



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
DIRETORIA DE PESQUISA, AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE AVES SILVESTRES

PROGRAMA DE CATIVEIRO DO CARDEAL-AMARELO
(Gubernatrix cristata)

PROTOCOLO SANITÁRIO

2014

Um conjunto de protocolos básicos foi elaborado no âmbito do Programa de Cativeiro do Cardeal-Amarelo como fruto de ampla discussão conjunta que ocorreu, desde 2011, entre analistas ambientais do ICMBio/CEMAVE (Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade) e membros do Grupo de Trabalho do Programa de Cativeiro do Cardeal-Amarelo, compostos por especialistas e criadores experientes. Os protocolos do programa de cativeiro foram estabelecidos em decorrência da necessidade de estabelecer critérios a fim de orientar o manejo desta espécie criticamente ameaçada no Brasil. Os seguintes protocolos constituem até o momento o programa de cativeiro do cardeal-amarelo: protocolo de reprodução em cativeiro do cardeal-amarelo, protocolo sanitário, protocolo de identificação de áreas de soltura, protocolo de reintrodução e protocolo de monitoramento. Antes tratados como anexos do Programa de Cativeiro, neste presente formato são apresentados de forma individualizada.

PROTOCOLO SANITÁRIO PARA A ESPÉCIE CARDEAL-AMARELO - ***Gubernatrix cristata***

Apesar de a saúde ser aspecto transversal e necessário a todos os processos que envolvam ações de manejo e monitoramento das aves silvestres, este protocolo apresenta principalmente dois momentos em que o aspecto sanitário das aves deve ser considerado de forma padronizada: (1) na manutenção em cativeiro e seleção de matrizes e (2) na seleção das aves para soltura e monitoramento sanitário pré e pós-soltura. A construção deste protocolo foi baseada na norma vigente atualmente no Brasil para a definição de diretrizes e procedimentos para a destinação de animais silvestres no Brasil, a IN IBAMA 179 de 25 de junho de 2008, e nas informações científicas na área médico-veterinária disponíveis para passeriformes atualmente.

1- MANUTENÇÃO EM CATIVEIRO E SELEÇÃO DE MATRIZES

Os cardeais-amarelos recebidos de apreensões, procedentes do tráfico ou recém-selecionados como potenciais matrizes devem ser sempre encaminhados para quarentena antes de serem selecionados para programas de reprodução, sendo alojados conforme o lote de chegada. No momento do recebimento deve ser aberto um prontuário individual, que deve conter a identificação da ave (número da anilha) e um número de cadastro correspondente que acompanha o indivíduo até a destinação. Neste prontuário é feita a sua identificação quanto à idade estimada, procedência e dados relativos à biometria.

Durante o período em que o indivíduo permanece na quarentena (mínimo 30 dias) deverão ser anotadas em seu prontuário as observações diárias, dados relativos ao peso e procedimentos realizados. Além disso, matrizes e reprodutores deverão estar marcados com anilhas, e as outras aves com anilhas temporárias. Assim que se inicia a quarentena, todos os animais devem ser submetidos a exame clínico individual, sendo avaliados:

1. Comportamento, atitude, postura;
2. Condição corporal;
3. Condição de plumagem;
4. Presença de ectoparasitas;
5. Estado de hidratação e coloração de mucosas aparentes;
6. Inspeção da cavidade oral, olhos e outros orifícios naturais;
7. Auscultação;
8. Inspeção da superfície corporal para avaliação da presença de lesões;
9. Palpação de corpo e membros para avaliação de fraturas;
10. Avaliação da capacidade de vôo.

Durante o período de quarentena acima mencionado deverão ser realizados os seguintes exames:

Coproparasitológico. Por se tratar de um exame de baixo custo e de grande importância para a avaliação do estado de saúde da ave, todas as aves recebidas devem ser submetidas a esse exame. Utiliza-se o método de flutuação (Sheather) com no mínimo duas repetições, sendo um na data de entrada na quarentena e outro precedendo a saída para o programa de reprodução. Em caso de resultados positivos, as aves são tratadas com vermífugo apropriado e o exame coproparasitológico repetido. O método de exame direto pode ser realizado, contudo, secundariamente, uma vez que a leitura da lâmina muitas vezes fica prejudicada pelo excesso de sujidades que interferem na visualização de ovos e cistos.

