentas de DNC na América do Norte (CROSS et al., 2013). Coletas em cisnes brancos (*Cygnus olor*), na região dos Grandes Lagos e ao longo da costa atlântica dos Estados Unidos resultaram na detecção de vírus e anticorpos do vírus da DNC em 8,7% e 60% das amostras, respectivamente (PEDERSEN et al., 2014). Avaliações de aves silvestres em quatro continentes entre 1997 e 2014 resultaram no isolamento, repetidas vezes, do NDV derivado da vacina (AYALA et al., 2016). Estes isolados vacinais foram encontrados em 17 espécies com maior frequência em Columbiformes e Anseriformes, sendo encontrados também em Passeriformes e Psitacídeos. Não surpreendentemente, as cepas do vírus encontrados corresponderam aqueles que são mais amplamente utilizados como vacinas - La Sota e B1. Essas descobertas são preocupantes já que a passagem do vírus por espécies de aves silvestres pode desencadear pressões seletivas que podem levar à deriva gênica ou a um aumento em virulência. Embora preocupante, não há registros documentados de casos de cepas de vacina recombinando com cepas de tipo selvagem em pássaros silvestres; no entanto, pesquisas sobre a dinâmica viral em aves silvestres da DNC têm sido limitadas e investigações adicionais poderiam esclarecer adequadamente tais aspectos.

3. OBJETIVOS

Este estudo piloto tem por objetivo desenvolver métodos aplicáveis para a detecção e estimativa de prevalência de patógenos de importância na avicultura, como a

Salmonella spp., *Mycoplasma gallisepticum* e vírus da doença de Newcastle, em espécimes de *Paroaria coronata* (Cardeal) e *Saltator similis* (Trinca-ferro) apreendidos pela fiscalização ambiental no Rio Grande do Sul e encaminhados aos CETAS da região metropolitana de Porto Alegre, avaliando a exposição destas aves a tais agentes, os riscos associados a transmissão de doenças dentro dos CETAS e o risco em potencial destes espécimes servirem de reservatório para tais agentes na natureza.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo foram selecionados espécimes de *Paroaria coronata* (Cardeal, n = 64) e *Saltator similis* (Trinca-ferro, n = 74), apreendidos pela fiscalização ambiental em diferentes pontos do estado do Rio Grande do Sul, no período de agosto/2017 a fevereiro/2018 e enviados até os CETAS (Centros de Triagem de Animais Silvestres) da região metropolitana de Porto Alegre, ou espécimes de vida livre capturados em seu território para realização das coletas de amostras (Tabela 1) e posteriormente devolvidos a seu habitat. As coletas eram realizadas após o recebimento dos animais nos CETAS, que então eram encaminhados para soltura e/ou reabilitação seguindo as diretrizes de cada CETAS.

Os ensaios microbiológicos, sorológicos e moleculares foram realizados no Laboratório Porto Belo (LPB), em Porto Alegre, credenciado ao MAPA para atendimento do PNSA. Para detecção de *Salmonella spp.* foram coletadas 138 amostras de fezes e/ou swabs de cloaca (40 de vida livre e 98 de aves de CETAS), sendo 64 provenientes de Cardeais e 74 de Trinca-ferros. O método utilizado para a detecção de *Salmonella spp.* foi o da Portaria SDA N° 126 de 03/11/1995 adaptado (Substituindo o Caldo BHI utilizado no enriquecimento não seletivo, por Água Peptonada Tamponada 1%). Colônias suspeitas foram confirmadas e caracterizadas com antissoros específicos (soroaglutinação em lâmina) pelo (LPB e Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz) e também molecularmente (Laboratório Simbios Biotecnologia).

Para a detecção de anticorpos contra MG foram coletadas amostras de soro (total de 94 amostras, sendo 43 de Cardeais e 51 de Trinca-ferros), além de swabs orofaríngeos (97 amostras, sendo 42 de Cardeais e 55 de Trinca-ferros) para realização de análise molecular por qPCR. Foi utilizado o método de Soroaglutinação Rápida (SAR) segundo a Instrução Normativa SDA - N° 44 de 23/08/2001. E a detecção de molecular de MG foi realizada através de Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa, utilizando kit

comercial de detecção para MG NewGene® e os resultados positivos confirmados pelo Laboratório Simbios Biotecnologia, também por análise molecular para MG, com gene alvo para MG distinto.

Na detecção de anticorpos contra a DNC através da prova de Inibição da Hemaglutinação (HI) foi utilizado o método da Portaria SDA – N° 182, de 08/11/1994. Para detecção de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle foram utilizadas amostras de soro (86 amostras, sendo 37 de Cardeais e 49 de Trinca-ferros) para realização de prova de HI.

Também foram coletadas amostras de 03 espécimes de *Paroaria coronata* e 03 espécimes de *Saltator similis* mantidos em plantel (chamas) controlado e submetidos à vacinação contra MG e NC, os quais serviram como controles para validação dos testes de SAR para MG, qPCR para MG e HI para NC.

Tabela 1. Amostras coletadas de Cardeal e Trinca-ferro.

Espécie / Tipo de amostra (n)	Amostras coletadas			
	Fezes e/ou swabe de cloaca Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	Soro para SAR MG	Swabes orofaríngeos para MG	Soro para HI NDV
Cardeal	64	43	42	37
CETAS	42	37	42	37
Vida Livre	22	6	-	-
Trinca-ferro	74	51	55	49
CETAS	56	51	55	49
Vida Livre	18	-	-	-
Total	138	94	97	86

