

Marcus Vinícius Romero Marques

AVALIAÇÃO SANITÁRIA DO MUTUM-DE-BICO-VERMELHO (*Crax blumenbachii*) E DO MUTUM-DO-NORDESTE (*Pauxi mitu*) MANTIDOS EM CATIVEIRO NO ESTADO DE MINAS GERAIS, NO PERÍODO DE 2011 A 2014

Tese apresentada à UFMG, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Nelson Rodrigo da Silva Martins

Coorientadores: Prof. Maurício Resende e

Profa. Danielle Ferreira de Magalhães Soares

Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2014

M331a Marques, Marcus Vinícius Romero, 1984-
Avaliação sanitária do mutum-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e do mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*) mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, no período de 2011 a 2014 / Marcus Vinícius Romero Marques. – 2014.

100 p. : il.

Orientador: Nelson Rodrigo da Silva Martins

Coorientadores: Maurício Resende, Danielle Ferreira de Magalhães Soares

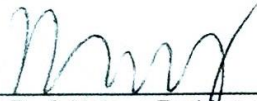
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

Inclui bibliografia

1. Ave – Doenças – Teses. 2. Ave em cativeiro – Teses. 3. Ave – Proteção – Minas Gerais – Teses. 4. Ave – Parasito – Teses. I. Martins, Nelson Rodrigo da Silva. II. Resende, Maurício. III. Soares, Danielle Ferreira de Magalhães. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.508 96

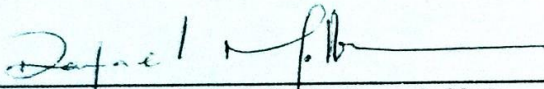
Tese defendida e aprovada em 11 de abril de 2014, pela Comissão Examinadora constituída por:



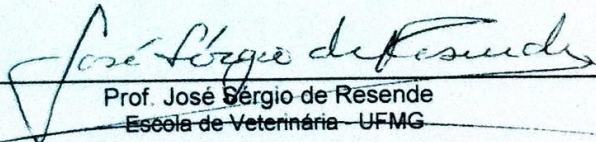
Prof. Nelson Rodrigo da Silva Martins
Presidente - Orientador



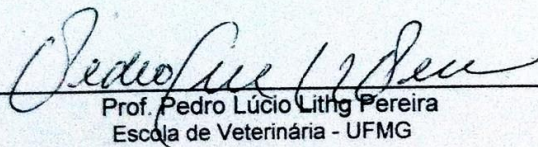
Prof.ª Tânia de Freitas Raso
Universidade de São Paulo



Prof. Rafael Otávio Cançado Motta
Universidade Presidente Antônio Carlos



Prof. José Sérgio de Resende
Escola de Veterinária - UFMG



Prof. Pedro Lúcio Lithg Pereira
Escola de Veterinária - UFMG

Aos cracídeos e a todos que atuam na conservação da avifauna.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus Santos protetores por iluminarem e protegerem minha vida, e permitirem meu trabalho.

A minha mãe Cristina, muito obrigado pelo companheirismo, preocupação e amor incondicional em todos os momentos da minha vida. Você sempre está ao meu lado.

A minha irmã Ingrid, futura médica veterinária, por cuidar dos meus bichos de estimação e da minha casa, enquanto eu viajo em busca dos meus sonhos e da realização dos meus trabalhos. Você será uma grande médica veterinária.

A minha namorada Juliana, muito obrigado pelo amor, incentivos, pelos encantos da vida, e estar ao meu lado sempre, para sempre. Juntos, vamos salvar os animais e darmos uma condição melhor a todos. Seu amor e dedicação aos mutuns são únicos e exemplares, obrigado por me ajudar a cuidar deles também.

Aos meus familiares, agradeço a compreensão dos meus longos períodos de ausência, em função das pesquisas e viagens a trabalho.

Aos meus orientadores Nelson Rodrigo da Silva Martins e José Sérgio de Resende, muito obrigado por acreditarem nos meus sonhos, e transformarem em pesquisas e realidade na melhoria da conservação da avifauna.

Aos cracídeos por tudo, principalmente, por me tornarem um profissional melhor e mais envolvido na conservação de espécies ameaçadas. Desculpem as contenções, o escuro de dentro do puçá, as agulhadas, os *swabs*, e o gosto ruim dos remédios, tenham certeza que tudo isso foi necessário para melhoramos o conhecimento e qualidade de suas vidas.

A CRAX-Brasil e ao amigo Roberto Azeredo, exemplo na conservação dos cracídeos, sua dedicação pessoal e financeira permitem a sobrevivência de muitas espécies ameaçadas de extinção. Muito obrigado por permitir que eu contribua com seu trabalho e por cuidar também das aves do criadouro.

Ao Criadouro de Aves Poços de Caldas, em especial ao Senhor Moacyr de Carvalho Dias, obrigado por cuidar também da nossa avifauna e permitir as coletas no criadouro.

Ao amigo e irmão Francisco Ferreira (Chiquinho), obrigado pela amizade verdadeira e por ser meu grande companheiro de pesquisas.

A amiga Sandra Yuliet, por ajudar na realização das PCRs e sequenciamentos, pela companhia e dedicação ao nosso Setor de Doenças das Aves.

Ao Professor Maurício Resende e a Professora Danielle Ferreira, agradeço os conselhos, melhorias no trabalho e orientações.

Ao Professor Pedro Lithg, obrigado pela amizade, conversas e ajuda nas pesquisas.

A Professora Tânia de Freitas Raso e ao Professor Rafael Motta, agradeço as contribuições com o trabalho, incentivos profissionais e na pesquisa.

A Professora Rosele Ecco, por ajudar na realização da histopatologia.

Ao amigo Rodrigo Otávio e ao Professor Francisco Lobato, do Laboratório de Anaeróbios, por permitirem a realização da pesquisa de *Clostridium perfringens*.

A Professora Érika Braga, por permitir a realização da pesquisa de malária aviária no Laboratório de Malária do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

A Dra. Liliane Menezes do Laboratório de Segurança Microbiológica em Alimentos, IMA, a Dra. Dália Rodrigues do Laboratório de Enterobactérias – FIOCRUZ, e ao Mestre André Fernandes, por ajudar na pesquisa de *Salmonella*.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE), em especial ao analista ambiental Antônio Eduardo Araújo Barbosa e Fabiane Fileto Dias, agradeço a oportunidade de participar e contribuir nos Planos de Ação para a Conservação do *Crax blumenbachii* e do *Pauxi mitu*. A todos os integrantes dos referidos Planos, agradeço o empenho na conservação destas espécies.

Aos meus amigos Plínio e Rogerio, muito obrigado pela compreensão e paciência comigo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro ao projeto, no edital de Demanda Universal–2010, número do processo: APQ-00075-10 – Avaliação sanitária de cracídeos mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais.

O MUTUM-DE-ALAGOAS NÃO DESAPARECERÁ!

(Pedro Mário Nardelli, A Preservação do Mutum-de-Alagoas, 1993).

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ANEXOS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1.	INTRODUÇÃO.....	22
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1.	Cracídeos.....	23
2.2.	Mutum-de-bico-vermelho (<i>Crax blumenbachii</i>)	24
2.3.	Mutum-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>).....	27
2.4.	Plano de Ação para a Conservação do <i>Crax blumenbachii</i>	28
2.5.	Plano de Ação para a Conservação <i>Pauxi mitu</i>	29
2.6.	Criação de aves selvagens em cativeiro.....	29
2.7.	Malária aviária.....	30
2.8.	Clostridiose (<i>Clostridium perfringens</i>).....	31
2.9.	Clamidofilose aviária (<i>Chlamydophila psittaci</i>).....	33
2.10.	Micoplasmose Aviária (<i>Mycoplasma gallisepticum</i> e <i>Mycoplasma synoviae</i>).	34
2.11.	Salmoneloses Aviárias.....	35

2.12.	Adenovírus Aviário (<i>Adenoviridae</i> – <i>Aviadenovirus</i>).....	36
2.13.	Doença de Newcastle (<i>Paramyxovirus</i> Aviário sorotipo 1 – APMV-1).....	37
3.	OBJETIVOS.....	38
3.1.	Objetivo geral.....	38
3.2.	Objetivos específicos.....	38
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1.	Delineamento do estudo.....	38
4.2.	Locais e período de execução do projeto.....	38
4.3.	Financiamento do projeto.....	39
4.4.	Aspectos éticos.....	39
4.5.	Aves avaliadas e obtenção das amostras.....	40
4.6.	Formulário e identificação das amostras.....	41
4.7.	Contenção das aves.....	41
4.8.	Coletas de sangue e <i>swabs</i> cloacais.....	41
4.9.	Necropsia e histopatologia.....	42
4.10.	Metodologias de diagnóstico utilizadas neste estudo para avaliação dos mutuns-de-bico-vermelho (<i>Crax blumenbachii</i>) e dos mutuns-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>).....	42
4.11.	Pesquisa de hemoparasitos.....	45
4.11.1.	Extração e quantificação de DNA de amostras de sangue.....	45
4.11.2.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) de diagnóstico e confirmação em esfregaço sanguíneo para pesquisa de hemoparasitos.....	45

4.11.3.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para sequenciamento.....	46
4.11.4.	Purificação dos produtos da PCR com polietileno glicol (PEG).....	47
4.11.5.	Reação de sequenciamento e análise filogenética.....	47
4.12.	Extração e quantificação do DNA de swabs cloacais e tecidos.....	47
4.13.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Adenovírus Aviário (<i>Adenoviridae – Aviadenovirus</i>).....	48
4.13.1.	Diagnóstico diferencial entre Adenovírus Aviário (<i>Adenoviridae – Aviadenovirus</i>) e Laringotraqueíte Infecciosa GaHV1 (<i>Herpesviridae – Iltovirus</i>).....	49
4.13.2.	Reação de sequenciamento e análise filogenética.....	49
4.14.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Clamidofilose (<i>Chlamydomphila psittaci</i>).....	50
4.15.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Micoplasmose (<i>Mycoplasma gallisepticum</i>).....	51
4.16.	Isolamento e genotipagem de <i>Clostridium perfringens</i>	51
4.17.	Isolamento e classificação de <i>Salmonella</i>	53
4.17.1.	Isolamento bacteriano de <i>Salmonella</i>	53
4.17.2.	Identificação bioquímica de <i>Salmonella</i> em sistema automatizado.....	53
4.17.3.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para <i>Salmonella</i>	53
4.17.4.	Diagnóstico antigênico conclusivo de <i>Salmonella</i>	54
4.18.	Avaliações sorológicas por ELISA (<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>)..	54
4.19.	Teste de inibição da hemaglutinação para doença de Newcastle – <i>Paramyxovirus</i> Aviário sorotipo 1 (APMV-1).....	55

4.20.	Testes de inibição da hemaglutinação para <i>Mycoplasma gallisepticum</i> e <i>Mycoplasma synoviae</i>	55
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1	Número de aves avaliadas.....	56
5.2.	Malária aviária.....	56
5.3.	Adenovírus Aviário (<i>Adenoviridae – Aviadenovirus</i>).....	59
5.3.1	Resultados de necropsia e histopatologia.....	59
5.3.2.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Adenovírus Aviário (<i>Adenoviridae – Aviadenovirus</i>) e diagnóstico diferencial.....	64
5.3.3	Sequenciamento e análise filogenética das amostras obtidas na necropsia.....	64
5.3.4.	Diagnóstico final de <i>Aviadenovirus</i> tipo A.....	64
5.4.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Clamidiofilose (<i>Chlamydophila psittaci</i>).....	66
5.5.	Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Micoplasmose (<i>Mycoplasma gallisepticum</i>).....	66
5.6.	Isolamento e genotipagem de <i>Clostridium perfringens</i> tipo A.....	67
5.7.	Isolamento, diagnóstico antigênico conclusivo e classificação de <i>Salmonella</i> .	68
5.8.	Resultados de ELISA e IH na avaliação sorológica de mutuns-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>).....	69
6.	CONCLUSÕES.....	71
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
8.	ANEXOS.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número de indivíduos das espécies <i>Crax blumenbachii</i> e <i>Pauxi mitu</i> mantidos na CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre, Contagem, Minas Gerais, Brasil.....	40
Tabela 2	Número de indivíduos da espécie <i>Pauxi mitu</i> mantidos no Criadouro de Aves Poços de Caldas, Minas Gerais, Brasil.....	40
Tabela 3	Metodologias de diagnóstico utilizadas neste estudo para avaliação dos mutuns-de-bico-vermelho (<i>Crax blumenbachii</i>) e dos mutuns-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>)....	43
Tabela 4	Iniciadores utilizados na PCR Multiplex para tipificação de <i>Clostridium perfringens</i>	52
Tabela 5	Testes utilizados para avaliações sorológicas dos mutuns-de-bico-vermelho (<i>C. blumenbachii</i>) e mutuns-do-nordeste (<i>P. mitu</i>), mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, no período de 2011 a 2014.....	55
Tabela 6	Aves avaliadas na CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre, Contagem, Minas Gerais, Brasil.....	56
Tabela 7	Aves avaliadas no Criadouro de Aves Poços de Caldas, Minas Gerais, Brasil.....	56
Tabela 8	Resultados de reação em cadeia pela polimerase (PCR) para diagnóstico diferencial de agentes respiratórios em amostras de fígado e traqueia de mutuns-do-nordeste.....	63
Tabela 9	Similaridade em percentagem (%) do gene Hexon (724 pb) entre as sequências obtidas no presente estudo e obtidas no GenBank.....	65
Tabela 10	Características de <i>Salmonella</i> em meio Rugai modificado por Pessôa e Silva (1972).....	68
Tabela 11	Detecção de anticorpos em mutuns-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>) contra diferentes viroses pelo teste de ELISA.....	70
Tabela 12	Detecção de anticorpos em mutuns-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>) contra <i>Mycoplasma gallisepticum</i> , <i>Mycoplasma synoviae</i> e <i>Paramyxovirus</i> Aviário sorotipo 1 – APMV-1 (Doença de Newcastle) pelo teste de inibição da hemaglutinação.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Macho de mutum-de-bico-vermelho (<i>Crax blumenbachii</i>).....	26
Figura 2	Fêmea de mutum-de-bico-vermelho (<i>Crax blumenbachii</i>).....	26
Figura 3	Exemplares de mutum-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>) mantidos em cativeiro.....	28
Figura 4	Trofozoíto jovem (seta) visualizado no interior de uma hemácia no esfregaço sanguíneo de um mutum-do-nordeste (<i>P. mitu</i>) em microscopia óptica em 1000X.).....	57
Figura 5	Árvore filogenética (máxima verossimilhança) utilizando morfoespécies de <i>Plasmodium</i> com sequências genéticas do <i>cyt-b</i> conhecidas, assim como linhagens de parasitos encontradas em cracídeos, incluindo a do presente estudo (sublinhada). O grupo externo utilizado foi o <i>Leucocytozoon schoutedeni</i> . A inferência filogenética foi realizada pelo método de máxima verossimilhança utilizando o modelo GTR-gama com 1000 replicações de bootstrap no software MEGA5 (Tamura <i>et al.</i> , 2012). Foram comparadas as morfoespécies de <i>Plasmodium</i> cujas sequências do gene mitocondrial <i>cyt-b</i> são conhecidas e depositadas no GenBank. Foi incluída a sequência de <i>Plasmodium</i> descrita em cracídeo no Brasil (ABJAC02; Motta <i>et al.</i> , 2013), incluindo a do presente estudo (sublinhada).....	58
Figura 6	Mucosa da traqueia da ave 352/24 (<i>Pauxi mitu</i>) difusamente espessada e coberta por uma membrana esbranquiçada, friável e frouxamente aderida. No lúmen havia filamentos e flocos de material fibrino-necrótico.....	60
Figura 7	Mucosa da traqueia da ave 362/16 (<i>Pauxi mitu</i>) espessada, intensamente hiperêmica e no lúmen havia um extenso coágulo em toda a sua extensão obstruindo o lúmen traqueal. Sob o coágulo havia uma pseudo-membrana amarelada delgada e friável de fibrina.....	60
Figura 8	Traqueia (100X) da ave 362/16 (<i>Pauxi mitu</i>) com espessamento difuso por infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, macrófagos e fibrina na lâmina própria. Poucas glândulas remanescentes são vistas, sendo substituídas por células necróticas e infiltrado inflamatório. Na maior parte do epitélio há	