Esfregaço de fezes corado pelo método de Gram. Deve ser realizado em 20% do lote de cardeais-amarelos presentes no recinto em questão. A coloração de Gram é um dos exames mais comumente realizados em aves, devido à sua grande utilidade em ser um indicador fiel da microbiota predominante em uma amostra fecal (HARRIS, 2009).

Colheita de ectoparasitos. Geralmente realizada durante exame físico ou mesmo no exame necroscópico, no caso de óbito de indivíduos durante a quarentena. Os parasitas devem ser colhidos com pinças, cotonetes ou pincéis e conservados em álcool 70% para posterior identificação. Atentar para ácaros de penas nas rêmigas, ácaros de pele ao redor da cloaca, carrapatos e piolhos, estes últimos especialmente visualizados nas regiões aptéricas (ao redor do olho, comissura e ouvido) e nuca.

Esfregaço sanguíneo para pesquisa de hemoparasitos. Realizado em aves com peso inferior a 120g. Em lotes de passeriformes com 21 a 100 espécimes, este exame deve realizado em no mínimo 20% dos indivíduos. Em lotes de passeriformes com mais de 101 animais os exames são realizados em no mínimo 10% dos indivíduos. Os esfregaços sanguíneos são corados pela técnica descrita por ROSENFELD (1947). Se possível, encaminhar amostras para análise por PCR (uma gota de sangue), uma vez que este exame é mais eficaz para detectar infecções latentes.

Isolamento de *Salmonella* sp. Deve ser realizado por meio de swab cloacal posteriormente acondicionado em meio de transporte Stuart e encaminhado para análise laboratorial. Aproveitando a mesma amostra, recomenda-se a investigação de *E. coli*, que é uma enterobactéria, associada a várias doenças em passeriformes, incluindo diarreia, conjuntivite, rinite, onfalite, salpingite, metrite e septicemia, sendo também encontrada em animais sem sintomatologia clínica (MACWHIRTER, 1994; DORRESTEIN, 1997; FUDGE, 2001; JOSEPH, 2003). Ressalta-se que a infecção por *E. coli* possui importância clínica e epidemiológica apenas se detectada patogenicidade na sorotipagem e está relacionada às condições precárias de higiene, dieta desbalanceada, problemas de manejo e imunossupressão da ave (GLUNDER, 1981; DORRESTEIN, 1996; DORRESTEIN, 1997; JOSEPH, 2003).

PCR para *Mycoplasma* sp. A pesquisa de *Mycoplasma* sp. deve ser realizada utilizando-se preferencialmente a técnica de PCR a partir de swab de coana de 20% do lote de cardeais-amarelos presentes no recinto em questão. Lembra-se, contudo, que a técnica não é específica para detecção de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma sinoviae*. Dessa forma, resultados positivos são de difícil interpretação, uma vez que outras espécies de *Mycoplasma* não patogênicas podem ser isoladas de aves silvestres clinicamente sadias (LUTTRELL et al. 2001), o que minimiza muito a importância deste exame.

Pesquisa da Doença de Newcastle. KHO et al. (2000), GOHM et al. (2000) e WISEET et al. (2004) demonstraram que a técnica de RT-PCR foi mais sensível do que os métodos convencionais de isolamento

viral, sendo utilizada para a detecção do genoma viral em vários tecidos. Dessa maneira, a pesquisa do vírus da Doença de Newcastle deve ser realizada através da técnica de RT-PCR (paramyxovírus sorotipo 1) em amostras de swab cloacal e de orofaringe. Este exame poderá ser feito nesta fase de maneira não obrigatória, sendo a investigação dessa virose compulsória apenas nos exames pré-soltura.

Swabs para pesquisa de *Candida sp* (cultura e/ou exame direto corado por Gram) só devem ser realizados em aves que apresentem lesões sugestivas, pois se trata de um agente pertencente à microbiota gastrointestinal das aves (MACWHIRTER, 1994). O isolamento do agente em aves não apresenta significado clínico se não forem observados sinais clínicos de doença.

A infecção por *Aspergillus sp.* será investigada nos cardeais-amarelos no exame *post-mortem*, uma vez que a realização de swabs traqueais em pequenos passeriformes é dificultada pelo pequeno porte dos animais, sendo também necessária a contenção anestésica. Além disso, aspergilose é um achado incomum em passeriformes (DORRESTEIN, 2009). O mesmo é considerado para as infecções por *Cryptococcus neoformans*, que são raramente observadas como um problema em passeriformes (DORRESTEIN, 2009).