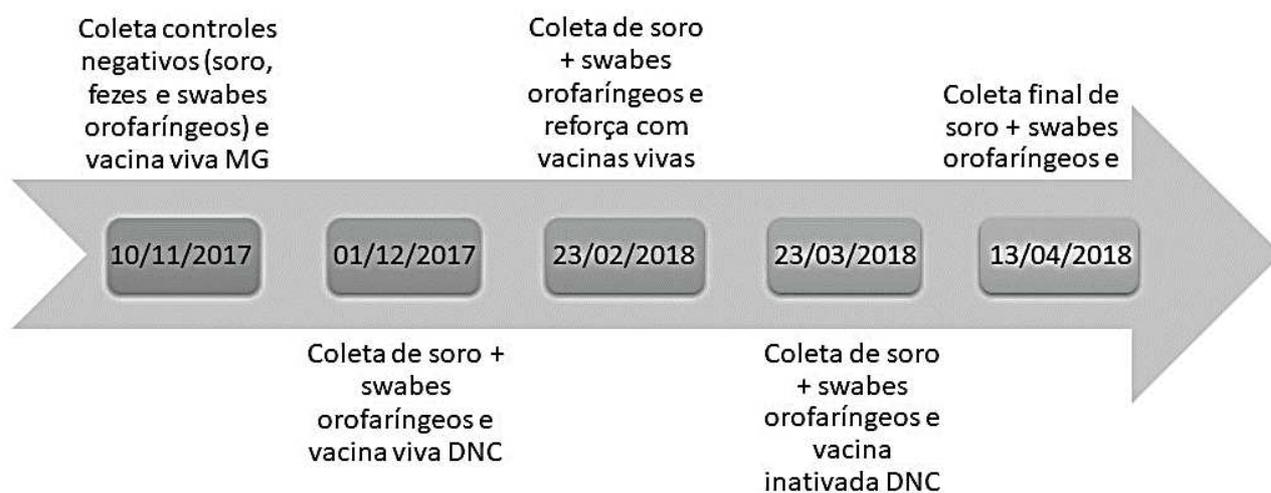
As aves chamas são espécimes utilizados para atrair coespecíficos de vida livre para os métodos de captura. Devido à necessidade de transportar essas aves em seus territórios, durante as expedições de captura, os chamas são mantidos em gaiolas. Dessa forma, ao serem introduzidos no território de coespecíficos de vida livre, estes, imediatamente, vêm para expulsar os intrusos e, usualmente, partem para combate, o que cria a possibilidade de captura, em alçapões de rede, laçadas, ou redes de neblina.

Todos os pássaros, ao ingressarem no plantel, têm amostras testadas para parasitas (coccídeos, helmintos, entre outros) e, se necessário, são tratadas, com antiparasitários.

Todas já tiveram, pelo menos, três resultados negativos para parasitas em amostras de fezes. As dietas desses pássaros incluem misturas de sementes, rações comerciais específicas para cada uma das duas espécies, frutas (maçã, mamão papaia, goiaba e jaboticaba), vegetais (alface, couve, espinafre, pepino, chuchu e, eventualmente, quiabo), artrópodes (tenébrios, tenébrios gigantes e gafanhotos, além de larvas de lepidópteros e aranhas, ocasionalmente) e minerais. As bandejas das gaiolas são mantidas com areia, tigelas de banho são oferecidas às aves em dias alternados. As gaiolas são recolhidas à noite em sala fechada, para prevenção de ataque por predadores e, ao amanhecer, são recolocadas em área externa que permite insolação moderada. Fora da estação de captura (outono-inverno), os pássaros são mantidos em recintos externos.

Os protocolos de vacinação (Figura 7) incluíram 1 gota via ocular das vacinas vivas para *Mycoplasma gallisepticum* (MYCOVAX-TS-11, Merial, cepa TS-11, P.400/17, V.02/18, em 10/11/2017) e vírus da DNC (Merial, cepa La Sota 004/16, ND1873, P.004/16, V.04/18, em 01/12/2017), reforços com vacinas vivas para MG (BIOCAMP, Camp VacMG-F, P.006/2016, V.11/19, em 23/02/2018) e DNC (BIOVET, New-Vacin, La Sota, P.007/17, V.05/19, em 23/02/2018) e reforço com vacina inativada oleosa para vírus da DNC (BIOVET, New-BRONK-VET, P.003/17, V.08/19, vírus B1 La Sota, título mínimo antes da inativação de $10^{5.3}$ DIOE₅₀, em 23/03/2018). O protocolo de vacinação foi baseado em estudo prévio do grupo, com vacinação para o vírus da DNC em aves ornamentais (GOMES et al. 2018). As aves foram testadas prévia (controles negativos) e posteriormente à vacinação (controles positivos).

Figura 7. Linha do tempo do protocolo de vacinação utilizado no plantel de chamuscas.



5. RESULTADOS

Os resultados dos ensaios realizados nas amostras de ambos os espécimes podem ser observados na Tabela 2. Na Pesquisa de Salmonella, amostras de somente 1 (um) pássaro teve resultado positivo para *Salmonella* spp. (*Salmonella enterica* Sorovar Cerro – Grupo K). A soroaglutinação rápida foi positiva em 80,2% das amostras dos pássaros. A detecção molecular de MG nas amostras de swabs orofaríngeos, houve 10,3% de positividade. A detecção de anticorpos pela técnica de HI foi negativa em 100% das amostras. Os resultados do grupo controle, prévia e posteriormente às vacinações podem ser observados na Tabela 3. Inicialmente as aves foram testadas para todos os parâmetros analisados, obtendo-se resultado negativo para todas as análises, garantindo assim a viabilidade dos testes propostos. Após a realização da primeira vacina viva para MG, observou-se resultado positivo em todas as aves na SAR e em 01 aves na PCR. Após realização de uma segunda dose de vacina viva para MG se obteve resultado positivo para todas as aves do grupo controle. Na vacinação para NC somente com a vacina viva, nenhuma ave apresentou títulos de anticorpos após o período avaliado (até 110 dias após a aplicação da vacina), positividade esta observada somente após a aplicação de vacina inativada para NC, na prova de HI.

Tabela 2. Resultados ensaios laboratoriais das amostras de Cardeal e Trinca-ferro.

Espécie	Ensaio Laboratoriais			
	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	SAR MG	PCR MG	HI NDV
Cardeal (n)	64	43	46	37
n/% Positivas	1 / 1,5%	29 / 67,4%	6 / 13%	0 / 0%
Trinca-ferro (n)	74	51	55	49
n /% Positivas	0 / 0%	45 / 88,2%	4 / 7,2%	0 / 0%
Total	138	94	97	86
	1 / 0,7%	77 / 81,9%	10 / 10,3%	0 / 0%

Tabela 3. Resultados ensaios laboratoriais das amostras do grupo controle.