	achatamento das células com a perda parcial dos cílios e por vezes, perda do epitélio. No lúmen há extensa formação de membrana de fibrina associada a restos necróticos e heterófilos.....	61
Figura 9	Traqueia (400X) da ave 362/16 (<i>Pauxi mitu</i>) com vários corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares observados nas células epiteliais da mucosa (setas).....	62
Figura 10	Árvore filogenética reconstruída no programa MEGA5 pelo método neighbor-joining, usando o modelo de substituição de nucleotídeos Tamura-Nei (Tamura <i>et al.</i> , 2012) com as sequências deste estudo (<i>Pauxi mitu</i> *) e as sequências disponíveis no GenBank de parte do gene da proteína Hexon. Dados submetidos ao teste de confiança em topologia (Bootstrap) com 1000 reamostragens. Método. Legenda: Sequências deste estudo marcadas com asterisco e amostras do GenBank (Tipo ou sorotipo vírus, nome estirpe ou isolado e número de acesso no GenBank, país).....	64

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Certificado de aprovação do protocolo 20/2009 pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG).....	84
Anexo 2	Autorização para atividades com finalidade científica pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), protocolo 31108-1.....	85
Anexo 3	Formulário contendo informações dos mutuns-de-bico-vermelho (<i>Crax blumenbachii</i>) avaliados.....	86
Anexo 4	Formulário contendo informações dos mutuns-do-nordeste (<i>Pauxi mitu</i>) avaliados.....	91
Anexo 5	Identificação bioquímica da amostra de <i>Salmonella</i> número 217 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).....	96
Anexo 6	Identificação bioquímica da amostra de <i>Salmonella</i> número 392 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).....	97
Anexo 7	Identificação bioquímica da amostra de <i>Salmonella</i> número 415 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).....	98
Anexo 8	Identificação bioquímica da amostra de <i>Salmonella</i> número 476 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).....	99
Anexo 9	Laudo de identificação das estirpes de <i>Salmonella</i> isoladas submetidas ao diagnóstico antigênico conclusivo, somático (O), flagelar (H) e (Vi) por detecção dos antígenos somáticos e flagelares.....	100

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ALT	Aglutinação lenta em tubos
APMV-1	<i>Paramyxovirus</i> Aviário sorotipo 1
CE	Corpúsculo elementar
CETEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
<i>cpa</i>	Gene codificante da toxina alfa
<i>cpb</i>	Gene codificante da toxina beta
<i>cpb-2</i>	Gene codificante da toxina beta-2
<i>cpe</i>	Gene codificante da toxina da enterotoxina
CR	Corpúsculo reticulado
CPqRR	Centro de Pesquisa René Rachou
<i>cyt-b</i>	Citocromo oxidase subunidade c
DMVP	Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
DCCV	Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos fosfatados
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
EN	Enterite necrótica
<i>etx</i>	Gene codificante da toxina épsilon
EUA	Estados Unidos da América
EV – UFMG	Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
<i>ia</i>	Gene codificante da toxina iota

ICB	Instituto de Ciências Biológicas
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IH	Inibição da Hemaglutinação
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
LABENT	Laboratório de Enterobactérias
LMSA	Laboratório de Segurança Microbiológica em Alimentos
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NetB	<i>Necrotic enteritis toxin B-like</i>
OIE	Organização Internacional de Epizootias
P.A.	Puro para análise
PAN	Plano de Ação Nacional
pb	Pares de base
PBS	Tampão fosfato-salina
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PEG	Polietileno glicol
pmol	Picomol
PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
q.s.p	Quantidade suficiente para
RNA	Ácido ribonucleico
RNase	Ribonuclease
rpm	Rotações por minuto
RPPN	Reserva Particular do Patrimônio Natural
RT-PCR	Reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase
SAR	Soroaglutinação Rápida em Placa
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SPF	<i>Specific Pathogen Free</i> (Livre de patógenos específicos)

SPS	Sulfito Polimixina Sulfadiazina
SS	<i>Salmonella-Shigella</i>
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris/Borato/EDTA
TE	Tris-EDTA
TEN	Tris-EDTA-NaCl
Tris-HCl	Tris hidrocloreto
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UHA	Unidades hemaglutinantes

RESUMO

Foram avaliados aspectos da sanidade de mutuns-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*), de cativeiro no estado de Minas Gerais, para etiologias selecionadas. Do total de 305 aves avaliadas para *Plasmodium*, vinte (6,55% - 20/305) foram positivas na PCR e na leitura da lâmina em microscopia óptica. Todos os indivíduos das espécies *C. blumenbachii* e *P. mitu* avaliados neste estudo foram negativos para *Aviadenovirus* por PCR de *swabs* cloacais. Entretanto, em mutuns-do-nordeste acometidos por traqueíte fibrino-hemorrágica fatal, foi obtida a amplificação (PCR) e sequenciamento da parte do gene que codifica a proteína hexon do *Aviadenovirus* tipo A. Nas PCRs para a detecção de *Chlamydomphila psittaci* e *Mycoplasma gallisepticum*, todas as aves avaliadas foram negativas. Todos os isolados de *Clostridium perfringens* dos mutuns-de-bico-vermelho e mutuns-do-nordeste avaliados foram classificados como *C. perfringens* tipo A (20,98% - 64/305), e seis amostras (1,96% - 6/305) também foram positivas para o gene *cpb2*, responsável pela produção da toxina beta-2. *Salmonella* Saintpaul foi isolada de mutuns-de-bico-vermelho (2,17% - 3/138) e *Salmonella* Anatum foi isolada de mutun-do-nordeste (0,59% - 1/167). A avaliação sorológica por ELISA dos soros dos mutuns-do-nordeste revelou anticorpos para o vírus da doença de Gumboro em 4,79% das aves (8/167), para o vírus leucose mielóide aviária (subgrupo J) em 3,59% (6/167), para o vírus da reticuloendoteliase aviária em 4,79% (8/167), para *Metapneumovirus* aviário em 1,79% (3/167), para *Orthoreovirus* aviário em 10,17% (17/167), e não foram detectados anticorpos para o vírus da leucose linfóide (ALV). Em mutuns-do-nordeste, a sorologia para *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* pela inibição da hemaglutinação (IH) não demonstrou anticorpos, enquanto anticorpos para *Paramyxovirus* aviário sorotipo 1 foram detectados em 4,79% (8/167) das aves. Este estudo indica que os mutuns mantidos em cativeiro não apresentam infecções graves. Todos os esforços devem ser assegurados para garantir a conservação dessas espécies, tais como manutenção em instalações com biossegurança.

Palavras-chave: *Crax blumenbachii*, *Pauxi mitu*, sanidade, cativeiro, conservação.

ABSTRACT

Red-billed Curassow (*Crax blumenbachii*) and Alagoas Curassow (*Pauxi mitu*) in captivity in the State of Minas Gerais, Brazil, were evaluated for selected etiologies, aiming to the health assessment of these species. Twenty (6,55% - 20/305) curassows were positive for *Plasmodium*, by stained blood smear (Giemsa) and PCR (blood). All *C. blumenbachii* and *P. mitu* were negative (swab cloacal) for *Aviadenovirus* by PCR. However, young *Pauxi mitu* affected by fibrino-hemorrhagic tracheitis were positive for *Aviadenovirus* A, by PCR and confirmed by sequencing. All cloacal swabs were negative for *Chlamydophila psittaci* and *Mycoplasma gallisepticum* by PCR. *Clostridium perfringens* type A was isolated from 20.98% (64/305) birds, and *cpb2* gene positive *C. perfringens* type A, which encodes for beta-2 toxin, was detected in 1.96% (6/305). *Salmonella* Saintpaul was isolated from three red-billed curassows (2.17% – 3/138) and *Salmonella* Anatum was isolated from one Alagoas curassow (0.59% – 1/167). Serology was performed only in Alagoas Curassows. By ELISA, antibodies to infectious bursal disease virus (IBDV) were demonstrated in 4.79% (8/167), to myeloid leukosis (subgroup J) in 3.59% (6/167), to avian reticuloendotheliosis virus in 4.79% (8/167), to avian *Metapneumovirus* in 1.79% (3/167) and avian *Orthoreovirus* in 10.17% (17/167). No antibodies were detected against avian leukosis virus (ALV). No antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* or *Mycoplasma synoviae* were revealed by hemagglutination-inhibition (HI). However, antibodies to avian *Paramyxovirus*-1 were detected in 4.79% (8/167). This study indicates that the captive curassows in the captive do not present infection by relevant poultry pathogens. All efforts must be put forward in order to guarantee the conservation of these species, such as maintenance in biosecure premises.

Keywords: *Crax blumenbachii*, *Pauxi mitu*, sanitary, captive, conservation.

INTRODUÇÃO

A família Cracidae (mutuns, jacus, jacutingas e aracuãs) pertence à ordem Galliformes (Classe Aves), e seus representantes habitam as zonas tropicais e subtropicais das Américas. Os cracídeos são considerados as aves mais ameaçadas de extinção do continente Americano. No Brasil, o desmatamento e a caça indiscriminada reduziram as populações de cracídeos, como o mutum-do-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e o mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*), extinto na natureza.

O mutum-de-bico-vermelho é endêmico da Mata Atlântica de baixada, e ocorria, originalmente, entre o Recôncavo Baiano até o Rio de Janeiro, e no leste de Minas Gerais. É uma ave bastante sensível à alteração e fragmentação de *habitat* e à caça, e atualmente é uma espécie em perigo de extinção. Estimativas recentes sugerem a presença de apenas 250 indivíduos na natureza, o que torna esta espécie uma das mais ameaçadas do Neotrópico. Estima-se que existam, atualmente, em torno de 200 indivíduos cativos de *C. blumenbachii*. A reintrodução da espécie poderá auxiliar no restabelecimento de interações ecológicas, pois os mutuns participam dos processos de dispersão de sementes, e desempenham o papel de presa de médios e grandes carnívoros, e de aves de rapina de maior porte.

O mutum-do-nordeste tem sua história marcada pela caça e pela perda de *habitat*, com o desmatamento da Mata Atlântica nordestina, substituída por plantio de cana-de-açúcar estimulado pelo Pró-Álcool (programa governamental de etanol biocombustível). Somente três indivíduos da espécie sobreviveram em cativeiro ao fim da década de 1970, sendo um macho e duas fêmeas, constituindo-se em um dos mais severos gargalos populacionais conhecidos no mundo. Desde então, a

população aumentou, devido ao empenho de instituições e pesquisadores que se dedicam ao manejo e reprodução da espécie. Ao final de 2013, existiam em torno de 120 indivíduos adultos e 60 jovens cativos de mutuns-do-nordeste, distribuídos em dois criadouros, situados em Contagem e Poços de Caldas, ambos localizados em Minas Gerais.

Os Planos de Ação Nacional para a Conservação das Espécies Ameaçadas de Extinção (PAN) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) são políticas públicas, pactuadas com a sociedade, que identificam e orientam as ações prioritárias para combater as ameaças que põem em risco populações de espécies e assim protegê-las. Os Planos de Ação para a Conservação do *Crax blumenbachii* e do *Pauxi mitu* apresentam levantamentos de informações sobre a biologia e a criação em cativeiro destas espécies, e propõe uma série de ações e medidas a serem adotadas para a conservação das mesmas.

Uma das estratégias de conservação é a criação em cativeiro de espécies ameaçadas com vista à reintrodução. O conhecimento do perfil sanitário das aves ameaçadas é importante para estabelecer medidas preventivas, tratamentos mais eficazes e para a elaboração de protocolos sanitários para criação e reintrodução na natureza.

No Brasil, apesar da grande biodiversidade, é escasso o conhecimento sobre os potenciais patógenos da avifauna brasileira e o impacto que estes causam nas espécies mantidas em cativeiro e em vida livre. A determinação da ocorrência dos patógenos, especialmente os infecciosos, nas populações de aves selvagens cativas é importante em função da ameaça de extinção de diversas espécies mantidas em cativeiro. A vigilância epidemiológica e a biossegurança dessas deve ser uma preocupação sanitária constante, pela

possibilidade da perda de espécies importantes para conservação.