A pesquisa de *Trichomonas sp.* por exame direto é recomendada em aves de rapina e columbiformes que apresentem sinais clínicos sugestivos. Por este motivo não é recomendada no presente protocolo.

Quanto à pesquisa de Influenza Aviária, será realizada nas aves na fase pré-soltura apenas, considerando sua ausência ou baixa prevalência na região e que sua ocorrência não foi detectada até o momento na espécie.

O exame sorológico para Doença de Pacheco não fará parte do protocolo adotado, uma vez que testes de PCR são utilizados para detecção do agente em psitacídeos apenas.

A pesquisa de *Chlamydophila psittaci* por PCR (swab cloacal) será realizada para o cardeal-amarelo apenas na fase pré-soltura e não no momento da seleção de matrizes, uma vez que os passeriformes são menos susceptíveis do que os psitacídeos às infecções pelo agente (PAGE, 1976; LOCKE, 1987; MACWHIRTER, 1994).

Durante a quarentena, todos os cardeais-amarelos que vierem a óbito, com diagnóstico inconclusivo ou a esclarecer, serão submetidos a exame necroscópico e diante do não estabelecimento da causa de morte, serão coletados fragmentos de órgãos para posterior realização de exame histopatológico.

2- SELEÇÃO DAS AVES PARA SOLTURA E MONITORAMENTO SANITÁRIO PRÉ E PÓS-SOLTURA

Todos os cardeais-amarelos pré-selecionados para a soltura deverão ser submetidos a um programa de quarentena, ou seja, devem ser mantidos em separado de aves não selecionadas para soltura e sob isolamento sanitário de outras espécies silvestres, bem como sob monitoramento médico veterinário regular. O tempo mínimo de quarentena das aves selecionadas para soltura deverá ser de 30 dias, sendo elevado para 60 dias no caso de áreas de alto risco para a doença de Newcastle. Durante todo o período da quarentena pré-soltura, deverão ser realizados os procedimentos abaixo nos cardeais-amarelos mantidos em recintos coletivos (lotes):

- identificação (atenção à numeração individual);
- anamnese;
- preenchimento de ficha clínica;
- realização de exames clínicos;
- colheita de material biológico;
- realização de exames laboratoriais.

Todas as aves que vierem a óbito no período de quarentena deverão ser necropsiadas e o material biológico devidamente colhido para análise. Os animais que receberem tratamento só poderão ser soltos na ausência de efeitos residuais do fármaco, respeitando-se a sua farmacocinética.

EXAMES CLÍNICOS

Os animais que apresentarem alterações clínicas no decorrer do programa deverão ser submetidos a novos exames com a finalidade de diagnosticar a causa das alterações e tratamentos, quando couber. Conforme a necessidade, as aves poderão ser tratadas nas dependências do próprio quarentenário,

ressaltando-se que animais doentes devem ser mantidos isolados do restante do lote. Os animais com alterações clínicas irreversíveis serão eliminados do programa de soltura.

EXAME LABORATORIAL

Os seguintes exames deverão ser realizados durante a quarentena pré-soltura:

- Coproparasitológico (exame direto, flutuação e sedimentação – pesquisa de Eimeria, Isospora, Cryptosporidium sp., etc...: mínimo de três repetições amostrais com intervalos de 15 dias entre elas

Segundo a IN IBAMA 179/2008, em lotes de passeriformes com 21 a 100 espécimes, os exames coproparasitológicos deverão ser realizados em no mínimo 20% dos indivíduos. Em lotes de passeriformes com mais de 101 animais, os exames deverão ser realizados em no mínimo 10% dos indivíduos.

A pesquisa de coccídeos deve ser realizada pelo método coproparasitológico de flutuação (Sheater). A mesma metodologia permite a triagem para *Cryptosporidium* sp. A confirmação do diagnóstico para *Cryptosporidium* sp. poderá ser feita através dos métodos de coloração pela auramina e de Ziehl-Neelsen modificado. Por se tratar de um exame de baixo custo e de grande importância para a avaliação do estado de saúde da ave, sugere-se neste protocolo que todas as aves selecionadas para soltura sejam submetidas ao exame coproparasitológico. Ressaltamos que este protocolo não considera prioritária a pesquisa de *Histomonas meleagridis* para o cardeal-amarelo, uma vez que esse protozoário acomete quase exclusivamente aves da ordem Galliformes (DAVIDSON, 2007).