	Ensaio Laboratoriais			
	Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	SAR MG	PCR MG	HI NDV
Pré-Vacina	6 0 / 0%	6 0 / 0%	6 0 / 0%	6 0 / 0%
1ª dose vacina viva MG	- - / -	6 06 / 100%	6 01 / 16,6%	- - / -
2ª dose vacina viva MG	- - / -	6 06 / 100%	6 06 / 100%	- - / -
1ª dose Vacina viva NC	- - / -	- - / -	- - / -	6 0 / 0%
2ª dose Vacina viva NC	- - / -	- - / -	- - / -	6 0 / 0%
Vacina Inativada NC	- - / -	- - / -	- - / -	6 6 / 100%

6. DISCUSSÃO

Esse estudo piloto inclui o desenvolvimento de protocolos sanitários aplicáveis em espécies de pássaros apreendidos com vistas à reabilitação e soltura, como medidas para diminuir riscos ao próprio plantel a ser reabilitado e solto, às populações de vida livre e à avicultura industrial. Embora haja longa lista de enfermidades descritas em aves silvestres (ANDERSEN & VANROMPAY, 2000; WOODFORD, 2000; THOMAS et al., 2007; SANCHES, 2008; GODOY & MATUSHIMA, 2010; MAPA, 2012), por questões práticas, definimos como prioritárias as doenças do PNSA (Adaptado de IN N°23 ICMBio), especificamente, salmonelose, micoplasmose e doença de Newcastle. Outras práticas de manejo sanitário, como pesquisa e tratamento de outros potenciais patógenos, avaliações comportamentais, além de aplicação de período de quarentena adequado, também serão aplicadas aos lotes como tentativas para diminuir riscos potenciais associados e garantir a biossegurança dos processos, pois diversas outras condições podem acometer esses pássaros.

Pesquisas de agentes patogênicos incluídos no PNSA, bem como diversos outros, em pássaros silvestres são limitadas. Ainda mais escassos são dados referentes às espécies inclusas nesse estudo. Sabe-se que a prevalência de isolamento de salmonelas de amostras de pássaros silvestres tem sido variável, usualmente, entre 1% e 7% (TIZARD, 2004;

THOMAS et al., 2007), inclusive em amostras de pássaros apreendidos do tráfico ilegal (MATIAS, 2014; BRACONARO et al., 2015; CUNHA et al., 2016).

O conhecimento sobre flora bacteriana digestiva, normal ou patogênica, de aves silvestres é consideravelmente limitado e a maioria dos estudos é associada com agentes com potencial zoonótico, ou com importância em espécies de interesse comercial. *Salmonella* Typhimurium é o sorotipo mais comumente associado com doença em espécies de aves silvestres, enquanto *Salmonella* Enteritidis está comumente presente nas amostras dessas aves, mas sem correlação com doença (CLARE et al., 2009). Apenas uma amostra fecal (0,7%) foi positiva no cultivo e isolamento de *Salmonella*, o que é compatível com estudo prévio (CUNHA et al., 2016), os quais observaram apenas 2 positivos (4,0%) para o gênero em amostras fecais de *Paroaria coronata* e *Paroaria dominicana*. Neste estudo, *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp., entre outras foram encontradas em números mais expressivos (85,7% e 57,1% respectivamente) que *Salmonella*. A espécie aqui isolada foi *Salmonella enterica* Sorovar Cerro (Grupo K), proveniente de pássaro de vida livre e a significância desse achado permanece por ser esclarecida. A prevalência de *Salmonella* em aves silvestres é baixa, porém estas podem adquirir salmonelas após exposição a ambientes contaminados pelo homem e/ou animais domésticos (ABULREESH et al., 2007). O sorovar isolado neste trabalho (*Salmonella* Cerro), possui registro de detecção em matérias-primas e rações para aves (HOFER et al., 1998), granjas de postura comercial (MORAES, 2014) e também tem sido associada a bovinocultura, com alta taxa de prevalência nos rebanhos (CUMMINGS et al., 2010; SILVA, 2012).

A SAR para MG resultou positiva em quantidade expressiva (mais de 80%) das amostras testadas. O resultado é similar aos observados em estudos de prevalência sorológica para MG no país, especialmente em aves de postura comercial e aves de subsistência, demonstram positivities variando de 42,9% a 88,2% das aves analisadas (CORREZOLA et al., 2012; DE NARDI et al., 2013; DE SÁ et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2015). As dificuldades relacionadas à amostragem e obtenção de soro de qualidade, além da baixa especificidade do ensaio, torna alto o risco de resultados falsos positivos, mas não se pode excluir a possibilidade do contato com antígenos de MG e/ou similar. Testes imunológicos de maior especificidade precisam ser desenvolvidos para a confirmação da presença de anticorpos contra MG no soro dessas aves. Entretanto, quando testadas pela técnica de qPCR para MG, houve redução para 10% de amostras positivas, valor comparável aos descritos em estudos prévios da diversificação de

hospedeiros com resultado positivos para o microrganismo (CARVALHO, 2012; DHONDT et al., 2014; HARTUP et al., 2001) e que expressa uma situação provável, devido à condição usual de pássaros apreendidos. A susceptibilidade ao MG em diferentes espécies de pássaros também foi observada em infecções experimentais e demonstraram além da capacidade de causar doença clínica e possibilidade de infecções subclínicas (FARMER et al., 2005), como a observada nas aves deste estudo, onde não há evidência clínica de infecção (sinais clínicos evidentes e/ou alterações comportamentais), sugerindo o potencial reservatório do patógeno na natureza. Adicionalmente, a detecção de DNA ou anticorpos associados com MG em aves silvestres demonstra tendências semelhantes (HIDASI, 2013; DHONDT, 2014; ORTIZ, 2014; MICHIELS et al., 2016); entretanto surtos da doença em espécies silvestres cativas ou de vida livre, nativas ou exóticas, têm sido descritos (FISHER et al., 1997; PENNYCOTT et al., 1998; LUTTRELL et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2017b).