No presente trabalho foram realizados estudos da ocorrência dos seguintes agentes selecionados: *Plasmodium* spp., *Aviadenovirus*, *Chlamydophila psittaci*, *Clostridium perfringens*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella*, *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* em mutuns-de-bico-vermelho e em mutuns-do-nordeste. E a avaliação sorológica de *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Alpharetrovirus* (Leucose Aviária), *Avibirnavirus* (Doença de Gumboro), *Gammaretrovirus* (Reticuloendoteliose Aviária), *Metapneumovirus* (Pneumovirus Aviário), *Paramyxovirus* Aviário sorotipo 1 – APMV-1 (Doença de Newcastle), *Reovirus* (Reovirus Aviário) em mutuns-do-nordeste. As avaliações foram realizadas para delinear o perfil sanitário destes cracídeos em cativeiro no estado de Minas Gerais, e contribuir com informações sobre sanidade para os Planos de Ação para Conservação do mutum-do-nordeste e do mutum-de-bico-vermelho do ICMBio.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cracídeos

Os cracídeos são aves que pertencem à família Cracidae e à ordem Galliformes (Classe Aves). Habitam, principalmente, as zonas tropicais e subtropicais das Américas, ocorrendo do sul do Texas até o norte da Argentina. Os cracídeos estão distribuídos em 11 gêneros, 50 espécies e cerca de 60 subespécies (Del Hoyo, 1994). São de hábitos arborícolas e formam pequenos grupos, em geral um casal e seus filhotes (Delacour e Amadon, 1973). No Brasil, segundo a Lista das aves do Brasil do Comitê Brasileiro de Registros

Ornitológicos (Lista, 2014) ocorre 22 espécies de cracídeos.

Os cracídeos são as aves mais ameaçadas de extinção das Américas, com aproximadamente metade das espécies consideradas vulneráveis ou ameaçadas de extinção (IUCN, 1995). No Brasil, as seguintes espécies são consideradas ameaçadas de extinção: mutum-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*), mutum-pinima (*Crax fasciolata pinima*), jacutinga (*Aburria jacutinga*), jacucaca (*Penelope jacucaca*), jacu-de-barriga-castanha (*Penelope ochrogaster*), jacu-de-Alagoas (*Penelope superciliaris alagoensis*) e o mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*), este último considerado extinto na natureza (Silveira e Straube, 2008).

As espécies brasileiras podem ser reconhecidas em quatro biótipos distintos: mutuns, jacus, jacutingas e aracuãs. Os mutuns são representados pelos maiores indivíduos da família, possuem 80 - 90 cm de comprimento, e podem apresentar diversas ornamentações na região do bico (podem ser expansões ósseas cobertas por queratina ou tecido conjuntivo, que se apresentam em diversas cores, como o amarelo, azul ou vermelho). Os jacus e jacutingas são animais de tamanho médio, possuem 50 - 70 cm de comprimento. Muitas espécies de jacus e jacutingas apresentam a garganta nua e uma barbela desenvolvida. A barbela tem coloração púrpura ou azul dependendo da espécie. Os aracuãs são os menores indivíduos do grupo, possuem 40 - 50 cm de comprimento. Apresentam plumagem de coloração parda. Não apresentam intumescências no bico ou barbela na garganta, mas a garganta é nua e colorida (Delacour e Amadon, 1973).

Os cracídeos têm uma alimentação bastante diversificada, composta por bagas, brotos, folhas, frutos, sementes, pequenos invertebrados (lagartas, larvas de insetos,

cupins, formigas, aranhas, moluscos) e até pequenos anfíbios (Sick, 2001).

São aves que atraem a atenção da comunidade científica por serem representantes típicos das florestas neotropicais e por atuarem na dispersão de sementes nas florestas (Evêncio Neto, 2007). Os cracídeos são muito sensíveis às perturbações ambientais causadas pelo homem. Eles podem ser usados como indicadores biológicos da qualidade do ambiente, no auxílio de programas de manejo e conservação de áreas tropicais intactas e áreas de proteção ambiental (Strahl e Grajal, 1991).

No Brasil, o desmatamento e a caça reduziram drasticamente as populações de várias espécies de cracídeos, como a jacucaca, a jacutinga, o mutum-de-bico-vermelho e o mutum-do-nordeste. Todos os cracídeos são muito procurados como aves de caça, especialmente os mutuns e os jacus, são muito vulneráveis a esta atividade, mesmo quando praticada com baixa intensidade (Silva e Strahl, 1991; Robinson e Bennett, 2000; Peres, 2000 a, b). Além desta atividade, outros fatores que ameaçam os cracídeos, em menor intensidade, são o comércio ilegal de animais silvestres, a introdução de fauna exótica e a ocorrência de doenças, em especial aquelas nas quais patógenos adaptados aos animais domésticos atingem a fauna (Catão-Dias, 2003).

2.2. Mutum-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*)

O mutum-de-bico-vermelho (*C. blumenbachii*) é uma ave endêmica da Mata Atlântica e originalmente ocorria em florestas de baixada e tabuleiro desde o sul da Bahia ao Rio de Janeiro e no leste do estado de Minas Gerais (Sick, 2001; Plano, 2004).

O *C. blumenbachii* tem um comprimento total entre 80 - 93 cm, e peso médio entre 3 - 3,5 kg. É um cracídeo de grande porte e apresenta dimorfismo sexual. Os machos (Figura 1) possuem cabeça, pescoço, peito, dorso, asas e cauda de coloração negra, com o ventre e o crisso (parte terminal do abdome das aves, entre as coxas e a cauda, e região ao redor da cloaca) de coloração branca. Apresentam também uma crista negra, formada de penas curvas. A área nua (cere) sobre o bico é laranja ou vermelha, podendo ser mais desenvolvida, formando uma carúncula. As fêmeas (Figura 2) apresentam a cere negra, e não apresentam carúncula. A face inferior da mandíbula, nos machos apresenta uma elevação ventral, também coberta pela cere laranja ou vermelha. A região facial é nua e negra em ambos os sexos. A coloração da íris é laranja-avermelhado nas fêmeas, variando entre castanho e marrom escuro nos machos. As fêmeas, similarmente aos machos, apresentam a cabeça, peito, dorso, asas e cauda de coloração negra, mas o ventre e o crisso são de cor marrom. As fêmeas apresentam a crista negra, barrada de branco. Estas também apresentam um maior grau de polimorfismo de plumagem, com espécimes frequentemente apresentando asas, a superfície dorsal da cauda e os calções barrados de marrom. Esta variação pode estar concentrada em apenas uma das regiões acima citadas ou ocorrer nas três áreas simultaneamente. As escamas que recobrem os tarsos e pés são cinza nos machos e avermelhada ou rósea nas fêmeas. (Sick, 2001; Plano, 2004).

Registros recentes indicam a presença natural da espécie apenas no sul da Bahia (Reserva Biológica de Una, Parque Nacional do Descobrimento, Ituberá) e no norte do Espírito Santo (Reserva Natural Vale, Reserva Biológica de Sooretama), enquanto há populações reintroduzidas em outras duas localidades, todas no estado de Minas Gerais. (Plano, 2004). Estimativas recentes sugerem a presença de 250

indivíduos na natureza, o que torna esta espécie uma das mais ameaçadas do Neotrópico. É considerado “Em Perigo de Extinção” tanto nacionalmente quanto internacionalmente (Plano, 2004).

Um dos fatores que mais afetaram a sobrevivência da espécie foram a redução de áreas florestadas para abertura de fronteiras agrícolas, os projetos de reforma agrária e os movimentos indígenas, além da degradação ambiental causada pela fragmentação de *habitat*, incêndios, efeito de borda, e outros impactos antrópicos. Outro agravante é a caça, sendo considerada uma ave cinegética (Plano, 2004; Sick, 2001).

Com o objetivo de reverter uma possível extinção da espécie, em 1975, a CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre – localizada em Contagem, Minas Gerais, iniciou o programa integrado de preservação de espécies da fauna, e utilizou-se de dois casais originados do sul da Bahia, e quatro indivíduos do Espírito Santo, além de nove indivíduos obtidos em criadouros de Minas Gerais e Espírito Santo. O projeto destinou-se a dominar a reprodução e o manejo da espécie em cativeiro para posteriores reintroduções, com o apoio de diversos parceiros (Plano, 2004).

Estima-se que existam, atualmente, em torno de 200 indivíduos cativos de *C. blumenbachii*. A espécie possui potencialidade para rápida reprodução em

cativeiro, com posturas de dois ovos em média, e incubação de 30 dias. Estudos de observação em campo apontam que a Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Estação Veracel, Parque Nacional do Pau Brasil e RPPN Serra Bonita são remanescentes potenciais para a reintrodução da espécie, os quais foram elencados a partir de critérios como proteção, presença de espécies cinegéticas, qualidade e tamanho da área. A reintrodução da espécie poderá auxiliar no restabelecimento de interações ecológicas, pois mutuns, em geral, participam dos processos de dispersão de sementes e contribuem como uma das espécies frugívoras com maior biomassa, desempenhando o papel de presa de médios e grandes carnívoros e aves de rapina de maior porte (Plano, 2004).



Figura 1. Macho de mutum-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*).



Figura 2. Fêmea de mutum-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*).

2.3 Mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*)

O mutum-do-nordeste (*P. mitu*) ocorria na Mata Atlântica, entre os estados de Pernambuco e Alagoas, e somente em 1951, foi reconhecido como uma nova espécie. Sua história foi marcada pela caça e perda de *habitat*, com o desmatamento da Mata Atlântica nordestina, sendo a mesma substituída por plantio de cana-de-açúcar estimulado pelo Pró-Álcool, programa governamental de etanol biocombustível. Atualmente é considerado extinto na natureza (Plano, 2008).

O *P. mitu* possui aproximadamente 90 cm de comprimento total, peso médio entre 3 - 3,5 kg e não apresenta evidente dimorfismo sexual de plumagem, sendo esta uniformemente negra e com reflexos azulados (Figura 3). Os machos são maiores do que as fêmeas e apresentam a traqueia bem desenvolvida, sendo esta palpável na região ventral dos machos. As penas da região ventral e do crisso possuem coloração marrom. Apresenta um topete, sendo notável apenas quando a ave está excitada. A íris é castanho-avermelhada e as escamas que recobrem o tarsometatarso e os pés são vermelhas. As penas da cauda são também negras, com o seu ápice amarronzado, exceção feita ao par central de retrizes totalmente negro, o que representa caráter-diagnóstico importante, quando comparado com o mutum-cavalo (*Pauxi tuberosa*). Outros caracteres-diagnósticos são observados na região da cabeça, que apresenta a área auricular desprovida de penas, e no bico bicolor, vermelho na base e tornando-se róseo-esbranquiçado em direção à ponta (Sick, 2001; Plano 2008).

Seus últimos registros na natureza datam de 1978, 1984 e 1987. No final de 2001, foram feitas pesquisas a campo em diversos fragmentos de mata em Alagoas, na área de distribuição da espécie, porém não foram encontrados vestígios da ave. No final da

década de 1970, foi iniciado um programa de criação em cativeiro. Alguns exemplares foram capturados em um fragmento de floresta de baixada em Alagoas pelo criador de aves Pedro Nardelli. O plantel inicial era de cinco exemplares, e apenas três indivíduos da espécie sobreviveram (um macho e duas fêmeas), e estes produziram filhotes, constituindo-se em um dos mais severos gargalos populacionais conhecidos no mundo (Plano, 2008).

No início da década de 1990, foram formados alguns casais híbridos com o mutum-cavalo (*Pauxi tuberosa*) e, em 1999, a população era de 44 aves, sendo apenas 12 delas puras. Posteriormente, todo o plantel foi dividido entre dois criadores especializados: a CRAX e o Criadouro de Aves Poços de Caldas, ambos no estado de Minas Gerais, Brasil (Plano, 2008).

Um programa de monitoramento genético foi iniciado, visando identificar indivíduos geneticamente puros e com os menores níveis de similaridade genética para a reprodução, assistido por um controle sanitário realizado para prevenção de doenças. Estudos revelaram que da população existente em 2008, composta por 121 indivíduos, apenas 54 eram geneticamente puros. Com isso, os melhores pareamentos foram recomendados na tentativa de obter maior sucesso reprodutivo. De uma população de 121 animais vivos em 2011, houve um salto para 186 em 2012, com um aumento de 55% em uma única temporada de estação reprodutiva (ICMBio, 2013). Associado ao trabalho em cativeiro, com o objetivo de garantir a sobrevivência da espécie, está em andamento um trabalho de recuperação da Mata Atlântica em Alagoas, e a proteção contra caçadores e madeireiros (Plano, 2008). Com isso a propagação em cativeiro e a futura reintrodução de aves nestas áreas selecionadas representam a única chance de evitar sua definitiva extinção.



Figura 3. Exemplares de mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*) mantidos em cativeiro.

2.4. Plano de Ação para a Conservação do *Crax blumenbachii*

O Plano de Ação para a Conservação do *C. blumenbachii* (Plano, 2004) apresenta um levantamento de informações sobre a biologia e a criação em cativeiro, e propõe uma série de ações e medidas a serem adotadas para a conservação dessa espécie. O objetivo deste plano de ação é assegurar permanentemente a manutenção das populações e da distribuição geográfica de *C. blumenbachii* e, a médio e longo prazo, promover o aumento tanto do efetivo populacional quanto do número de populações, e propiciar a expansão da distribuição geográfica da espécie na sua área de ocorrência original. Para atingir esta meta são propostos diversos objetivos

específicos em diferentes áreas temáticas (Plano, 2004).

No Apêndice “Reprodução em cativeiro e protocolos de reintrodução” relata-se que a ocorrência de doenças em cracídeos é baixa, mesmo em condições de cativeiro. Os problemas estão quase sempre relacionados aos sistemas respiratório e digestivo das aves. Há maior incidência durante os períodos úmidos e nas aves jovens. O bom desempenho sanitário pode ser atribuído à resistência natural destas aves, e às condições favoráveis de alojamento, higiene, bem estar, nutrição e manejo (Plano, 2004).