- Esmregaço de fezes corado pelo método de Gram

Segundo a IN IBAMA 179/2008, deve ser realizado como rotina em aves com peso inferior a 120g. Em lotes de passeriformes com 21 a 100 espécimes, os esfregaços fecais corados pelo método de Gram deverão ser realizados em no mínimo 20% dos indivíduos. Em lotes de passeriformes com mais de 101 animais, os exames são realizados em no mínimo 10% dos indivíduos.

- Hemograma completo e bioquímica sérica

NÃO OBRIGATÓRIO. Recomenda-se sua realização apenas para aves com peso superior a 120g, o que não é o caso do cardeal-amarelo. Caso seja disponibilizada tecnologia para análise da função hepática e renal dessas aves com o volume de uma gota de sangue, este exame poderá ser realizado através da dosagem de ácido úrico/creatinina, e principalmente da aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH).

- Pesquisa de hemoparasitas

Segundo a IN IBAMA 179/2008, deve ser realizado como rotina em aves com peso inferior a 120g. Em lotes de passeriformes com 21 a 100 espécimes, o esfregaço sanguíneo para pesquisa de hemoparasitos deverá ser realizados em no mínimo 20% dos indivíduos. Em lotes de passeriformes com mais de 101 animais, os exames deverão ser realizados em no mínimo 10% dos indivíduos.

- Colheita de ectoparasitos.

Pode ser realizada no exame físico da ave que é recebida para a quarentena pré-soltura ou no exame necroscópico de aves que porventura venham a óbito durante o período.

- Para a investigação de patógenos, causadores das doenças listadas a seguir, será necessária a realização de exame laboratorial confirmatório. Contudo, a IN 179 de 2008 especifica que poderão ser dispensados da realização de exame confirmatório os casos em que for possível o diagnóstico por meio de exame clínico acompanhado de exame laboratorial de triagem.

- Segundo a IN IBAMA 179/2008, as análises para *Salmonella* sp., *Candida* sp., *Cryptococcus* neoformans, *Aspergillus* sp., *Chlamydomphila* sp., *Mycoplasma* sp., vírus da Doença de Newcastle e vírus da Influenza em lotes de passeriformes com 21 a 100 espécimes deverão ser realizadas em no mínimo 20% dos indivíduos. Em lotes de passeriformes com mais de 101 animais, os exames deverão ser realizados em no mínimo 10% dos indivíduos. Em lotes inferiores a 21 espécimes, o exame deve ser realizado individualmente.

- a) Swab para isolamento de *Salmonella* sp.

A pesquisa de *Salmonella* sp. é realizada por meio de swab cloacal posteriormente acondicionado em meio de transporte Stuart e encaminhado para laboratório particular. Por se tratar de exame de custo relativamente

elevado pode-se optar pelo encaminhamento das amostras para laboratórios de instituições de ensino superior que tenham interesse em desenvolver linha de pesquisa nessa área. Ressalta-se que também é possível a realização de PCR para *Salmonella* sp.

b) Swab para isolamento de *Candida* sp.

Recomenda-se que os swabs para pesquisa de *Candida* sp. (cultura e/ou exame direto corado por Gram) sejam realizados em aves que apresentem lesões sugestivas, pois se trata de um agente pertencente à microbiota gastrointestinal das aves (MACWHIRTER, 1994). O isolamento do agente em aves não apresenta significado clínico se não forem observados sinais clínicos de doença.

c) Pesquisa de *Cryptococcus neoformans*

Ressalta-se que as infecções por *Cryptococcus neoformans* são raramente observadas como um problema para passeriformes (DORRESTEIN, 2009). Dessa forma, a pesquisa deste agente não é prioritária para este protocolo.

d) Pesquisa de *Aspergillus* sp.

Lembra-se que a infecção por *Aspergillus* sp. é um achado incomum em passeriformes (DORRESTEIN, 2009). A maioria dos isolamentos é realizada a partir de lesões observadas durante o exame necroscópico em aves após a morte. A realização de swabs traqueais em pequenos passeriformes é dificultada pelo pequeno porte dos animais, sendo também necessária a contenção anestésica. Por esses motivos, a pesquisa desse agente não faz parte deste protocolo, sendo recomendada somente em aves no exame post-mortem.

e) Pesquisa de *Trichomonas* sp.