Os resultados positivos para MG obtidos após vacinação no grupo controle, associado aos achados positivos nas aves coletadas, reforçam evidências de que a análise molecular para MG a partir de swabes orofaríngeos pode ser uma opção de método aplicável para a pesquisa a detecção de MG e elucidar o papel deste patógeno nestas e em outras populações de aves.

A detecção de anticorpos contra o vírus da DNC foi negativa em 100% das amostras analisadas neste estudo. Prevalências comparáveis têm sido divulgadas em detecções sorológicas (HI) positivas do vírus da doença de Newcastle em aves apreendidas (OLIVEIRA-JÚNIOR, 2003), resultados que quando positivos são representados por galiformes e outras ordens que não a dos passeriformes. Monitoramentos de aves de vida livre têm demonstrado a mesma tendência, ainda que por métodos moleculares (CAMENISCH et al., 2008).

Ainda que a maioria dos achados do presente estudo possam representar baixas prevalências, os riscos envolvidos, especialmente, durante o período em que esses pássaros serão manejados em lotes e, portanto, permanecerão em contato próximo, ou mesmo após sua soltura justificam e qualificam essas pesquisas como prioritárias, em iniciativas afins.

7. CONCLUSÕES

Através da amostragem e métodos aplicados, não foi possível verificar evidência de relevante exposição de *Paroaria coronata* e *Saltator similis* apreendidos, ou de vida livre a *Salmonella* spp. Também não foi possível verificar evidência de exposição de *Paroaria coronata* e *Saltator similis* apreendidos ao vírus da doença de Newcastle. Entretanto, permanece o consenso de que *Mycoplasma gallisepticum* pode ser um patógeno relevante, ou mesmo ser carreado em *Paroaria coronata* e *Saltator similis* apreendidos. Há necessidade de elevar, consideravelmente os números amostrais e em proporções semelhantes de pássaros apreendidos e coespecíficos de vida livre, para confirmar e circulação do patógeno nestas e em outras espécies, e se pertinente, readequar os procedimentos de avaliação sanitária e soltura de aves encaminhadas aos CETAS.

8. PERSPECTIVAS

Após a demonstração da aplicabilidade dos métodos utilizados no presente trabalho para a detecção de *Salmonella* spp., MG e anticorpos contra o vírus da DNC em espécimes de Cardeal e Trinca-ferro apreendidos pela fiscalização ambiental do RS e de vida livre, espera-se ampliar o estudo buscando estes e outros patógenos como a *Escherichia coli* Patogênica Aviária – APEC, *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., vírus da Bronquite Aviária, entre outros de importância na avicultura, nestas e em outras espécies de passeriformes que possam albergar tais patógenos e representar riscos a avicultura comercial, aos CETAS e a conservação das próprias espécies estudadas.

9. REFERÊNCIAS

ABULREESH, H.; GOULDER; SCOTT. Wild birds and human pathogens in the context of ringing and migration. *Ringing and Migration*, v. 23, p. 193, 2007.

AFEMA, J. A.; SISCHO, W. M. *Salmonella* in Wild Birds Utilizing Protected and Human Impacted Habitats, Uganda. *Ecohealth*, v. 13, n. 3, p. 558–569, 2016.

ALEXANDER, D. J. Newcastle disease, other paramyxoviruses and pneumovirus infections. *Diseases of Poultry*, p. 63–100, 2003.

ALEXANDER, D. J.; ALDOUS, E. W.; FULLER, C. M. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathology*, v. 41, n. 4, p. 329–335, 1 ago. 2012.

ALLEY, M. et al. An epidemic of salmonellosis caused by *Salmonella* Typhimurium DT160 in wild birds and humans in New Zealand. *New Zealand veterinary journal*, v. 50, p. 170–6, 2002.

AMERICAN ORNITHOLOGISTS' UNION. Check-list of North American birds. Seventh edition. American Ornithologists' Union, Washington, DC, 1998.

ANDERSEN, A. A.; VANROMPAY, D. Avian chlamydiosis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, v. 19, p. 396–404, 2000.

AYALA, A. J. et al. Presence of Vaccine-Derived Newcastle Disease Viruses in Wild Birds. *PLoS ONE*, v. 11, n. 9, p. e0162484, 2016.

BARNOSKY A. D. et al. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, v. 471, n. 7336, p. 51, 2011.

BELTON, W. Birds of Rio Grande do Sul, Brazil. Part 2. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 180, p. 1-242, 1985.

BENSKIN, C. M. H. et al. Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. *Biological Reviews*, v. 84, n. 3, p. 349–373, 2009.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. *Paroaria coronata*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2016. Acessado em: <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T22721-582A94716142.en>> on December 17, 2017.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. *Saltator similis*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2016. Acessado em: <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T2272-3882A94838529.en>> on December 17, 2017.

BRACONARO, P. et al. Detection of bacteria and fungi and assessment of the molecular aspects and resistance of *Escherichia coli* isolated from confiscated passerines intended for reintroduction programs. *Microbial Pathogenesis*, v. 88. p. 65-72, 2015.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Instrução Normativa ICMBIO N° 23, de 31 de dezembro de 2014. *Diário Oficial da União*, n° 1, seção 1, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Legislação - Programas Nacionais de Saúde Animal do Brasil. Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa SDA n° 41, de 04 de dezembro de 2017. *Diário Oficial da União*, n° 246, seção 1, 2017.

BRAZIL, M. Birds of East Asia: eastern China, Taiwan, Korea, Japan, eastern Russia. London Christopher Helm, 2009.

BURNS, K. J.; SHULTZ, A. J. Widespread Cryptic Dichromatism and Ultraviolet Reflectance in the Largest Radiation of Neotropical Songbirds: Implications of

Accounting for Avian Vision in the Study of Plumage Evolution. *The Auk*, v. 129, n. 2, p. 211–221, 1 abr. 2012.

BUTCHART, S.H.M. et al. Biodiversity indicators based on trends in conservation status: strengths of the IUCN red list index. *Conservation Biology*, v. 20, 579-581, 2006.

CAMENISCH, G. et al. Monitoring of wild birds for Newcastle disease virus in Switzerland using real time RT-PCR. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 43, p. 772-776, 2008.