Os procedimentos de seleção, de preparo e cuidados adotados para os grupos destinados a reintrodução são descritos no

referido apêndice. Com a finalidade de verificar o estado geral e imunológico dos grupos, e o possível contato destes com agentes etiológicos de doenças que ocorrem na avicultura, devem ser realizados exames sanitários. Devem ser coletadas fezes frescas em placas de Petri, penas caídas naturalmente (colocadas em sacos de polietileno vedados) e, aproximadamente, 3 ml de sangue da veia axilar ou braquial. O material deve ser adequadamente acondicionado e levado ao laboratório, para os seguintes exames: nas fezes, microscopia direta e flutuação; nas penas, pesquisa e identificação de ectoparasitas; no soro sanguíneo, soroglutinação rápida em placa para *Mycoplasma gallisepticum* e *Salmonella Pullorum*, inibição da hemaglutinação para o vírus da doença de Newcastle e soroneutralização em cultivo celular para o vírus da doença de Gumboro (Plano, 2004).

2.5. Plano de Ação para a Conservação do *Pauxi mitu*

O Plano de Ação para a Conservação do *P. mitu* (Plano, 2008) reúne um levantamento de informações sobre a biologia, histórico e a criação em cativeiro, e propõe uma série de ações e medidas a serem adotadas para a conservação dessa espécie. O objetivo deste plano de ação é assegurar permanentemente a manutenção das populações em cativeiro de *P. mitu*, promover o aumento tanto do efetivo populacional quanto do número de populações, e propiciar a reintrodução da espécie nos remanescentes florestais dentro de sua provável área de ocorrência original. Entre os objetivos específicos estão criar o protocolo de manejo em cativeiro que possa ser usado em todos os centros de reprodução da espécie; fomentar pesquisas visando desenvolver técnicas, selecionar e preparar aves para a reintrodução; e estabelecer um protocolo de reintrodução para a espécie (Plano, 2008).

2.6. Criação de aves selvagens em cativeiro

Com a redução dos *habitat* naturais, o aumento da caça e tráfico de aves selvagens, e o consequente aumento do número de espécies ameaçadas, a criação em cativeiro, associada a pesquisas em biologia animal e medicina veterinária, tornam-se importantes ferramentas para a conservação da avifauna, (Munson e Cook, 1993; Allgayer e Cziulik, 2007).

A propagação em cativeiro representa um componente muitas vezes imprescindível para a sobrevivência de uma determinada espécie animal, sendo que para algumas, como a ararinha-azul (*Cyanopsitta spixii*) e o mutum-do-nordeste (*P. mitu*), trata-se da última fronteira antes da extinção. Como a maioria da população cativa está em criadouros privados, existe uma demanda de infraestrutura, recursos materiais e humanos por parte destes, para manter seus plantéis, realizar pesquisas e colaborar com os programas de conservação (Catão-Dias, 2008).

No Brasil, apesar da grande biodiversidade, ainda é baixo o conhecimento sobre os potenciais patógenos da avifauna. A determinação da incidência e da distribuição dos patógenos, especialmente os infecciosos, nas populações selvagens cativas e de vida livre é uma tarefa urgente e prioritária. Sem esse conhecimento, trabalhos conservacionistas importantes e de recuperação de espécies ameaçadas, correm o risco de fracassarem, pela morte de animais cativos, translocados e/ou reintroduzidos, pela possibilidade de induzirem desastres ecológicos e por meio da introdução de patógenos em *habitat* anteriormente isentos (Catão-Dias, 2008). A soltura de animais seja através da translocação de espécimes de uma população natural para outra, da introdução de animais nascidos em cativeiro em uma população natural, ou do retorno de animais

reabilitados em cativeiro à natureza, implica em algum nível de risco de transmissão de patógenos (Seal e Armstrong, 2000).

Um importante fator para preservação dos cracídeos é a reprodução em cativeiro, pois estas aves se reproduzem bem, podendo ser restabelecidas populações viáveis na natureza futuramente. O desenvolvimento de programas de reprodução em cativeiro, envolvendo o setor público e privado, é fundamental. Associado à criação em cativeiro, deve-se realizar a preservação dos ambientes naturais de ocorrência destas aves, como estratégia de conservação da biodiversidade (Evêncio Neto, 2007).

Os programas de cativeiro, planos de ação para conservação e recuperação de avifauna devem contemplar o manejo de enfermidades, gerando informações acerca da interação entre agente etiológico e o hospedeiro, e dos fatores ambientais que podem interferir nessa relação (Azpiri *et al.*, 2000). Trabalhos sobre avaliação sanitária de aves foram previamente publicados no Brasil, como avaliações sanitárias de araras azuis no Pantanal (Allgayer *et al.*, 2009), de cracídeos (Marques *et al.*, 2013) e tinamídeos (Marques *et al.*, 2012) em cativeiro, de aves de rapina de recolhimento (Andery *et al.*, 2013) e de ranfastídeos cativos (Ferreira Junior, 2012), estes últimos realizados em aves mantidas em cativeiro e/ou em centros de triagem no estado de Minas Gerais.

Avaliações sanitárias demonstram o estado de saúde de uma espécie, bem como a sua exposição à doença e os possíveis impactos sobre a população (Deem *et al.*, 2001). Definir quais as doenças e os impactos sobre os animais selvagens e cativos é fundamental em programas de reprodução em cativeiro destinados a restabelecer animais saudáveis para a vida selvagem (Mörner *et al.*, 2002).

2.7. Malária aviária

As aves são acometidas por, principalmente, três gêneros de hemosporídeos: o *Plasmodium*, agente etiológico da malária aviária; o *Haemoproteus*, que pode causar doença semelhante à malária; e o *Leucocytozoon*, que possui grande impacto na criação de gansos, patos e galinhas (Valkiūnas, 2005). A caracterização de haplótipos, por sequenciamento genético do parasito, tem demonstrado que o número de espécies de hemosporídeos pode ser tão grande quanto o número de espécies de aves (Bensch *et al.*, 2004). Os hemosporídeos são heteroxenos e realizam a fase sexuada em dípteros hematófagos (Insecta: Diptera), desenvolvendo assexuadamente nas aves. As formas visíveis nos esfregaços sanguíneos são as eritrocíticas (trofozoítos, merontes e gametócitos), que surgem após replicações assexuadas (merogonia ou esquizogonia) das formas exoeritrocíticas do parasito nos órgãos do vertebrado (Valkiūnas, 2005).

Sinais clínicos em galinhas infectadas por *Plasmodium gallinaceum* e *Plasmodium juxtannucleare* incluem letargia, cristas hipocoradas, fezes esverdeadas e diarreicas, e paralisia parcial ou total dos membros inferiores (Garnham, 1966). No Brasil, pinguins infectados por *Plasmodium relictum* apresentavam dispnéia, apatia, congestão ocular bilateral e protrusão da terceira pálpebra (Bueno *et al.*, 2010). Alterações relatadas em pássaros incluem anorexia e perda de peso (Atkinson *et al.*, 2000), diminuição do hematócrito e aumento de volume esplênico e hepático (Palinauskas *et al.*, 2008; 2009). Algumas aves são conhecidas pela alta sensibilidade à malária. Pássaros da família Drepeniidae, endêmica do Havaí, sofreram grande impacto na diminuição do número de indivíduos e da área de ocorrência devido à introdução do *P. relictum* e de mosquitos do gênero *Culex* na região (Warner, 1968).

Pinguins africanos de vida livre tiveram o óbito associado à infecção por *P. juxtannucleare*, uma espécie de vasta distribuição geográfica (Grim *et al.*, 2003). Em cativeiro, *P. relictum* levou pinguins de Magalhães a óbito, apesar de terem recebido tratamento antimalárico (Bueno *et al.*, 2010). Hemosporídeos oferecem custo para a migração (Waldenström *et al.*, 2002; Yohannes *et al.*, 2008) e diminuem o sucesso reprodutivo de aves parasitadas (Ortego *et al.*, 2008; Knowles *et al.*, 2010). Além disso, o parasitismo por hemosporídeos pode tornar as aves susceptíveis a patógenos oportunistas, provocando doença clínica e mortalidade de aves cativas (Schrenzel *et al.*, 2003).

O diagnóstico da malária aviária é realizado pela visualização do parasito em esfregaço sanguíneo ou pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). O primeiro é o método de diagnóstico considerado padrão ouro, sendo que pesquisas através de ambos os métodos possuem validade científica (Garamszegi, 2010). A PCR é comumente citada como a técnica mais sensível (Waldenström *et al.*, 2004), no entanto, a alta discrepância entre os resultados pode ser devido à avaliação de lâminas de esfregaço sanguíneo de baixa qualidade, devido ao pequeno número de eritrócitos avaliados ou por inexperiência do examinador (Valkiūnas *et al.*, 2008).

Em cracídeos, foi realizado um estudo para determinar a prevalência de *Plasmodium* em mutuns-de-bico-vermelho (*C. blumenbachii*), mutuns-de-penacho (*C. fasciolata*) e jacutingas (*A. jacutinga*) de cativeiro em Minas Gerais, Brasil. Foram coletadas amostras sanguíneas de 42 espécimes de *A. jacutinga*, 41 de *C. blumenbachii* e 21 de *C. fasciolata*. Foram realizadas a análise microscópica de esfregaços sanguíneos e PCR para o diagnóstico da infecção por *Plasmodium*. A prevalência média encontrada em *C. blumenbachii* foi de 18,3% para machos e

12,5% para fêmeas; em *C. fasciolata* a média foi de 18,2% em machos e 20% em fêmeas. Em aves da espécie *A. jacutinga* as prevalências em machos e fêmeas foram de 52,65% e 34,8%, respectivamente (Motta, 2011).

Em uma avaliação de 121 mutuns-do-nordeste para pesquisa de hemoparasitos por análise microscópica de esfregaço sanguíneo, não foram encontradas estruturas morfológicas compatíveis com hemoparasitos em nenhuma das amostras avaliadas (Raso, 2010).

A alta incidência da malária aviária e a sua importância clínica, além de viabilizar estudos epidemiológicos, justificam correções no manejo de aves em cativeiro visando o controle do vetor e do parasito. O monitoramento de aves cativas permanentes ou candidatas à reintrodução deve ser realizado, por este parasitismo constituir fator de risco de curto e longo prazo, evitando o contato de espécies nativas com o parasito, o que pode causar perdas significativas nas populações nativas afetadas (Muratta, 2002; Schrenzel *et al.*, 2003). Estudos comparativos de aves mantidas em cativeiro e vida livre também devem ser realizados.

2.8. Clostridiose (*Clostridium perfringens*)

Bactérias do gênero *Clostridium* são Gram-positivas, anaeróbias e podem formar esporos em condições adversas. O *Clostridium perfringens* pode ser comensal no trato intestinal de vertebrados, sendo também encontrado no ambiente, especialmente em locais contaminados com fezes (Songer, 1996). Entre os clostrídios, o *C. perfringens* é considerado o principal causador de doença entérica nos animais domésticos, além de um importante patógeno para humanos. Em aves domésticas, este agente causa enterite

necrótica (EN), uma doença de grande importância na avicultura comercial, principalmente em frangos de corte, com maior acometimento de animais entre duas e três semanas de vida (Long, 1973). Os principais sinais clínicos da EN são a desidratação, diarreia com odor fétido, apatia e diminuição da ingestão de alimentos. O intestino delgado é o mais gravemente acometido e se mostra friável, dilatado, repleto de gás e com parede fina. Ocorre acúmulo de debris necróticos na mucosa e há formação de pseudomembrana de coloração entre amarelo e marrom ou pigmentada por bile. Lesões microscópicas incluem necrose das vilosidades intestinais e pode atingir as criptas. A membrana diftérica é caracterizada por células epiteliais degeneradas e necróticas, e células inflamatórias envoltas por fibrina (Long *et al.*, 1974; Long e Truscott, 1976; Cooper e Songer, 2009).

Estirpes de *C. perfringens* são classificadas em cinco tipos (A, B, C, D e E), de acordo com a produção de quatro toxinas principais: alfa, beta, épsilon e iota (Van Immerseel *et al.*, 2004). Na avicultura comercial, tanto em animais sadios quanto em casos de EN, o mais comumente isolado é o *C. perfringens* tipo A (produtor de toxina Alfa) e o tipo C (capaz de produzir toxinas Alfa e Beta), que ocorre com menor frequência. Os outros tipos aparentemente não tem importância em aves (Van Immerseel *et al.*, 2004; Crespo *et al.*, 2007). As estirpes de *C. perfringens* de qualquer tipo podem produzir um fator de virulência adicional conhecido como toxina Beta2 (cpb2), cuja importância na patogenia da doença em aves não foi completamente esclarecida (Van Asten *et al.*, 2010). Além disso, o *C. perfringens* pode produzir também a enterotoxina (CPE), que apesar de associada à EN em galinhas, ainda não tem seu papel determinado na etiologia da doença (Craven *et al.*, 1999; Crespo *et al.*, 2007).

Para tipificação de estirpes de *C. perfringens* um dos métodos mais utilizados é a PCR multiplex, visando à amplificação de genes codificantes das principais toxinas e fatores de virulência adicionais. Os principais genes alvo para diagnóstico são cpa (alfa), cpb (beta), etx (épsilon), ia (iota), cpb-2 (beta-2), cpe (enterotoxina) e, mais recentemente, tem sido pesquisado o gene netB (NetB) (Vieira *et al.*, 2008; Keyburn *et al.*, 2008).

O *C. perfringens* pode ser isolado de animais saudáveis, e em vísceras e carcaças de frangos em abatedouros (Van Immerseel *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2009). Este agente é um dos principais responsáveis por intoxicação alimentar em humanos, decorrente da produção da enterotoxina, havendo relação direta da fonte de infecção com a avicultura (Brynstad e Granum, 2002; Kessel *et al.*, 2001, citado por Van Immerseel *et al.*, 2004). Em aves, um dos principais fatores predisponentes para o desenvolvimento da EN é a infecção por coccídeos (Van Immerseel *et al.*, 2004).