Segundo a IN IBAMA 179/2008, este exame deve ser realizado para rapinantes e columbídeos. Dessa forma, a pesquisa desse agente não será recomendada para o cardeal-amarelo.

f) Isolamento de *Chlamydophila* sp.

O isolamento de *Chlamydophila* sp. não faz parte das recomendações principais deste protocolo, uma vez que passeriformes são menos suscetíveis do que os psitacídeos às infecções por *Chlamydophila psittaci* (PAGE, 1976; LOCKE, 1987; MACWHIRTER, 1994) e considerando que os métodos de isolamento são dispendiosos e demorados, sendo aplicados rotineiramente apenas em laboratórios especializados e com biossegurança nível 3, devido à natureza zoonótica do agente (RASO, 2007).

g) Exame sorológico para *Chlamydophila*

O sorodiagnóstico é um procedimento complementar aos testes de detecção do agente. Os resultados sorológicos negativos podem ser observados em infecções iniciais, em aves jovens ou em indivíduos imunossuprimidos, situações nas quais a resposta imune pode não ser detectável (FLAMMER, 1997). Por esse motivo, não é recomendada a realização do exame sorológico para *Chlamydophila* sp. como uma técnica eficiente na detecção de cardeais-amarelos infectados.

h) PCR para *Chlamydophila* sp.

A pesquisa de *Chlamydophila psittaci* pelo PCR (swab cloacal) é realizada majoritariamente para psitacídeos, podendo ser adotada para passeriformes. Ressalta-se mais uma vez que os passeriformes são menos susceptíveis do que os psitacídeos às infecções por *Chlamydophila psittaci* (PAGE, 1976; LOCKE, 1987; MACWHIRTER, 1994). A pesquisa de *Chlamydophila psittaci* pode ser realizada utilizando-se swab cloacal e/ou swab de coana. A IN 179 não especifica o local de colheita.

i) Isolamento de *Mycoplasma*

A cultura de *Mycoplasma* requer meios especiais, não sendo usada rotineiramente na clínica (SPIRA, 1996). Parcerias com universidades para realização deste exame são recomendadas.

j) Exame sorológico para *Mycoplasma* sp.

O diagnóstico de Micoplasmose em aves vivas baseia-se nos sinais clínicos, histórico e detecção do organismo por cultura ou técnicas moleculares. Os testes sorológicos podem servir para dar suporte ao diagnóstico (LUTTRELL; FISCHER, 2007). O teste de soroaglutinação em placa é um teste sensível para

tragem de aves para *Mycoplasma gallisepticum* (KLEVEN, 1998). Entretanto, apresenta pouca especificidade e ocorrência de falsos positivos. Testes sorológicos de maior especificidade, como a inibição da hemaglutinação e ELISA, são recomendados para a confirmação de amostras positivas pelo teste de soroaglutinação em placa. Entretanto, existem problemas na aplicação direta destes testes em aves selvagens, como a dificuldade de interpretação dos resultados e disparidades dos reagentes. Dados sobre limiares positivos e variações nas reações sorológicas para a maioria das espécies selvagens não são disponíveis e a repetição do teste para detecção de aumentos de título geralmente não são possíveis. O teste de inibição de hemaglutinação utiliza eritrócitos de aves como indicador de aglutinação, podendo ocorrer incompatibilidade celular na utilização de uma suspensão de células sanguíneas heterólogas (LUTTRELL et al., 2001). O teste de ELISA foi desenvolvido para utilização em aves domésticas e reagentes como conjugados espécie-específicos poderão ser inadequados para o uso em diferentes espécies. Além disso, a obtenção de volume de soro suficiente para análise para aves com menos de 120g, como é o caso do cardeal-amarelo, é um fator limitante para a realização deste teste.

k) PCR para *Mycoplasma sp.*

A pesquisa de *Mycoplasma sp.* deve ser realizada utilizando-se a técnica de PCR a partir de swab de coana. Ressalta-se, contudo, que a técnica não é específica para detecção de *Mycoplasma gallisepticum*. Dessa forma, resultados positivos são de difícil interpretação, uma vez que outras espécies de *Mycoplasma* não patogênicas podem ser isoladas de aves silvestres clinicamente sadias (LUTTRELL et al. 2001).