CATÃO-DIAS, J. L. Doenças e seus impactos sobre a biodiversidade. *Ciência e Cultura*, v. 55, p. 32–34, 2003.

CATTOLI, G. et al. Newcastle disease: a review of field recognition and current methods of laboratory detection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 23, n. 4, p. 637–656, 15 jun. 2011.

CAVALCANTI, T.A. Translocação de *Sporophila nigricollis* e *S. albogularis* (Aves: Passeriformes) em uma área de caatinga na Paraíba, Brasil. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba. 2011.

CHAMBERS, P. et al. Molecular Cloning of Complementary DNA to Newcastle Disease Virus, and Nucleotide Sequence Analysis of the Junction between the Genes Encoding the Haemagglutinin-Neuraminidase and the Large Protein. *Journal of General Virology*, v. 67, n. 3, p. 475–486, 1986.

CITTI, C.; NOUVEL, L.-X.; BARANOWSKI, E. Phase and antigenic variation in mycoplasmas. *Future Microbiology*, v. 5, n. 7, p. 1073–1085, 1 jul. 2010.

CLARE, McW. Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. *Biological Reviews*, v. 84, p. 349-373, 2009.

COIMBRA-FILHO, A.F. Reintrodução de tucano-de-bico-preto (*Ramphastos vitellinus ariel* Vigors, 1826) no Parque Nacional da Tijuca (Rio de Janeiro - RJ) e notas sobre sua distribuição geográfica. *Bol. Mus. Biol. Mello Leitão*, (N. Sér) 11/12, p. 189-200, 2000.

CORREZOLA, L. M. et al, 2012. Serological response of commercial laying hens to *Mycoplasma gallisepticum* in poultry farms in São Paulo state. *ARS VETERINARIA*, Jaboticabal, SP, v.28, n.1, 041-047, 2012.

COSTA, I. A. et al. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em aves silvestres no município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, v. 11, n.4, p. 914 - 922, dez. 2010.

COURTNEY, S. C. et al. Highly Divergent Virulent Isolates of Newcastle Disease Virus from the Dominican Republic Are Members of a New Genotype That May Have

Evolved Unnoticed for Over 2 Decades. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 2, p. 508–517, fev. 2013.

CROSS, T. A. et al. Prevalence of avian paramyxovirus 1 and avian influenza virus in double-crested cormorants (*Phalacrocorax auritus*) in eastern North America. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 49, n. 4, p. 965–977, 1 out. 2013.

CUBAS, Z. Special challenges of maintaining wild animals in captivity in South America. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, v. 15, n. 1, p. 267–287, mar. 1996.

CRUZ, C. E. F. et al. Management, Breeding, and Health Records from a Captive Colony of Pekin Robins (*Leiothrix lutea*), 2001–2010. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 42, n. 3, p. 451–459, 1 set. 2011.

CUMMINGS, K. J. et al. *Salmonella enterica* Serotype Cerro Among Dairy Cattle in New York: An Emerging Pathogen? *Foodborne Pathogens and Disease*, v. 7, n. 6, p. 659–665, jun. 2010.

CUNHA, M. P. V. et al. Bactérias gram-negativas em cardeais (*Paroaria coronata* e *Paroaria dominicana*) apreendidos no tráfico de animais silvestres. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 53, n. 1, p. 107-111, 2016.

DE LA PEÑA, M. R.; PENSIERO, J. F. Contribución de la flora en los hábitos alimentarios de las aves en un bosque del centro de la provincia de Santa Fe, Argentina. *Ornithologia neotropical*, v. 14, p. 499-513. 2003.

DE NARDI, C. P. P. et al. *Mycoplasma gallisepticum* in free-range from northern Tocantins State, Brazil. *African Journal of Microbiological Research*, v. 7, n. 46, p. 5271-5273, 2013.

DE SÁ, S. G. et al. Occurrence and risk factors assessment associated with *Mycoplasma gallisepticum* (MG) infection in chickens in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 35, n. 6, p. 531-535, 2015.

DESTRO, G.F.G. et al. Efforts to Combat Wild Animals Trafficking in Brazil. *Biodiversity enrichment in a diverse world*, p. 42-435. 2012.

DESVAUX, S. et al. Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1) Outbreak in Captive Wild Birds and Cats, Cambodia. *Emerging Infectious Diseases*, v. 15, n. 3, p. 475–478, mar. 2009.

DHONDT, A. A.; DHONDT, K. V.; MCCLEERY, B. V. Comparative infectiousness of three passerine bird species after experimental inoculation with *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Pathology*, v. 37, n. 6, p. 635–640, 1 dez. 2008.

DHONDT, A. A. et al. Diverse Wild Bird Host Range of *Mycoplasma gallisepticum* in Eastern North America. *Plos One*, v. 9, n. 7, p. e103553, 25 jul. 2014.