C. perfringens foi isolado em duas amostras de swabs (1,5% - 2/131), em estudo sobre a ocorrência do agente em diversas espécies de cracídeos, mantidos cativo no estado de Minas Gerais. Os isolados foram classificados como *C. perfringens*, tipo A, e um foi positivo para o gene cpb2, responsável pela produção da toxina beta-2 (Silva *et al.*, 2014).

Devido o baixo número de estudos envolvendo aves selvagens, não se pode afirmar se o *C. perfringens* faz parte da microbiota normal desses animais, tampouco quais são os genótipos comuns nessas populações. Além disso, há pouco conhecimento sobre o perfil de resistência antimicrobiana de estirpes de *C. perfringens* isoladas dessas aves.

2.9. Clamidiofilose Aviária (*Chlamydophila psittaci*)

A clamidiofilose aviária é uma doença contagiosa, sistêmica, causada pela bactéria *Chlamydophila psittaci*, uma bactéria de replicação intracelular obrigatória, cujo ciclo apresenta duas formas de desenvolvimento: corpúsculo elementar (CE) e corpúsculo reticulado (CR). O CE pode sobreviver fora das células e o CR replica-se no citoplasma, e é a forma predominante no ciclo (Andersen e Franson, 2007). A clamidiofilose aviária foi detectada em mais de 460 espécies de aves suscetíveis em todos os continentes, exceto o Antártico, assim todas as espécies de aves podem ser infectadas com o agente (Kaleta e Taday, 2003). É uma importante zoonose, havendo relatos de óbitos em decorrência da doença (Petrovay e Balla, 2008). Grupos funcionais de risco incluem pessoas que trabalham na criação, abate industrial de aves e em zoológicos (Raso *et al.*, 2008; Dickx *et al.*, 2010). Após a entrada no organismo ocorre a infecção do epitélio e a bactéria pode ser encontrada principalmente nas excretas e secreções do trato respiratório, podendo sobreviver por longos períodos em material orgânico seco. Assim, a principal forma de transmissão é por inalação ou ingestão de material infectado. (Andersen e Vanrompay, 2003; Kaleta e Taday, 2003).

Os sinais clínicos da clamidiofilose são inespecíficos, como letargia, diminuição da ingestão de alimentos e penas arrepiadas. Pode haver corrimento nasal ou ocular de aspecto seroso ou mucopurulento, conjuntivite e excreção de uratos esverdeados ou amarelados (Smith *et al.*, 2010). Hepatomegalia e esplenomegalia com pontos brancos ou amarelados difusos e aerossaculite fibrinopurulenta são as alterações de necropsia comumente encontradas. Achados histopatológicos incluem enterite hemorrágica subaguda, congestão renal e pulmonar, necrose

multifocal hepática e esplênica com presença de células gigantes e granulócitos. Corpúsculos de inclusão podem ser vistos no citoplasma de macrófagos, hepatócitos e no endotélio capilar (Raso *et al.*, 2004; Andersen e Franson, 2007; Ecco *et al.*, 2009). A instalação da doença clínica ou a mortalidade por *C. psittaci* depende da idade, espécie e imunidade da ave afetada, da patogenicidade do agente e fatores ambientais estressantes (Smith *et al.*, 2005). Alguns grupos de aves, como os Psittaciformes e os Columbiformes podem se infectar com *C. psittaci* e não apresentar quadro clínico da doença, e eliminar o agente intermitentemente, adquirindo o estado de portadoras (Raso *et al.*, 2002; Sharples e Baines, 2009).

Os métodos de diagnósticos mais utilizados são a detecção de anticorpos pelo método de fixação do complemento ou a reação de imunofluorescência indireta, ELISA, detecção do agente por isolamento bacteriológico, visualização direta por técnicas histológicas (imunohistoquímica) ou citológicas (coloração por Gimenez ou Macchiavello) e detecção de sequências do genoma por PCR (Smith *et al.*, 2010).

No Brasil, foi relatado um surto de clamidiofilose em 58 aves recolhidas do comércio ilegal no estado de São Paulo, Brasil, levando a uma taxa de mortalidade de 96,5% (Raso *et al.*, 2004). *C. psittaci* e anticorpos contra o agente foram detectados em oito espécies do gênero *Amazona* mantidos em cativeiro nas regiões sudeste e centro-oeste no Brasil (Raso *et al.*, 2002). Exposição e eliminação da bactéria foram demonstradas em araras azuis (*Anodorhynchus hyacinthinus*) e em papagaio verdadeiro (*A. aestiva*) de vida livre no Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil (Raso *et al.*, 2006). Pela técnica de PCR de amostras de fígado, o patógeno não foi detectado em Cathartiformes, Falconiformes e Strigiformes de vida livre resgatados em Belo Horizonte (Andery *et*

al., 2013) e também não foi detectado pela técnica de PCR por *swabs* cloacais em ranfastídeos cativos em Minas Gerais, Brasil (Ferreira Junior, 2012).

Não existem relatos da doença em cracídeos na literatura ou pesquisa da presença de *C. psittaci* nesta família de aves.

2.10. Micoplasmose Aviária (*Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*)

Micoplasmas (*Mycoplasma*) são bactérias de formato cocóide, cocobacilar ou pleomórficas, Gram negativas, mas que se coram pela solução de Giemsa. Há cerca de 100 espécies de *Mycoplasma* spp. descritas e 23 destas são relacionadas às aves, sendo as mais importantes em aves domésticas o *Mycoplasma gallisepticum*, o *Mycoplasma synoviae*, o *Mycoplasma meleagridis* e o *Mycoplasma iowae* (Kleven, 2003).

Os sinais clínicos da infecção por *M. gallisepticum* são um quadro respiratório, diminuição na ingestão alimentar e produção de ovos, e baixa eclodibilidade. A doença clínica por *M. synoviae* causa sinais semelhantes, porém de forma mais branda, podendo não haver sinais respiratórios, sendo que este microrganismo causa claudicação com aumento de volume nos membros inferiores. A maioria dos sinais clínicos provocados por *M. meleagridis* é leve ou inaparente, sendo observada baixa eclodibilidade e aumento de mortalidade embrionária. As micoplasmoses possuem transmissão horizontal, através de aerossóis, água, alimento, fômites contaminados e pelo contato direto com animais infectados. A transmissão vertical ocorre através da contaminação do ovo no oviduto (Nascimento *et al.*, 2005).

Para adequação ao Programa Nacional de Sanidade Avícola – PNSA, estabelecimentos avícolas devem estar sob

vigilância permanente ou eventual e seus plantéis livres de *M. gallisepticum*, *M. synoviae* e *M. meleagridis*. O teste da soroaglutinação rápida em placas (SAR) é realizado para triagem e os soros reagentes devem ser submetidos ao teste de ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) ou inibição da hemaglutinação (IH) para confirmação. Havendo casos de positividade, *swabs* de traqueia devem ser coletados e enviados para laboratórios oficiais para a realização de PCR. Em criações de aves silvestres ou ornamentais são adotados os mesmos critérios para matrizes, cuja vigilância é eventual, com repetição dos exames a cada três meses (Brasil, 2002). Técnicas de PCR para o gênero têm sido utilizadas, tendo em vista a ampla distribuição de diferentes espécies de *Mycoplasma* encontradas em aves domésticas e silvestres. A subsequente identificação da espécie do agente é realizada por sequenciamento do fragmento amplificado (Lierz *et al.*, 2007).

Em cracídeos cativos no estado de Minas Gerais, 32,3% (42/130) das aves avaliadas para *M. gallisepticum* foram reagentes pela técnica de SAR. Entre os mutuns-de-bico-vermelho (*C. blumenbachii*), 44,4% (24/54) das aves foram reagentes, nos mutuns-de-penacho (*C. fasciolata*) 60,7% (17/28) foram reagentes e uma (2,3% – 1/42) jacutinga (*A. jacutinga*) foi reagente para *M. gallisepticum*. Nenhum (0/6) jacuaçu (*P. obscura*) foi reagente. Os 42 soros de cracídeos reagentes na prova de SAR para *M. gallisepticum*, foram submetidos ao teste de IH para *M. gallisepticum* e *M. synoviae*. Nenhum soro apresentou títulos de anticorpos contra *M. gallisepticum* e *M. synoviae* na prova de IH. Tendo em vista a maior especificidade do IH, as aves foram consideradas negativas (Marques *et al.*, 2013).

Em uma avaliação de 121 mutuns-do-nordeste para pesquisa de anticorpos contra *M. synoviae* pela técnica de SAR, todas as

aves foram consideradas não reagentes (Raso, 2010).

Em uma avaliação sorológica para a pesquisa de *M. gallisepticum* e *M. synoviae* em Pava Aliblanca (*Penelope albipennis*) no Peru, apenas uma ave (0,9% – 1/113) foi sororeagente para *M. synoviae* pela técnica de SAR (Cavero e Pralongo, 2011).

A vigilância epidemiológica e a biossegurança de aves selvagens, que têm contato com aviários comerciais e domésticos, deve ser uma preocupação sanitária constante, pela possibilidade da transmissão de micoplasmose para as granjas da avicultura comercial.

2.11. Salmoneloses Aviárias

As salmoneloses são causadas por bactérias Gram-negativas, em forma de bastonete, do gênero *Salmonella*, família Enterobacteriaceae. Possuem distribuição mundial e têm grande importância na saúde de humanos. Há cerca de 2500 sorovarietades baseadas na composição dos antígenos O (somático), Vi (capsular ou de virulência) e H (flagelar). A maioria das sorovarietades possui pouca especificidade e todas as espécies de aves são consideradas susceptíveis à salmonelose (Shivaprasad, 2003; Daoust e Prescott, 2007). As salmoneloses possuem importância em aves de cativeiro e podem ser introduzidas em criadouros por alimentos, animais de vida livre ou por novas aquisições. Animais infectados podem se tornar portadores sadios, eliminando o agente nas excretas intermitentemente (Gopee *et al.*, 2000). Além disso, foi demonstrado que criações de aves de fundo de quintal representam risco para aves selvagens de vida livre e em cativeiro (Butron e Brightsmith, 2010). A transmissão da salmonelose ocorre principalmente pela via oro-fecal, pelo contato direto com animais infectados ou pela ingestão de água e alimentos

contaminados. Na avicultura industrial, a transmissão vertical e através da casca do ovo são importantes (García *et al.*, 2011).

A manifestação clínica da salmonelose é caracterizada por apatia, anorexia, desidratação, enterocolite aguda com diarreia, podendo ocorrer bacteremia, meningite com sintomatologia nervosa e morte súbita. Fatores como imunossupressão, dose infectante, via de transmissão, espécie e idade acometida, doenças concomitantes e sorotipo envolvido tendem a determinar a ocorrência e a gravidade da doença (Friend e Franson, 1999). A enterite é caracterizada por congestão e ulceração, havendo acúmulo de material necrótico marrom escuro, decorrente da presença de sangue. Em Passeriformes, estas lesões podem envolver o esôfago e o papo, sendo que material necrótico fibrinopurulento pode estar presente. O fígado pode apresentar-se friável, aumentado de volume e com nódulos piogranulomatosos ou petéquias (Mikaelian *et al.*, 1997; Friend e Franson, 1999). Segundo o PNSA, para proceder ao comércio nacional e internacional e à transferência, em âmbito nacional, de seus produtos, o núcleo ou estabelecimento avícola de reprodução deverá estar certificado como livre de *Salmonella Gallinarum* e *Pullorum* e livre ou controlado para *Salmonella* Enteritidis e Typhimurium. Os testes para o monitoramento dos plantéis são: soroglutinação rápida em placa (SAR), utilizando sangue total ou soro; soroglutinação lenta em tubos (ALT) ou microaglutinação e diagnóstico bacteriológico. Para aves ornamentais ou silvestres de produção, devem ser adotados os mesmos critérios utilizados para matrizes. Todas as salmonelas isoladas deverão ser obrigatoriamente enviadas ao laboratório de referência de salmonelas aviárias para serem investigadas sob os aspectos epidemiológicos e microbiológicos (Brasil, 2003).

Cracídeos cativos em Minas Gerais foram sororeagentes à prova de soroaglutinação rápida para o teste de Puloose 26,9% (35/130), no entanto, não houve o isolamento de *Salmonella* por swabs cloacais e cultivo bacteriológico (Marques *et al.*, 2013).

Cracídeos reagentes para *Salmonella* também foram relatados no Parque Zoológico de Houston (Texas - EUA), porém também não se conseguiu isolar o agente em cultura bacteriológica (Tocidlowski, 2007).

No Rio Grande do Sul, swabs cloacais foram coletados de 51 indivíduos de dez espécies diferentes de cracídeos mantidos em cativeiros, para o isolamento e a caracterização bacteriana, e todas as amostras foram negativas para *Salmonella*. (Santos, 2010).

Em uma avaliação de 121 mutuns-do-nordeste mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, para pesquisa de anticorpos contra *Salmonella Pullorum* pela técnica de SAR, todas as aves foram consideradas não reagentes (Raso, 2010).

No Peru, 7.2% (8/111 das aves avaliadas) de Pavas Aliblancas (*Penelope albipennis*) foram sororeagentes para *Salmonella* Enteritidis, e 5.6% (6/107 das aves avaliadas) foram sororeagentes para *Salmonella Pullorum* e *Gallinarum*, pela técnica de SAR (Cavero e Pralongo, 2011).

2.12. Adenovírus Aviário (*Adenoviridae* – *Aviadenovirus*)

O adenovírus aviário pertence ao gênero *Aviadenovirus* da família Adenoviridae. Este vírus pode ser classificado em três grupos: grupo I, II e III. O grupo I é subdividido em doze sorotipos que afetam galinhas, três em perus, três em gansos e

um em patos, associados à hepatite por corpúsculo de inclusão, síndrome hidropericárdica e bronquite das codornas. O grupo II possui um sorotipo e está relacionado à enterite hemorrágica dos perus, doença do baço marmóreo e esplenomegalia em frangos. O grupo III, que também contém apenas um sorotipo, está relacionado à síndrome da queda de postura (Crittter *et al.*, 2007).