l) Isolamento do vírus da Doença de Newcastle

O isolamento pode ser realizado a partir de swab de orofaringe e de cloaca. Kho et al. (2000), Gohm et al. (2000) e Wise et al. (2004) demonstraram que a técnica de RT-PCR foi mais sensível do que os métodos convencionais de isolamento viral, sendo utilizada para a detecção do genoma viral em vários tecidos. Recomenda-se a pesquisa do vírus da Doença de Newcastle através da técnica de RT-PCR (paramyxovírus sorotipo 1) em laboratório particular ou de instituição de ensino e pesquisa parceira. Com a finalidade de aprimorar e padronizar o diagnóstico, ressalta-se a possibilidade de encaminhar o material obtido por swab cloacal para isolamento e/ou RT-PCR para o vírus da Doença de Newcastle para o laboratório de referência do MAPA (LANAGRO Campinas).

m) Exame sorológico para Doença de Newcastle

Este não é o exame de eleição para a detecção desta doença no presente protocolo. A presença de anticorpos no soro não fornece informações quanto à estirpe do vírus da Doença de Newcastle à qual a ave foi exposta (LEIGHTON; HECKERT, 2007). Além disso, o pequeno tamanho corporal do cardeal-amarelo, como da maioria das espécies de passeriformes, limita o volume de sangue a ser colhido para a realização da sorologia.

n) Isolamento e PCR para o vírus da Influenza

Segundo o Plano de Contingência para Influenza Aviária e Doença de Newcastle, em caso de aves vivas deve-se colher sangue para obtenção de soro, swab de traquéia e de cloaca, como também fezes frescas (BRASIL, 2007). O material para sorologia deverá ser congelado para envio ao laboratório de referência (Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO, Campinas), enquanto o material destinado ao isolamento viral ou RT-PCR deverá ser transportado sob refrigeração ou congelamento em nitrogênio líquido ou gelo seco, uma vez que o congelamento comum diminui a eficácia da técnica. O swab e as fezes frescas deverão ser colocados em solução de transporte a ser preparada pelo laboratório e repassadas para as superintendências federais de agricultura. Recomenda-se a possibilidade de encaminhar o material obtido por swab cloacal (e de orofaringe) para isolamento e/ou RT-PCR para o vírus da influenza aviária para o laboratório de referência do MAPA (LANAGRO Campinas). Também estão disponíveis diagnósticos em instituições de pesquisa (Departamento de Virologia – IB USP) ou mesmo laboratórios particulares (e.g. UNIGEN). Ressaltamos que, devido ao tamanho corporal do cardeal-amarelo, não será possível a colheita de swab traqueal.

o) Exame sorológico para Doença de Pacheco

Segundo a IN IBAMA 179/2008, este exame deve ser realizado para psitacídeos, sendo, portanto, descartado no presente protocolo.

p) PCR para Vírus da Poxvirose Aviária (Poxviridae)

Sugerida sua realização, através do estabelecimento de parcerias com laboratórios e instituições de pesquisa. OPCIONAL e de baixa prioridade, pois não está na IN 179 e não existem registros dessa virose em cardeais- amarelos.

CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA ÁREA DE SOLTURA

Para soltura, recomenda-se uma análise epidemiológica da região pré-selecionada, por meio de levantamentos de dados de campo locais ou referências (Fundação Nacional de saúde – FUNASA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, IBAMA, Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias – EMBRAPA, Centros de Controle de Zoonoses – CCZ), como parte do diagnóstico ambiental. Essa análise compreenderá o levantamento da ocorrência das doenças transmissíveis que acometem animais silvestres e domésticos relacionadas à espécie que será solta.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quanto ao aspecto saúde animal e dos ecossistemas, a liberação dos cardeais-amarelos na natureza deverá observar principalmente os seguintes critérios:

Só deverão ser soltos nas áreas naturais os grupos em que cada indivíduo a ser liberado tenha sido individualmente avaliado e considerado apto segundo os critérios de condição corporal, exame físico, exames hematológicos, coproparasitológicos e na pesquisa de hemoparasitas. A individualidade do histórico clínico de cada ave será mantida, uma vez que todas as aves serão soltas com marcação permanente (anilhas CEMAVE). Nos grupos em que houve mortalidade com suspeita de envolvimento infeccioso por patógenos não reconhecidos como oportunistas, só deverão ser liberados os grupos de indivíduos em que a amostra tenha sido negativa para as provas diagnósticas especiais acima descritas.