- DIEL, D. G. et al. Genetic diversity of avian paramyxovirus type 1: Proposal for a unified nomenclature and classification system of Newcastle disease virus genotypes. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 12, n. 8, p. 1770–1779, 1 dez. 2012.
- DHONDT, A.A. et al. Diverse Wild Bird Host Range of *Mycoplasma gallisepticum* in Eastern North America. *Plos One*, v. 9, p. e103553. doi:10.1371/journal.pone.0103553.
- EFE, M.A et al. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Ornitologia para a destinação de aves silvestres provenientes do tráfico e cativeiro. *Revista Brasileira de Ornitologia*, v. 14, p. 67-72, 2006.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY & EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*, v. 15, n. 12, p. e05077–n/a, 2017.
- FELKER, R. M. et al. Levantamento parcial da avifauna apreendida pelo escritório regional do IBAMA de Santa Maria-RS. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 11, n.11, p. 2506-2510, 2013.
- FERREIRA, C.M.; GLOCK L. Diagnóstico preliminar sobre a avifauna traficada no Rio Grande do Sul, Brasil. *Biociências*, v. 12, p. 21-30, 2004.
- FISCHER, J.R. et al. Mycoplasmal Conjunctivitis in Wild Songbirds: The Spread of a New Contagious Disease in a Mobile Host Population. *Emerging Infectious Diseases*, v. 3, p. 69-72, 1997.
- GODOY, S. N.; MATUSHIMA, E. R. A Survey of Diseases in Passeriform Birds Obtained from Illegal Wildlife Trade in São Paulo City, Brazil. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, v. 24, n. 3, p. 199–209, 1 set. 2010.
- GOMES, C.W.C. et al. Newcastle disease vaccination in captive-bred wild birds. *Tropical Animal Health and Production*, v.45. 2018. DOI 10.1007/s11250-018-1567-x
- GONÇALVES, G.A.M. et al. Serological evaluation of *Parainfluenzavirus* Type 1, *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp., And *Toxoplasma gondii* in wild birds. *Ciência Animal Brasileira*, v. 14, p.473-480, 2013.
- HALL, A. J.; SAITO, E. K. Avian wildlife mortality events due to Salmonellosis in the United States, 1985–2004. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 44, n. 3, p. 585–593, 1 jul. 2008.
- HATCH, J. J. Threats to public health from gulls (*Laridae*). *International Journal of Environmental Health Research*, v. 6, n. 1, p. 5–16, 1 mar. 1996.
- HERNANDEZ, E. F. T.; CARVALHO, M. S. O tráfico de animais silvestres no Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Human and Social Sciences*, v. 28, n. 2, p. 257–266, 2006.

HIDASÍ, H.W. Detecção de *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp. e *Escherichia coli* de aves sinantrópicas da região metropolitana de Goiânia-Goiás. Tese Doutorado, Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. 105p., 2013.

HOCHACHKA, W. M. et al. Multiple host transfers, but only one successful lineage in a continent-spanning emergent pathogen. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 280, n. 1766, p. 20131068, 7 set. 2013.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S. J. DA; REIS, E. M. F. DOS. Sorovares de *Salmonella* isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 18, p. 21–27, 1998.

HOFFMANN, M. et al. The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*, v. 330, p. 1503-1509, 2010.

HOFFMANN M. et al. The difference conservation makes to extinction risk of the world's ungulates. *Conservation Biology* v. 29, n. 5, p. 1303-1313, 2015.

HUGHES, L. A. et al. Characterisation of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005 – 2006. *BMC Veterinary Research*, v. 4, p. 4–4, 2008.

IBU, O.J. et al. Prevalence of Newcastle Disease Viruses in wild and captive birds in Central Nigeria. *International Journal of Poultry Science*, v. 8, p. 574-578, 2009.

IRIARTE, J. A.; LOBOS, G. A.; JAKSIC, F. M. Invasive vertebrate species in Chile and their control and monitoring by governmental agencies. *Revista chilena de historia natural*, v. 78, p. 143–151, 2005.

IOWA STATE UNIVERSITY CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH, "Avian Mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*)". Center for Food Security and Public Health Technical Factsheets. v. 11, p. 1-4, 2007.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S. et al. Supplement 2008–2010 (no. 48) to the White–Kauffmann–Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, v. 165, n. 7, p. 526–530, 1 set. 2014.

IUCN. Guidelines for Re-introductions. IUCN Reintroductions Specialist Group. Gland Switzerland and Cambridge, UK. 1998. Disponível em <<http://iucn.org/theme-s/ssc/PUBS/POLICY/INDEX.HTM>> Acesso 11/12/17.

IUCN. 2000. Guidelines for the placement of confiscated animals. IUCN Reintroductions specialist group. Switzerland and Cambridge. Disponível em <<https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/2002-004.pdf>> Acesso 11/12/17.

JARAMILLO, A. Red-crested Cardinal (*Paroaria coronata*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona., v. 16, p. 643-644, 2011. Disponível em <<https://www.hbw.com/no-de/62099>> Acesso em 09/12/17.

- JENKINS, M. Prospects for Biodiversity. *Science*, v. 302, p. 1175-1177, 2003.
- JOBLING, J.A. The Helm dictionary of scientific bird names: from Aalge to Zussi. Christopher Helm, London, 2010.
- KIM, L. M. et al. Characterization of Class I Newcastle Disease Virus Isolates from Hong Kong Live Bird Markets and Detection Using Real-Time Reverse Transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, n. 4, p. 1310–1314, abr. 2007.
- KINDE, H. et al. Survival of Exotic Newcastle Disease Virus in Commercial Poultry Environment Following Removal of Infected Chickens. *Avian Diseases*, v. 48, n. 3, p. 669–674, 1 set. 2004.
- KITADAI, N. et al. *Salmonella* Isolated from the Feces of Migrating Cranes at the Izumi Plain (2002-2008): Serotype, Antibiotic Sensitivity and PFGE Type. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 72, n. 7, p. 939–942, 2010.
- KLEVEN, S. H. Mycoplasmas in the Etiology of Multifactorial Respiratory Disease. *Poultry science*, v. 77, p. 1146–9, 1998.
- KLEVEN, S. H.; “Mycoplasmosis,” in *Disease of Poultry*, Fadly, A.M.; Gilson, J.R.; McDougald, L.R.; Nolan, L.K.; Swanye, D.E., Eds., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, p. 805-807, 2008.
- KOOPMAN, M.E.; PITT, W.C. Crop Diversification Leads to Diverse Bird Problems in Hawaiian Agriculture, *Human–Wildlife Interactions*, v. 1, p. 235-243, 2007.
- KRATTER, A. W. et al. Avifauna of a Chaco Locality in Bolivia. *The Wilson bulletin.*, v. 105, p. 114–141, 1993.
- LEY, D. H.; “*Mycoplasma gallisepticum* infection,” in *Disease of Poultry*, Fadly, A.M.; Gilson, J.R.; McDougald, L.R.; Nolan, L.K.; Swanye, D.E., Eds., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, p. 807–834, 2008.
- LIMA, P.C.; SANTOS, S.S. Reprodução de uma população reintroduzida de *Aratinga auricapilla* (Kuhl, 1820) Aves: Psittacidae, em área de Cerrado no Leste da Bahia, Brasil. *Ornithologia*, v. 1, p. 13-18, 2005.
- LIMA, R. O tráfico de animais silvestres. In: RENCITAS, editors. *Vida silvestre: o estreito limiar entre preservação e destruição - Diagnóstico do tráfico de animais silvestres na Mata Atlântica: Corredores Central e Serra do Mar*. Brasília, p. 44-49, 2007.
- LINDHOLM, J. Biological Profile–Red-crested Cardinal *Paroaria coronata*, (MILLER, 1776). The Cameron Park Zoo. 2003.
- LINN, A., BURNS, K. J., & RICHART, C. H. Red-crested Cardinal (*Paroaria coronata*). In *Neotropical Birds Online* (Schulenberg, T.S. editor). Cornell Lab of