O grupo I dos *Aviadenovirus* causa hepatite por corpúsculo de inclusão em aves, que são transmitidos via transovariana ou pelo sêmen do macho (vias verticais), por infecção oro-fecal ou inalação (vias horizontais). Animais jovens (sete a 21 dias de vida) são os mais acometidos e o quadro clínico mais frequente é a diminuição da conversão alimentar, além do baixo ganho de peso, penas arrepiadas, palidez e icterícia. O fígado apresenta-se aumentado, com áreas de hemorragia, friável e pálido (Martins e Resende, 2009). Surto de hepatite por corpúsculo de inclusão em patos com elevadas taxas de letalidade podem ser decorrentes tanto do desenvolvimento de hepatite quanto de quadros respiratórios (pneumonia e traqueíte estenosante), onde as partículas virais são encontradas principalmente no parênquima hepático e no epitélio traqueal, respectivamente. Já a elevada letalidade em surtos de gansos jovens (quatro a 11 dias de vida) está relacionada apenas à lesão hepática (Adair e Fitzgerald, 2008).

O *Aviadenovirus* também pode estar envolvido com doenças respiratórias, caracterizadas por: obstrução do lúmen traqueal por conteúdo gelatinoso, firme, opaco e esbraquiçado; congestão e edema no pulmão e na mucosa da traqueia; além de equimoses no epicárdio. Os achados microscópicos são franjas de fibrina e debris celulares na traqueia e brônquios, hiperplasia do epitélio traqueal, infiltrado inflamatório linfohistiocítico nos pulmões e infiltrado inflamatório heterofílico

interatrial e nos sacos aéreos (Ivanics *et al.*, 2001). Os mesmos autores descrevem que o dano causado ao sistema imunológico pelo vírus facilita o desenvolvimento de infecções secundárias por bactérias (*Escherichia coli* e *Salmonella*) e fungos (*Aspergillus* e *Candida albicans*).

O diagnóstico de infecção pelo *Aviadenovirus* é feito por isolamento do vírus em ovos SPF embrionados ou em cultivo celular, microscopia eletrônica, histopatologia (Cheema *et al.*, 1989), e pela técnica de PCR (Meulemans *et al.*, 2001).

Em aves selvagens, o *Aviadenovirus* foi relatado causando surtos de mortalidade em patos-de-cauda-afilada (*Clangula hyemalis*) (Hollmén *et al.*, 2003). O *Aviadenovirus* também foi detectado como causador de quadros respiratórios, associado a traqueíte proliferativa em pato de Muscovy (*Cairina moschata*) (Brash *et al.*, 2009).

Não existem relatos da doença em cracídeos na literatura ou pesquisa da presença de *Aviadenovirus* nesta família de aves.

2.13. Doença de Newcastle (*Paramyxovirus* Aviário sorotipo 1 – APMV-1)

A doença de Newcastle é causada pelo *Paramyxovirus* Aviário tipo 1 (APMV-1), um vírus envelopado, de RNA de fita simples, que infecta aves domésticas e selvagens. Em galinhas, infecções pelas formas virulentas do vírus podem causar três manifestações clínicas distintas: viscerotrópica velogênica, provocando morte aguda, com lesões hemorrágicas intestinais; neurotrópica velogênica, com sinais clínicos neurológicos e respiratórios com alta mortalidade, usualmente sem manifestação intestinal; ou a forma mesogênica, de forma clínica semelhante à

anterior, porém com baixa mortalidade. A transmissão se dá pela eliminação do agente nas fezes e fluídos. É uma zoonose, causando infecções oculares, com eritema, lacrimação excessiva, edema de pálpebras, conjuntivite e hemorragia subconjuntival. As fontes de infecção para os humanos são os vírus vacinais ou através de conteúdo infectado de aves doentes (Alexander, 2003; Miller *et al.*, 2010).

Monitoramento e medidas de controle devem ser adotados acerca de estirpes virulentas (mesogênicas e lentogênicas) mesmo nos vários países onde são endêmicas, devido ao risco de provocarem grandes prejuízos para a avicultura comercial (Miller *et al.*, 2010). No Brasil, o PNSA estabelece normas de biossegurança, vacinação e sacrifício de animais portadores de APMV-1. O teste sorológico considerado padrão é a inibição da hemaglutinação (IH). O isolamento em ovo e a reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), são realizados para a detecção do vírus, sendo assim, os testes confirmatórios (Brasil, 2002). Para a confirmação da patogenicidade dos vírus isolados, os métodos do índice de patogenicidade intracerebral e, mais recentemente, a caracterização genética, são os mais utilizados (Alexander, 2003).

É uma doença de grande importância econômica para a avicultura mundial, sendo de notificação obrigatória junto à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE). Surtos da doença são ameaças constantes as criações de aves em todo o mundo (Gilchrist, 2005; Miller *et al.*, 2010). Pelo menos 241 espécies de aves, de 27 das 50 ordens existentes foram infectadas, natural ou experimentalmente, pelo APMV-1. Com isso, pode-se considerar a maioria das aves, são suscetíveis ao vírus (Leighton e Heckert, 2007).

Em cracídeos cativos no estado de Minas Gerais, foram detectados anticorpos contra o AVMP-1 pela técnica de IH, em 15,38% (20/130) das aves avaliadas. (Marques *et al.*, 2013).

Em uma avaliação sorológica para a pesquisa da doença de Newcastle em Pava Aliblanca (*Penelope albipennis*) no Peru, não foram detectados títulos de anticorpos pela técnica de IH (Cavero e Pralongo, 2011).

OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a sanidade, para etiologias selecionadas, do mutum-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e do mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*), mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais.

3.2. Objetivos específicos

Determinar a ocorrência do parasitismo por *Plasmodium* e das infecções por *Aviadenovirus*, *Chlamydophila psittaci*, *Clostridium perfringens*, *Mycoplasma gallisepticum* e *Salmonella* em mutum-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*), de cativeiro no estado de Minas Gerais.

Determinar a ocorrência de anticorpos para *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Alpharetrovirus* (Leucose Aviária), *Avibirnavirus* (Doença de Gumboro), *Gammaretrovirus* (Reticuloendoteliose Aviária), *Metapneumovirus* (Pneumovirus Aviário), *Orthoreovirus* (Reovirus Aviário) e *Paramyxovirus* Aviário sorotipo 1 –

APMV-1 (Doença de Newcastle) em mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*) de cativeiro no estado de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento do estudo

Foi realizado um estudo epidemiológico observacional longitudinal retrospectivo, de caráter descritivo, no período de outubro de 2011 a fevereiro de 2014, em criatórios de cracídeos, no estado de Minas Gerais, Brasil. As informações dos cracídeos foram coletadas em formulários próprios, elaborados para a presente pesquisa e, para a avaliação sanitária das aves, procedeu-se a coleta e a análise de amostras de material biológico dos cracídeos cativos, da área de estudo.

4.2. Locais e período de execução do projeto

As aves avaliadas foram amostradas na CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre, Contagem (Minas Gerais, Brasil), e no Criadouro de Aves Poços de Caldas, também localizado no estado de Minas Gerais.

A CRAX possui um grande plantel de espécies de aves brasileiras ameaçadas de extinção, e é um criadouro científico com fins de conservação. A maioria das espécies de aves trabalhadas pela CRAX tem seu *habitat* na Mata Atlântica ou no Cerrado. Possui aproximadamente 1500 aves com de cerca de 50 espécies diferentes, principalmente, das ordens Accipitriformes, Columbiformes, Galliformes, Psittaciformes e Tinamiformes. Para a maioria das espécies se obtém regularmente

a reprodução em cativeiro, gerando excedentes para reintrodução. As aves ficam em recintos de alvenaria e com piso de terra, em casais ou pequenos grupos de jovens. Possui assistência veterinária (mensal), exames sanitários anuais (exames coproparasitológicos, pesquisa do parasitismo por *Plasmodium* e das infecções por *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella* e *Paramyxovirus* Aviário sorotipo 1 – APMV-1) e realização de terapias preventivas anuais (terapia contra coccidioses e ectoparasitos, e vermifugação).

O Criadouro de Aves Poços de Caldas é um criadouro comercial e científico com fins de conservação e possui cerca de 4000 aves, de 325 diferentes espécies. As aves são mantidas em longos viveiros de alvenaria e piso de cimento, recintos abertos e lagos para Anseriformes silvestres e exóticos. As principais ordens presentes no criadouro são os Anseriformes, Columbiformes, Galliformes, Musophagiformes, Piciformes, Psittaciformes e Tinamiformes. As aves estão separadas em casais ou pequenos grupos nos recintos de criação. Mantém assistência veterinária constante, exames sanitários periódicos (exames coproparasitológicos, pesquisa das infecções por *Chlamydophila psittaci*, *Mycoplasma gallisepticum* e *Salmonella*) e realização de terapias preventivas semestrais (antibioticoterapia, terapia contra ectoparasitos e vermifugação).

As amostras coletadas foram processadas no Setor de Doenças das Aves, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV – UFMG); no Laboratório de Anaeróbios, DMVP, EV – UFMG; no Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias (DCCV) da EV – UFMG; no Laboratório de Genética, Departamento de Zootecnia, da EV –

UFMG; no Laboratório de Malária do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG; no Laudo Laboratório Avícola de Uberlândia, Minas Gerais; Laboratório AVIPA de Campinas, São Paulo; no Laboratório de Segurança Microbiológica em Alimentos – LSMA do Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA; e no Centro de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Laboratório de Enterobactérias (LABENT), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro.

As coletas das amostras biológicas foram realizadas entre outubro de 2011 a abril de 2013. As coletas foram realizadas durante o período de oito horas da manhã às dezoito horas (08:00 – 18:00). E o processamento das amostras foi realizado de outubro de 2011 a fevereiro de 2014.

4.3. Financiamento do projeto

O projeto foi aprovado no edital de Demanda Universal – 2010 da Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG), número do processo: APQ-00075-10 – Avaliação sanitária de cracídeos mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais.

4.4. Aspectos éticos

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG) registrado no protocolo 20/2009 (Anexo 1).

O projeto foi aprovado no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) com o protocolo 31108-1 (Anexo 2).

4.5. Aves avaliadas e obtenção das amostras

Foram coletadas amostras de sangue e *swabs* cloacais de mutuns-de-bico-vermelho e mutuns-do-nordeste em dois criatórios no estado de Minas Gerais. Os locais de coleta e a quantidade dos

indivíduos presentes estão nas Tabelas 1 e 2. As aves ficavam em casais ou em pequenos grupos (até 10 indivíduos da mesma espécie, no caso das aves jovens) nos recintos de criação.

Tabela 1: Número de indivíduos das espécies *Crax blumenbachii* e *Pauxi mitu* mantidos na CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre, Contagem, Minas Gerais, Brasil.

CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem	
Espécie	Total de indivíduos no criadouro
<i>Crax blumenbachii</i>	138
<i>Pauxi mitu</i>	151

Tabela 2: Número de indivíduos da espécie *Pauxi mitu* mantidos no Criadouro de Aves Poços de Caldas, Minas Gerais, Brasil.

Criadouro de Aves Poços de Caldas	
Espécie	Total de indivíduos no criadouro
<i>Pauxi mitu</i>	33

4.6. Formulário e identificação das amostras

Com o objetivo de identificar e obter informações dos cracídeos avaliados e amostrados, um formulário foi elaborado (Anexos 3 e 4), seguindo os seguintes critérios:

- Sigla da ave coletada: categorizado em PM (*Pauxi mitu*) e MS ou número (*Crax blumenbachii*);
- Nome científico;
- Nome popular;
- Número da anilha;
- Sexo: categorizado em macho e fêmea;
- Idade: categorizado em filhote, jovem ou adulto;
- Número do recinto;
- Local de origem;

No formulário de coleta para o mutum-do-nordeste (*Pauxi mitu*) constava ainda o critério:

- Puro ou Híbrido: devido o fato de indivíduos desta espécie possuírem hibridização com a espécie mutum-cavalo (*Pauxi tuberosa*).

4.7. Contenção das aves

As aves foram contidas fisicamente, com auxílio de puçás para realizar as capturas.

4.8. Coletas de sangue e swabs cloacais

Amostras de sangue, aproximadamente 3 mL, foram coletadas dos cracídeos por punção da veia ulnar com agulhas e seringas estéreis descartáveis. Imediatamente após a coleta foram confeccionados dois esfregaços sanguíneos por ave. Os esfregaços foram secos ao ar, fixados com metanol e corados com uma solução de Giemsa.

Das amostras de sangue, 20 µL foram adicionados em microtubos contendo 300 µL de solução de lise celular (Promega®, Madison, Wisconsin, EUA), ficando armazenadas refrigeradas (4°C) por dois dias para posterior extração do DNA total.

O restante do sangue coletado foi mantido em refrigeração (4°C/12 horas), e centrifugado para separação do soro, o qual foi distribuído em microtubos e armazenado congelado (-20°C) para posterior análise sorológica.

Foram coletados três swabs cloacais com hastes flexíveis estéreis por ave. Um swab foi colocado em microtubo contendo 400 µL de solução de NaI (iodeto de sódio; 6 Molar), e transportado em caixa isotérmica à temperatura ambiente, protegido de luz solar, até o laboratório. A amostra foi vigorosamente agitada em vórtex (cerca de 1 minuto), e a haste com o algodão foi retirada com auxílio de ponteira autoclavada, para posterior extração de DNA. O segundo swab foi acondicionado em tubo de ensaio contendo 10 mL de caldo seletivo selenito cistina para cultivo bacteriológico de *Salmonella*. O terceiro swab foi acondicionado em microtubo seco, e transportado em caixa isotérmica refrigerado, até o laboratório para o cultivo bacteriológico de *Clostridium perfringens*.

4.9. Necropsia e histopatologia

Os cracídeos que foram a óbito durante o período do estudo foram necropsiados segundo técnica descrita por Matushima (2007). Na necropsia foram coletados fragmentos de órgãos como fígado, baço, traqueia, pulmão, intestino e encéfalo, estes foram congelados a -20°C para posterior extração de DNA.

Após necropsia e avaliação macroscópica dos órgãos, foram coletadas amostras de baço, coração, bursa de Fabricius, sacos aéreos, proventrículo, fígado, rins, pulmão, traqueia, encéfalo e outros órgãos com lesões, as quais foram fixadas em formol tamponado a 10% por 48 horas, sendo substituído por álcool 70% após este período, até o processamento histopatológico.