Em caso de resultados positivos para um dos agentes etiológicos acima pesquisados, as aves permanecerão em cativeiro até que seja comprovada a presença natural do agente na população em vida

livre. Ressalta-se, contudo, que a prevalência de grande variedade de patógenos em animais silvestres de vida livre é bem descrita na literatura e até mesmo esperada (Patton et al, 1986; Lisboa et al, 2006; Curi et al, 2006; Reed et al, 2003). Além disso, considera-se que a positividade a uma prova sorodiagnostics indica a exposição prévia do animal a um patógeno, porém não é evidência de infecção corrente ou de que esse animal represente potencial real de transmissão do patógeno. Um próximo passo a partir da implementação deste protocolo será a definição de quais resultados positivos inviabilizariam totalmente a realização de solturas; a possibilidade de animais testados positivos retornarem à natureza mediante algum tipo de tratamento/reabilitação e a definição das enfermidades em que seria recomendável a eutanásia da ave. Esta definição será possível após a análise epidemiológica nas áreas de soltura e da investigação de parâmetros sanitários de aves na natureza.

Por fim, recomenda-se a padronização em relação ao envio para análise e investigação dos agentes sempre aos mesmos laboratórios para a espécie em questão, uma vez que o encaminhamento de amostras a diversos laboratórios torna a comparação de resultados problemática.

Abaixo apresenta-se um resumo dos exames laboratoriais a serem realizados segundo as recomendações constantes deste protocolo:

1. Exames a serem realizados durante a quarentena para manutenção em cativeiro e seleção de reprodutores:

Doença Investigada	Tipo de Exame	Frequencia
Endoparasitose	coproparasitológico	Duas repetições, entrada na quarentena e saída para programa de reprodução. 100%
Microbiota predominante TGI	Esfregaço de fezes corado por Gram	100% dos cardeais
Salmonelose, Colibacilose, Candidíase, Criptocose, Aspergilose, entre outras bacterioses e doenças fúngicas	Cultura e isolamento bacteriano (ágar sangue, SS, Sabouraud, etc...)	Swabs cloacais e de orofaringe (microbiota TGI), 100% dos cardeais
Ectoparasitose	Colheita de ectoparasitos	Durante exame físico, manter em álcool 70%. Examinar 100%
Hemoparasitose	Esfregaço sanguíneo e PCR (este último opcional - custo)	Em lotes de 21 a 100 cardeais, realizar exame em 20%.
Mycoplasma sp. e Doença de NewCastle	PCR	Opcionais nesta fase

2. Exames a serem realizados durante a quarentena e monitoramento pré-soltura:

Doença Investigada	Tipo de Exame	Frequencia
Endoparasitose (Eimeria, Isospora, Cryptosporidium sp., etc...)	Coproparasitológico (exame direto, flutuação e sedimentação)	3 repetições, intervalos de 15 dias entre elas. Em lotes de 21 a 100 cardeais, realizar exame em 20%
Microbiota predominante TGI	Esfregaço de fezes corado por Gram	Em lotes de 21 a 100 cardeais, realizar exame em 20%
Salmonelose, Colibacilose, Candidíase, Criptocose, Aspergilose, entre outras bacterioses e doenças fúngicas	Cultura e isolamento bacteriano (ágar sangue, SS, Sabouraud, etc...)	Swabs cloacais e de orofaringe (microbiota TGI). Em lotes de 21 a 100 cardeais, realizar exame em 20%
Ectoparasitose	Colheita de ectoparasitos	Durante exame físico, manter em álcool 70%. Examinar 100%
Hemoparasitose	Esfregaço sanguíneo e PCR (este último opcional - custo)	Em lotes de 21 a 100 cardeais, realizar exame em 20%.
Salmonella sp., Chlamydophila sp., Mycoplasma sp., Doença de Newcastle e Influenza Aviária	RT-PCR	Obrigatórios nesta fase. Em lotes de 21 a 100 cardeais, realizar exame em 20%

LITERATURA CONSULTADA:

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. Coordenação Geral de Combate às Doenças. Coordenação de Sanidade Avícola. **Plano de Contingência para Influenza Aviária e Doença de Newcastle**. Brasília: MAPA, 2007. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>.

DAVIDSON, W. R. Histomonas. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Parasitic diseases of wild birds**. 1 ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008, cap. 7, p. 154-161.

DORRESTEIN, G. M. Diagnostic approaches and management of diseases in captive passerines. . **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 12, n.1, p11-20, 2003.