- Ornithology, Ithaca, New York, USA. Disponível em <<https://doi.org/10.2173/nb.reccar.01>> Acesso 28/11/17.
- LIU, H. et al. Characterization of Newcastle Disease Virus Isolated from Waterfowl in China. *Avian Diseases*, v. 52, n. 1, p. 150–155, 1 mar. 2008.
- LONG, J.L. *Introduced birds of the world*. Universe Books, New York. 1981.
- LUTTRELL, P. et al. *Mycoplasma gallisepticum* in house finches (*Carpodacus mexicanus*) and other wild birds associated with poultry production facilities. *Avian Diseases*, v. 45, p. 321-329, 2001.
- LUTTRELL, P. & FISCHER, J. R. Mycoplasmosis, in *Infectious Diseases of Wild Birds* (eds N. J. Thomas, D. B. Hunter and C. T. Atkinson), Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA. 2007.
- MARINI, M.A.; GARCIA, F.I. 2005. Bird Conservation in Brazil. *Conservation Biology*, v. 19, p. 665-671, 2005.
- MARINI, M.A; MARINHO, FILHO, J.S. Translocação de aves e mamíferos: teoria e prática no Brasil. In: Rocha CFD, Bergalo HG, Sluys MV & Alves MS (eds). *Biologia da conservação: essências*. Ed. Rima, São Carlos-SP, 2006.
- MARQUES, A. B. Avaliação do canto do trinca-ferro (*Saltator similis* Lafresnaye e D'Orbigny 1837) em relação ao processo de domesticação e suas implicações na conservação das aves canoras. Tese de Doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, Brasil, 2009.
- MATIAS, C. A. R. Isolamento e caracterização de enteropatógenos bacterianos em aves provenientes do tráfico de animais selvagens no estado do Rio de Janeiro - Brasil: riscos para a saúde pública. Tese de Doutorado. Escola nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, Brasil, 2014.
- MATIAS, C. A. R. et al. Characteristics of *Salmonella* spp. isolated from Wild Birds Confiscated in Illegal Trade Markets, Rio de Janeiro, Brazil. *BioMed Research International*, v. 2016, p. 1–7, 2016.
- MCAULIFFE, L. et al. Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology*, v. 152, n. 4, p. 913–922, 2006.
- MICHIELS, T. et al. Prevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial poultry, racing pigeons and wild birds in Belgium. *Avian Pathology*, v. 45, p. 244-252, 2016.
- MILLER, P. J.; DECANINI, E. L.; AFONSO, C. L. Newcastle disease: Evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 10, n. 1, p. 26–35, 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA – 2012). Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/animal/sanidade-animal>> Acesso 05/12/17.

MORAES, D. M. C. Investigação bacteriológica e molecular de *Salmonella* spp. em granjas de postura comercial. 2014. 95 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

MOULTON, M.P.; D.K. FERRIS. 1991. Summer diets of some introduced Hawaiian finches. *Wilson Bulletin*, v. 103, p. 286-292, 1991.

MOULTON, M. P.; PIMM, S. L. The Introduced Hawaiian Avifauna: Biogeographic Evidence for Competition. *The American Naturalist*, v. 121, n. 5, p. 669–690, 1983.

NARDY, S.R.P. Avaliação do comércio do trinca-ferro-verdadeiro (*Saltator similis*, Lafresnaye e D'Orbigny, 1837) (Passeriforme: Cardinalidae) na região de Ouro Preto, Minas Gerais. Monografia. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Brasil, 2006.

OLIVEIRA, L. G. S. et al. Causes of bird losses recorded in a captive-bred wild bird flock between 2011 and 2015. *Ciência Rural*, v. 47, 05, e20160903, 2017a.

OLIVEIRA, L. G. S. et al. Outbreaks of mycoplasmosis and histomoniasis in a southern brazilian flock of ornamental birds. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 45, 01, 200, 2017b.

OLIVEIRA-JÚNIOR, J.G. et al. Vírus da doença de Newcastle em aves não vacinadas no estado do Rio de Janeiro. *Ciência Rural*, v. 33, p. 381-383, 2003.

ORTIZ, M.C. *Mycoplasma* em fígados de *Amazona aestiva* procedentes do CETAS-BH. Dissertação de Mestrado. Escola de Veterinária. Universidade de Minas Gerais. 40p., 2014.

PAGANO, I. S. A. et al. Aves depositadas no Centro de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA na Paraíba: Uma amostra do tráfico de aves silvestres no estado. *Ornithologia*, v. 3, p. 132–144, 2009.

PALMGREN, H. et al. *Salmonella* in Black-headed gulls (*Larus ridibundus*); prevalence, genotypes and influence on *Salmonella* epidemiology. *Epidemiology and Infection*, v. 134, n. 3, p. 635–644, jun. 2006.

PARKER, T.A. et al. Ecological and distributional databases. In STOTZ, D. et al. *Neotropical Birds: Ecology and Conservation*. Bibliovault OAI Repository, the University of Chicago Press, v. 78, 1997.

PAYNE, R.; WHITNEY, B. Field guide to the songbirds of South America. The passerines, by Robert S. Ridgely; Guy Tudor. *The Wilson Journal of Ornithology*, v. 122, p. 406–409, 2010.