Para análise histopatológica, as amostras foram desidratadas em séries crescentes de etanol, diafanizadas em xilol, incluídas em parafina para obtenção de cortes seriados de 4 µm de espessura, coradas pela hematoxilina e eosina e avaliadas em microscopia óptica.

4.10. Metodologias de diagnóstico utilizadas neste estudo para avaliação dos mutuns-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e dos mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*)

A Tabela 3 apresenta de forma resumida as principais metodologias de diagnóstico utilizadas neste estudo para avaliação dos mutuns-de-bico-vermelho e dos mutuns-do-nordeste. A escolha dos agentes pesquisados, no presente estudo, foi baseada em agentes de ocorrência e importância em Galliformes, e da disponibilidade dos exames nos laboratórios onde foram realizados os testes de diagnósticos.

Tabela 3: Metodologias de diagnóstico utilizadas neste estudo para avaliação dos mutuns-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e dos mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*).

Doença/Agente	Espécie	Amostra biológica	Método de diagnóstico	Referência	Laboratório
Malária aviária (<i>Plasmodium</i>)	<i>C. blumenbachii</i> e <i>P. mitu</i>	Sangue	Esfregaço sanguíneo, PCR e sequenciamento	Fallon <i>et al.</i> (2003) e Hellgren <i>et al.</i> (2004)	Laboratório de Malária – ICB
Adenovírus Aviário (<i>Aviadenovirus</i>)	<i>C. blumenbachii</i> e <i>P. mitu</i>	Swabs cloacais, sangue, traqueia e fígado	PCR, sequenciamento, necropsia e histopatologia	Meulemans <i>et al.</i> (2001)	Setor de Doenças das Aves e de Patologia Veterinária
Laringotraqueíte Infeciosa (<i>Iltovirus</i>)	<i>P. mitu</i>	Traqueia e fígado	PCR	Preis <i>et al.</i> (2013)	Laboratório de Patologia Veterinária
Clamidiofilose (<i>Chlamydophila psittaci</i>)	<i>C. blumenbachii</i> e <i>P. mitu</i>	Swabs cloacais	PCR	Sachse <i>et al.</i> (2009)	Setor de Doenças das Aves
Micoplasmose (<i>Mycoplasma gallisepticum</i>)	<i>C. blumenbachii</i> e <i>P. mitu</i>	Swabs cloacais	PCR	OIE <i>Terrestrial Manual</i> (2008)	Setor de Doenças das Aves
Clostridiose (<i>Clostridium perfringens</i>)	<i>C. blumenbachii</i> e <i>P. mitu</i>	Swabs cloacais	Isolamento bacteriano e PCR multiplex	Perelle <i>et al.</i> (1993), Meer <i>et al.</i> (1997) e Herholz <i>et al.</i> (1999)	Laboratório de Anaeróbios
Salmonelose (<i>Salmonella</i>)	<i>C. blumenbachii</i> e <i>P. mitu</i>	Swabs cloacais	Isolamento bacteriano e PCR	Galan <i>et al.</i> (1992), Rahn <i>et al.</i> (1992) e Oliveira <i>et al.</i> (2002), Brasil (2003), Andrews <i>et al.</i> (2011)	Setor de Doenças das Aves, LSMA– IMA, e LABENT – FIOCRUZ

Tabela 3 (Continuação): Metodologias de diagnóstico utilizadas neste estudo para avaliação dos mutuns-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) e dos mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*).

Doença/Agente	Espécie	Amostra biológica	Método de diagnóstico	Referência	Laboratório
Micoplasmose (<i>Mycoplasma gallisepticum</i>)	<i>P. mitu</i>	Soro	IH		Laudo Laboratório e AVIPA
Micoplasmose (<i>Mycoplasma synoviae</i>)	<i>P. mitu</i>	Soro	IH		Laudo Laboratório e AVIPA
Doença de Newcastle (<i>Paramyxovirus</i> Aviário sorotipo 1 – APMV-1)	<i>P. mitu</i>	Soro	IH		Laudo Laboratório e AVIPA
Doença de Gumboro (<i>Avibirnavirus</i>)	<i>P. mitu</i>	Soro	ELISA		Laudo Laboratório e AVIPA
Leucose Aviária (<i>Alpharetrovirus</i>)	<i>P. mitu</i>	Soro	ELISA		Laudo Laboratório e AVIPA
Pneumovirus Aviário (<i>Metapneumovirus</i>)	<i>P. mitu</i>	Soro	ELISA		Laudo Laboratório e AVIPA
Reovirus Aviário (<i>Orthoreovirus</i>)	<i>P. mitu</i>	Soro	ELISA		Laudo Laboratório e AVIPA
Reticuloendoteliose Aviária (<i>Gammaretrovirus</i>)	<i>P. mitu</i>	Soro	ELISA		Laudo Laboratório e AVIPA

4.11. Pesquisa de hemoparasitos

4.11.1. Extração e quantificação de DNA de amostras de sangue

As amostras de sangue armazenadas em microtubos contendo 300 µL de solução de lise celular (Promega®, Madison, Wisconsin, EUA), foram refrigeradas por dois dias para posterior extração de DNA, que foi realizada com o kit *Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega®, Madison, Wisconsin, EUA). O conteúdo foi vigorosamente homogeneizado e centrifugado a 14000 rpm por um minuto e 30 segundos. O sobrenadante foi descartado e adicionaram-se 300 µL de solução de lise celular. O mesmo processo era repetido até que o material precipitado ficasse limpo, em torno de duas a três repetições. Após o último descarte do sobrenadante, foram adicionados 20 µL de solução de lise nuclear e 1,5 µL de RNase. Após incubação do material a 37°C por 15 minutos em banho-maria, foram adicionados 100 µL de solução precipitadora de proteína. As amostras foram homogeneizadas por 30 segundos e centrifugadas a 14000 rpm por três minutos. O sobrenadante foi transferido para microtubos contendo 150 µL de isopropanol P.A. Os tubos foram invertidos por 30 vezes, até o aparecimento do DNA e centrifugados a 1400 rpm por um minuto. Após o descarte do sobrenadante, 150 µL de álcool 70% foram adicionados aos tubos, que foram invertidos por 15 vezes. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 14000 rpm por um minuto, o sobrenadante foi descartado e o excesso retirado em papel toalha descartável. Após a secagem em estufa a 37°C, o precipitado foi eluído em 35 µL de solução de reidratação de DNA (10 mM Tris-HCl, pH 7,4; 1 mM EDTA, pH 8,0) e estocado sob congelamento.

As amostras de DNA total extraídas foram analisadas e quantificadas por leitura em espectrofotômetro NanoDrop (Nanodrop ND – 1000, Thermo Scientific, Wilmington, DE, EUA) utilizando 1 µL da amostra de interesse.

4.11.2. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) de diagnóstico e confirmação em esfregaço sanguíneo para pesquisa de hemoparasitos

Para pesquisa de hemosporídeos, foi realizada a PCR para amplificação de uma região altamente conservada do gene SSU rRNA mitocondrial segundo Fallon *et al.* (2003). Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados foram:

343F: 5'- GCTCACGCATCGCTTCT - 3'

496R: 5'- GACCGGTCATTTTCTTTG - 3'

Na reação de amplificação, cada tubo recebeu 2 µL do “DNA - molde” e 13 µL de tampão de reação contendo: 10 mM Tris HCl, pH 8,5, 50 mM KCl; (Phoneutria®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil); 1,5 mM MgCl₂; 0,16 µM dNTP; 1 U Taq DNA polimerase (Phoneutria®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil); 0,2 mM de cada iniciador e água ultra pura estéril q.s.p.

O programa da amplificação em termociclador (Maxygene, Axygen®, EUA ou PT100, MJ Research®, EUA) consistiu em 30 ciclos de denaturação a 94°C por 1 minuto, seguida de anelamento a 62°C por 1 minuto, e extensão a 72°C por 1 minuto e 10 segundos. A denaturação inicial ocorreu a 94°C por 2 minutos, e a extensão final a 72°C por 3 minutos, finalizando com temperatura de 4°C. Os controles positivos utilizados nas reações de PCR

compreenderam de DNA genômico de *Plasmodium gallinaceum* obtidos de pintinhos experimentalmente infectados, cedidos pelo Laboratório de Entomologia Médica do Centro de Pesquisa René Rachou – CPqRR, Belo Horizonte. Os controles negativos foram amostras de DNA obtidas de pintinhos mantidos livres de infecção (SPF) na Escola de Veterinária da UFMG.

Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida 6%, não desnaturante, em tampão TBE 1X. O gel foi fixado em solução de álcool etílico 10% e ácido acético 0,5%, corado em solução de nitrato de prata e os fragmentos de DNA evidenciados em solução reveladora de hidróxido de sódio e formaldeído (Sanguinetti *et al.*, 1994).

Os esfregaços sanguíneos foram secos imediatamente ao ar, fixados em metanol e coradas com Giemsa (Valkiūnas, 2005). As lâminas das aves positivas à PCR foram avaliadas para confirmação do diagnóstico. Toda a lâmina foi avaliada em aumentos de 40X, e 100 campos microscópicos foram examinados em aumento de 100 e 400X. A parasitemia foi avaliada em 100 campos em aumento de 1000X.

4.11.3. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para sequenciamento

As amostras das aves positivas na PCR de diagnóstico foram submetidas à *nested*-PCR descrita por Hellgren *et al.* (2004), responsável por amplificar um fragmento do gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade b (*cyt-b*). Os *primers* utilizados foram:

HaemNFI:

5' - CATATATTAAGAGAAITATGGAG - 3'

HaemNR3:

5' - ATAGAAAGATAAGAAATACCATTTC - 3'

HaemF:

5' - ATGGTGCTTTTCGATATATGCATG - 3'

HaemR2:

5' - GCATTATCTGGATGTGATAATGGT - 3'

Para a primeira reação de amplificação, cada tubo recebeu 2 µL do “DNA -molde” e 23 µL de tampão de reação contendo 10 mM Tris HCl, pH 8,5, 50 mM KCl; (Phoneutria®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil); 1,5 mM MgCl₂; 0,125 mM dNTP; 5U Taq DNA polimerase (Phoneutria®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil); 0,4 mM dos iniciadores HaemNFI e HaemNR3 e água ultra pura estéril q.s.p.

O programa da primeira reação consistiu em 25 ciclos de denaturação a 94°C por 30 segundos, seguida de anelamento a 50°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 45 segundos. A denaturação inicial ocorreu a 94°C por 3 minutos e a extensão final a 72°C por 10 minutos, finalizando com temperatura de 4°C. Posteriormente, 3 µL do produto previamente amplificado foi misturado a 22 µL do tampão da segunda reação que é semelhante ao tampão da primeira reação, pela exceção de que os iniciadores utilizados foram o HaemF e HaemR2, na mesma concentração. A segunda reação consistiu em 30 ciclos de denaturação a 94°C por 30 segundos, seguida de anelamento a 50°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 45 segundos. A denaturação inicial ocorreu a 94°C por 3 minutos e a extensão final a 72°C por 10 minutos, finalizando com temperatura de 4°C. A revelação dos produtos ocorreu à mesma maneira da PCR de diagnóstico.

4.11.4. Purificação dos produtos da PCR com polietileno glicol (PEG)

O método utilizado para a purificação do DNA foi o descrito por Sambrook *et al.* (2001), com modificações. Aos produtos de duas *nested*-PCR (50 µL) foi adicionado igual volume de uma solução à 20% de PEG 8000 (Promega®, Madison, Wisconsin, EUA). Após agitação por 15 segundos, a mistura foi incubada por 15 minutos a 37°C, e centrifugada por 15 minutos a 13000 g. O sobrenadante foi retirado cuidadosamente com auxílio de pipeta e descartado. Sobre o sedimento foram adicionados lentamente, e pelas paredes do tubo, 125 µL de etanol 80%. Após a lavagem do sedimento e centrifugação por 5 minutos, a lavagem foi repetida. Após descartar o sobrenadante por inversão, o tubo foi incubado a 37°C para secagem do etanol. Foram adicionados 15 µL de água Milli-Q estéril e o sedimento foi suspenso por pipetagem. Parte do DNA purificado (2 µL) foi visualizado em luz UV após eletroforese em gel de agarose 1,5%, em tampão de corrida TBE 0,5X e o restante foi conservado a -20°C até sua utilização.

4.11.5. Reação de sequenciamento e análise filogenética

O DNA purificado foi sequenciado pelo método de dideoxinucleotídeos (Sanger *et al.*, 1997) em sequenciador automático capilar ABI 310 (Perkin Elmer®, EUA), utilizando o kit *Big Dye Terminator Mix* (Applied Biosystems®, EUA), de acordo com as condições de reação e leitura indicadas pelo fabricante. Aproximadamente 2 µL do produto de PCR purificado foi utilizado em cada reação, adicionando 1 µL dos iniciadores HaemF e HaemR2 na concentração de 10 pmol em microtubos separados, 1 µL de *Big Dye*, 1,5 µL de tampão *Save Money* (Applied

Biosystems®, EUA) e água Milli-Q estéril em quantidade suficiente para 10 µL. Esta reação foi feita em termociclador (PTC-100, MJ Research®, Inc., EUA), utilizando o seguinte ciclo: denaturação a 96°C por 15 segundos, anelamento do iniciador a 50°C por 15 segundos, extensão a 60°C por 4 minutos, sendo esse ciclo repetido por 30 vezes. Em seguida, o produto da reação de sequenciamento foi purificado por precipitação utilizando isopropanol e etanol e homogeneizado em formamida, sendo então feita a denaturação rápida a 95°C por 2 minutos e colocado no gelo imediatamente. Os produtos foram sequenciados no Laboratório de Genética do Departamento de Zootecnia, da EV – UFMG.

A qualidade dos eletroferogramas gerados foi verificada através do programa Sequencher 4.10.1, onde as sequências foram alinhadas. O sequenciamento foi feito pelo programa *Sequencing Analyses* versão 5.2 da *Applied Biosystems*. O dendograma foi construído pelo método de “neighbor-joining”, usando o modelo de substituição de nucleotídeos Tamura-Nei, implementado no programa MEGA5 *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (www.megasoftware.net) (Tamura *et al.*, 2012). Os números representam os valores de Bootstrap (1000 reamostragens) em que valores >70 são considerados confiáveis (Tamura *et al.*, 2012).