DORRESTEIN, G. M. Medicine and surgery of canaries and finches. In: ROSSKOPF, W. J.; WOERPEL, R. W. **Diseases of cage and aviary birds**. 3 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996, cap. 68, p. 915-927.

DORRESTEIN, G. M. Passerines. In: ALTMAN, R. B.; CLUBB, S. L.; DORRESTEIN, G. M.; QUESENBERRY, K. **Avian medicine and surgery**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. cap. 49, p. 867-885.

DORRESTEIN, G. M. Passerines. In: TULLY, T. N.; DORRESTEIN, G. M.; JONES, A.K. **Avian medicine**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009. cap. 8, p. 169-208.

FLAMMER, K. Chlamydia. In: ALTMAN, R. B. et al. **Avian medicine and surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. cap. 23, p. 364-379.

FUDGE, A. M. Diagnosis and treatment of avian bacterial diseases. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 10, n.1, p.3-11, 2001.

GLUNDER, G. Occurrence of Enterobacteriaceae in feces of granivorous passeriform birds. **Avian Diseases**, v. 25, n. 1, p. 195-198, 1981.

HARRIS, D. J. Clinical Tests. In: TULLY, T. N.; DORRESTEIN, G. M.; JONES, A.K. **Avian medicine**. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009. cap. 4, p. 77-84.

INSTRUÇÃO NORMATIVA IBAMA No- 179, DE 25 DE JUNHO 2008.

JOSEPH, V. Infectious and parasitic diseases of captive passerines. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 12, n.1, p.21-28, 2003.

KLEVEN, S. H. Mycoplasmosis. In: SWAYNE, D. E. et al. **A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens**. 4 ed. Pennsylvania: American Association of Avian Pathologists, 1998, p. 74-80.

LEIGHTON, F. A.; HECKERT, R. A. Newcastle disease and related avian paramyxoviruses. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Infectious diseases of wild birds**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. cap. 1, p. 3-16.

LOCKE, L. N. Chlamydiosis. In: FRIEND, M.; LAITMAN, C. J.; KAMPEN, R. S. (Ed.). **Field guide to wildlife diseases**. Washington, D.C.: US. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, National Wildlife Health Center, 1987, v.1. p. 107-113.

LUTTRELL, M. P.; STALLKECHT, D. H.; KLEVEN, S. H.; KAVANAUGH, D. M.; CORN, J. L.; FISCHER, J. R. 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.; FISHER, J. R. Mycoplasmosis. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Infectious diseases of wild birds**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. cap. 16, p. 317-331.

MACWHIRTER, P. Passerines. In: RITCHIE, W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers, 1994. cap. 43, p. 1173-1198.

MORISHITA, T. Y.; AYE, P.P.; LEY, E. C.; HARR, B. S. Survey of pathogens and blood parasites in free-living passerines. **Avian Diseases**, v. 43, n. 3, p.549-552, 1999.

PAGE, L.A. Observations on the involvement of wildlife in an epornitic of chlamydiosis in domestic turkeys. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 169, n.9, p. 932-935, 1976.

RASO, T. F. Clamidiose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2007. cap.47, p. 760-767.

REFSUM, T.; HANDELAND, K.; BAGGESEN, D. L.; HOLSTAD, G.; KAPPERUD, G. Salmonellae in avian wildlife in Norway from 1969 to 2000. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n.11, p. 5595-5599, 2002.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica: nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 20, p. 329-334, 1947.

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. 2008. 185 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SPIRA, A. Disorders of the respiratory system. In: ROSSKOPF, W.; WOERPEL, R. **Diseases of cage and aviary birds**. 3 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. cap. 28, p. 415-428.

THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Infectious diseases of wild birds**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. cap. 16, p.

TOMASZEWSKI, E.; WILSON, V. G.; WIGLE, W. L.; PHALEN, D. N. Detection and heterogeneity of herpesvirus causing Pacheco's disease in parrots. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, p. 533-538, 2001.



Contato laboratório de referência do MAPA:

Influenza Aviária e Newcastle

Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) de Campinas

Rua Raul Ferrari s/n – Jardim Santa Marcelina

Caixa Postal 5538

Cep 13100-105

Tel (19) 3252-0155

Coordenador Vanderlei Antunes

e-mail lanagro-gabi-sp@agricultura.gov.br