- PEDERSEN, K. et al. *Pasteurella multocida* from outbreaks of avian cholera in wild and captive birds in Denmark. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 39, n. 4, p. 808–816, 1 out. 2003.
- PENNYCOTT, T.W. et al. Causes of death of wild birds of the family Fringillidae in Britain. *Veterinary Record*, v. 143, p. 155-158, 1998.
- PERLO, B. VAN. *A Field Guide to the Birds of Brazil*. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom and New York, New York, 2009.
- PIMM, S.L.; BROOKS, T.M. The Sixth Extinction: How large, how soon, and where? In: Raven, P. (Ed). *Nature and Human Society: the quest for a sustainable world*. National Academy Press, Washington, DC, 1999. p 46-62.
- PRATT, H.D.; P.L. BRUNER; D.G. BERRETT. *The birds of Hawaii and the Tropical Pacific*. Princeton University Press, Princeton, 1987.
- RAMIRO, M.J.C. Avaliação do comércio do trinca-ferro-verdadeiro (*Saltator similis*, Lafresnaye e D'Orbigny, 1837) (Passeriformes: Cardinalidae) em Minas Gerais, com ênfase na cidade de Belo Horizonte. Monografia. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Brasil, 2008.
- RENTAS. 1º relatório nacional sobre o tráfico de fauna silvestre. Brasília: Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres (RENTAS), 2001.
- RIBEIRO, L. B.; SILVA, M. G. O comércio ilegal põe em risco a diversidade das aves no Brasil. *Ciência e Cultura*, v. 59, p. 4–5, 2007.
- RIDGELY, R. S.; G. TUDOR. *The birds of South America. Volume I*. University of Texas Press, Austin, Texas, 1989.
- ROSEN, G. E.; SMITH, K. F. Summarizing the Evidence on the International Trade in Illegal Wildlife. *EcoHealth*, v. 7, n. 1, p. 24–32, 1 ago. 2010.
- SALMON, D., SMITH, T., The bacterium of swine plague. *American Mon Microbiology Journal*. v. 7, p. 204, 1886.
- SANCHES, T.C. Causas de morte em Passeriformes: comparação entre aves de vida livre residentes na região metropolitana de São Paulo e aves oriundas do tráfico. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2008.
- SCHIRRMACHER, V. Immunobiology of Newcastle Disease Virus and Its Use for Prophylactic Vaccination in Poultry and as Adjuvant for Therapeutic Vaccination in Cancer Patients. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 5, p. 1103, maio 2017.

SEAL, B. S.; KING, D. J.; SELLERS, H. S. The avian response to Newcastle disease virus. *Developmental & Comparative Immunology*, v. 24, n. 2, p. 257–268, 1 mar. 2000.

SEGURA, L. N.; ARTURI, M. Nest site selection by the Red-crested Cardinals (*Paroaria coronata*) in natural forest of Argentina. *Ornithologia Neotropical*, v. 20, p. 203–213, 2009.

SEGURA, L. Botfly Parasitism Effects on Nestling Growth and Mortality of Red-Crested Cardinals. *The Wilson Journal of Ornithology*, v. 123, p. 107–115, 2011.

SEGURA, L. N. et al. Nesting biology of the Red-crested Cardinal (*Paroaria Coronata*) in south temperate forests of central Argentina. *The Wilson Journal of Ornithology*, v. 127, n. 2, p. 249–258, 1 jun. 2015.

SEGURA, L.N.; J.C. REBOREDA. Nest survival rates of Red-crested Cardinals increase with nest age in south-temperate forests of Argentina. *Journal Field of Ornithology*, v. 83, p. 343-350, 2012.

SEGURA, L.N.; M.F. ARTURI. La estructura del habitat influye en la abundancia del cardenal comun (*Paroaria coronata*) en un bosque templado de Argentina. *Ornithologia Neotropical*, v. 23, p. 11-21, 2012.

SHORT, L.L. A zoogeographic analysis of the South American chaco avifauna. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 154, p. 163-352, 1975.

SICK H. *Ornitologia Brasileira: Universidade de Brasília*. v. 3, 1997.

SICK, H. *Birds in Brazil. A natural history*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 1993.

SIGRIST, T. *Guia de Campo Avis Brasilis – Avifauna Brasileira*. Vinhedo: Avisbrasilis, v. 2, 2009.

SILVA, L. H. C. Prevalência de *Salmonella* spp. em bovinos provenientes de sistemas de engorda extensiva e confinamento. 2012. 66 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2012.

SILVA, M. A. et al. A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, p. 573–580, 2010.

SILVEIRA, L. F. Mundo das aves: Os cardeais brasileiros. *Cães & Cia*, v. 399, p. 44-45, 2015. Disponível em <http://www.ib.usp.br/~lfsilveira/pdf/a_2012_ceccardeais.pdf> Acesso em 20 fevereiro 2018.

SMITH, K. F. et al. Reducing the Risks of the Wildlife Trade. *Science*, v. 324, n. 5927, p. 594, 1 maio 2009.

SNOECK, C. J. et al. High Genetic Diversity of Newcastle Disease Virus in Poultry in West and Central Africa: Cocirculation of Genotype XIV and Newly Defined Genotypes XVII and XVIII. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 7, p. 2250–2260, jul. 2013.

SOUSA, E.; WERTHER, K.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Assessment of Newcastle and infectious bronchitis pathogens, and *Salmonella* spp. in wild birds captured near poultry facilities. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 62, p. 219–223, 2010.

TEIXEIRA, V. C. M. et al. Epidemiological situation of avian mycoplasmosis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 37(4):379-385, 2015.

TERZOLO, H.R. Estudio bacteriológico de las salmonelosis de las aves (*S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*) em La América Latina. In: *Simpósio Internacional sobre Salmonelose Aviária*. UBABEF – ALA. Rio de Janeiro. 2011.

TIZARD, I. Salmonellosis in wild birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 13, p. 50–66, 2004.

THOMAS, N.J.; HUNTER, D.B.; ATKINSON, C.T. *Infectious Disease of Wild Birds*. Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom. 2007.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. *Microbiologia*. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

WAN, H. et al. Newcastle disease in geese: natural occurrence and experimental infection. *Avian Pathology*, v. 33, n. 2, p. 216–221, 2004.

WOODFORD, M. H. *Quarantine and Health Screening Protocols for Wildlife Prior to Translocation and Release into the Wild*. 2000.