4.12. Extração e quantificação do DNA de swabs cloacais e tecidos

A extração de DNA do *swab* cloacal e dos tecidos foi realizada segundo Boom *et al.* (1990) com modificações por Caxito *et al.* (2006). Cerca de 300 mg (ou 300 µL) do material bruto (ou órgão previamente macerado) foram adicionados com 300 µL de solução NaI em um microtubo. Esta mistura foi incubada a 55°C por 30

minutos, sofreu leve agitação a cada 10 minutos, seguido de centrifugação por 4 minutos a 5000 rpm. O líquido (NaI + DNA) foi então coletado com pipeta e transferido para outro microtubo contendo 50 µL de suspensão de sílica. O material foi homogeneizado com o auxílio de um vórtex, e, posteriormente, incubado em agitador por 10 minutos à temperatura ambiente (25°C). Os microtubos foram centrifugados por 30 segundos a 14000 rpm e o sobrenadante foi descartado por inversão do tubo. O sedimento foi lavado com 1 mL de tampão de lavagem mantida a -20°C (etanol absoluto; 1M Tris-HCl pH 8,0; 0,5M EDTA pH 8,0; água Milli-Q estéril) e após centrifugação por 30 segundos a 14000 rpm, o sobrenadante foi descartado. Este processo de lavagem foi realizado por três vezes. Ao sedimento lavado foi adicionado 1 mL de acetona P.A. (-20°C) e, após homogeneização no vórtex e centrifugação por 30 segundos a 14000 rpm, o sobrenadante foi descartado e o resíduo de acetona evaporado do sedimento mantido a 50°C por 10 minutos. O DNA aderido à sílica (sedimento) foi eluído em 70 µL de TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0; 1 mM EDTA pH 8,0) e incubado a 50°C por 10 minutos. O tubo foi centrifugado por 2 minutos a e o sobrenadante (DNA total) foi transferido para outro microtubo e estocado a -20°C até o uso.

As amostras de DNA total extraídas foram analisadas e quantificadas por leitura em espectrofotômetro NanoDrop (Nanodrop ND – 1000, Thermo Scientific, Wilmington, DE, EUA) utilizando 1 µL da amostra de interesse.

4.13. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Adenovírus Aviário (*Adenoviridae* – *Aviadenovirus*)

Para a detecção do *Aviadenovirus* foi utilizado DNA obtido a partir de amostras de sangue e *swabs* cloacais das aves vivas, e de fragmentos de fígado e traqueia das aves necropsiadas. Os nucleotídeos iniciadores utilizados para o diagnóstico e para o sequenciamento, de acordo com Meulemans *et al.* (2001), responsável por amplificar um produto de 897 pb, correspondente a proteína Hexon do vírus, foram:

F: 5' - CAAGTTCAGGCAGACGGT - 3'

R: 5' - TAGTGATGCCGCGACATCAT - 3'

Uma alíquota de 1 µL de cada amostra de DNA total foi utilizada como molde na reação de amplificação, com volume final de 50 µL contendo: 200 ng de DNA, 10 µL de tampão 5X (200 mM Tris-HCl pH 8,4, 500 mM KCl – Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 3 µL de dNTP a 10 mM (dATP, dTTP, dCTP e dGTP - Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 5 µL de MgCl₂ a 50 mM (Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 1 µL de cada primer a 125 pmol, 0,2 µL de Taq Polimerase a 5 U/µL (Platinum Taq DNA Polymerase – Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA) e água ultra pura q.s.p.

A reação de PCR específica foi realizada em termociclador (Axygen® - Maxygene, EUA). As condições de amplificação foram de um ciclo inicial de denaturação a 94°C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos de denaturação a 94°C por 2 minutos, anelamento a 60°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto, além de uma extensão final a 72°C por 2 minutos. O FAdV-1 estirpe Phelps (fornecido por Dra. Jane K.

A. Cook), foi usado como controle positivo nas reações. Como controle negativo da reação, foram utilizados os *primers* juntamente com os reagentes e água ultrapura.

A visualização dos resultados das ampliações foi realizada por eletroforese em gel de agarose. Em cada 8 µL do produto amplificado, foram adicionados 2 µl do tampão corante de amostra (60% de glicerol, 10% de TBE 10X e azul de bromofenol) na concentração de 5X, e essa mistura foi aplicada em gel de agarose a 2%. A eletroforese ocorreu a 100 V em tampão TBE 0,5X (100 mM Tris-base pH 8,3, 25 mM EDTA e 50 mM ácido bórico), utilizando o padrão molecular de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA). Posteriormente à corrida, o gel foi corado com solução de brometo de etídeo na concentração de 0,5 µg/µL e os resultados revelados com o auxílio de um transiluminador UV.

4.13.1. Diagnóstico diferencial entre Adenovírus Aviário (*Adenoviridae* – *Aviadenovirus*) e Laringotraqueíte Infeciosa GaHV1 (*Herpesviridae* – *Iltovirus*)

Os *primers* utilizados para detecção do vírus da Laringotraqueíte Infeciosa (LTI) GaHV1, para um produto de 237 pares de base, correspondente a uma região diploide do gene ICP4 do vírus da LTI (Preis *et al.*, 2013), foram:

F: 5' - CCTTGGTTCGGGATGAAACC - 3'

R: 5' - TTCATTACCTCCAGCGGTTCC - 3'

A reação de PCR foi feita com o PCR Master Mix (Promega®, Madison,

Wisconsin, EUA), de acordo com as recomendações do fabricante, para um volume de 25 µl, utilizando-se uma quantidade de amostra em torno de 200 ng e 0,02 nmol de cada *primer*.

A reação de PCR específica foi realizada em termociclador (Axygen® - Maxygene, EUA). Utilizou-se o seguinte programa para amplificação: 4 minutos a 94°C para denaturação; 35 ciclos de 20 segundos a 94°C, 40 segundos a 54°C e 1 minuto a 72°C. O produto foi analisado pelo sistema de eletroforese em cuba horizontal em gel de agarose a 1,5% contendo 1X de tampão tris-borato-EDTA e 2 µl de brometo de etídeo a 130 V por 40 minutos. A visualização dos fragmentos amplificados foi feita por transiluminação do gel em luz ultravioleta. O tamanho dos fragmentos amplificados foi comparado a um padrão de peso molecular (LowRanger 100 bp DNA Ladder – Norgen®, Thorold, Ontário, Canadá) disposto no gel juntamente com as amostras analisadas. Como controle negativo da reação, foram utilizados os *primers* juntamente com o PCR Master Mix e água ultrapura.

4.13.2 Reação de sequenciamento e análise filogenética

O sequenciamento foi feito no Laboratório de Genética da EV – UFMG. Os produtos amplificados foram submetidos a um processo de sequenciamento pelo método de dideoxinucleotídeos, descrito por Sanger *et al.* (1997), em um sequenciador automático capilar (ABI 310, Applied Biosystems®, EUA), utilizando o kit *Big Dye Terminator Mix* (Applied Biosystems®, EUA), de acordo as condições de reação e leitura indicadas pelo fabricante. Aproximadamente 1 µL do produto de PCR purificado foi utilizado em cada reação de sequenciamento, adicionando 1 µL de cada iniciador na

concentração de 10 µmol, 2 µl de *Big Dye*, 1,5 µl de tampão *Save Money* (Applied Biosystems®, EUA) e água milliQ em quantidade suficiente para 10 µl. A reação de sequenciamento foi feita em termociclador (PTC-100, MJ Research®, Inc., EUA), utilizando o seguinte ciclo: denaturação a 96°C por 15 segundos, anelamento do iniciador a 50°C por 15 segundos, extensão a 60°C por 4 minutos, sendo esse ciclo repetido por 30 vezes. Em seguida, o produto da reação de sequenciamento foi purificado por precipitação utilizando isopropanol e etanol e homogeneizado em formamida, sendo então feita a denaturação rápida a 95°C por 2 minutos e colocado no gelo imediatamente.

O sequenciamento foi feito pelo programa *Sequencing Analyses* versão 5.2 da *Applied Biosystems*. O dendograma foi construído pelo método de “neighbor-joining”, usando o modelo de substituição de nucleotídeos Tamura-Nei, implementado no programa *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (www.megasoftware.net) MEGA5 (Tamura *et al.*, 2012). Os números representam os valores de Bootstrap (1000 reamostragens) em que >70 são considerados confiáveis (Tamura *et al.*, 2012).

4.14. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Clamidiofilose (*Chlamydomphila psittaci*)

Para realização do PCR de diagnóstico para *Chlamydomphila psittaci*, foram utilizados oligonucleotídeos iniciadores descritos por Sachse *et al.* (2009) que amplificam um produto de 418 pares de base, referente a proteína da membrana externa (gene *ompA*):

F: 5'- ACTACGGAGATTATGTTTTTCGATCGTGT - 3'

R: 5'- ACGAATTCTAGGTTCTGATAGCGGGAC - 3'

Uma alíquota de cada amostra de DNA total, obtida de *swab* cloacal, foi utilizada como molde na reação de amplificação, com volume final de 20 µL contendo: 200 ng de DNA, 2 µL de tampão 10X (200mM Tris-HCl pH8,4, 500mM KCl – Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 1 µL de dNTP 10mM (dATP, dTTP, dCTP e dGTP – Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 1 µL de MgCl₂ 50mM (Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 1 µL de cada iniciador externo a 10 Mmol, 0,1 µL de Taq Polimerase 5 U/µL (Phoneutria®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) e água ultra pura q.s.p.

As reações de PCR foram realizadas em termociclador (Axygen® - Maxygene, EUA). As condições de amplificação foram de um ciclo inicial de denaturação a 96°C por 60 segundos, seguida por 40 ciclos de denaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 51°C por 60 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos, além de uma extensão final a 72°C por 4 minutos. Para cada ensaio foi utilizado como controle positivo o DNA extraído de amostra de tecido de ave com diagnóstico para *C. psittaci* confirmado em outros laboratórios. Como controle negativo da reação, foram utilizados os *primers* juntamente com os reagentes e com água ultrapura.

A análise dos resultados das amplificações foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídeo 10 mg/mL e revelado em luz UV. Em 10 µL de cada produto amplificado, foram adicionados 3 µL do tampão corante (60% de glicerol, 10% de TBE 10X e azul de bromofenol) de amostra a 2X. Essa mistura foi aplicada em gel de agarose a 1% e submetida à eletroforese a 100 V em tampão TBE 0,5X (100 mM Tris-base pH 8,3, 25 mM EDTA e 50 mM ácido bórico).

4.15. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Micoplasmose (*Mycoplasma gallisepticum*)

O protocolo para PCR de *Mycoplasma gallisepticum* utilizado foi o descrito pela Organização Mundial da Saúde Animal – OIE (OIE *Terrestrial Manual*, 2008). Os *primers* utilizados na reação para um produto de 185 pb foram:

F: 5'- GAGCTAATCTGTAAAGTTGGTC - 3'

R: 5'- GCTTCCTTGCGGTTAGCAAC - 3'

Para a reação da PCR as concentrações dos reagentes na mistura foram: 1,0 µL de DNA total, obtida de *swab* cloacal, 2,5 µL de tampão de PCR (10X), 1,0 µL MgCl₂ (50 mM), 1,0 µL de cada oligonucleotídeo, 0,2 µL de desoxirribonucleotídeos fosfatados, 0,25 µL de Taq DNA Polimerase (5 U/µL) e água Milli-Q estéril para um volume final de 25,0 µL.

A reação de PCR específica foi realizada em termociclador (Axygen® - Maxygene, EUA). Na amplificação da reação foram utilizadas as condições do protocolo da OIE (2008) com adaptações, sendo: fase de denaturação, 94°C durante 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 94°C a 30 segundos para a denaturação da fita de DNA, 55°C por 30 segundos para a hibridização dos oligonucleotídeos, e 72°C por 60 segundos para a extensão das fitas, e por fim, extensão final a 72°C a 5 minutos, seguido de resfriamento a 4°C. A vacina MG-70 (Myc-Galli MG70, Biovet®, Vragem Grande Paulista, São Paulo, Brasil) foi reconstituída e utilizada como controle positivo de *M. gallisepticum*. Como controle negativo da reação, foram utilizados os *primers* juntamente com os reagentes e com água ultrapura.

A análise dos resultados das amplificações foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídeo 10 mg/mL e revelado em luz UV. Em 10 µL de cada produto amplificado, foram adicionados 3 µL do tampão corante (60% de glicerol, 10% de TBE 10X e azul de bromofenol) de amostra a 2X. Essa mistura foi aplicada em gel de agarose a 1% e submetida à eletroforese a 100 V em tampão TBE 0,5X (100 mM Tris-base pH 8,3, 25 mM EDTA e 50 mM ácido bórico).

4.16. Isolamento e genotipagem de *Clostridium perfringens*

Para o isolamento de *Clostridium perfringens*, os *swabs*, mantidos refrigerados a seco até o momento do uso, foram estriados em Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS, Difco Laboratories, Detroit, EUA). As placas foram incubadas em ambiente de anaerobiose a 37°C por 24 horas. Posteriormente, colônias negras, decorrente de reação sulfito redutora, foram coletadas com alças microbiológicas estéreis e suspensas em 400 µL de água Milli-Q estéril. O DNA foi extraído termicamente a 98°C, por 20 minutos, sem posterior purificação, segundo Baums *et al.* (2004). As amostras de DNA foram estocadas a 4°C até a realização da PCR.

Genes codificantes da toxina beta-2 (*cpb2*), enterotoxina (*cpe*) e as principais toxinas de *C. perfringens* (alfa, beta, épsilon e iota) foram pesquisados por uma PCR multiplex de acordo com Vieira *et al.* (2008). Como controles positivos das reações foram utilizados as seguintes amostras de referência, cedidas pelo *American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, Maryland, EUA): *C. perfringens* tipo A (ATCC 3624), *C. perfringens* tipo B (ATCC 3626), *C. perfringens* tipo C (ATCC 3628), *C. perfringens* tipo D (ATCC 3629) e *C. perfringens* tipo E

(ATCC 27324). Na reação de amplificação, cada tubo recebeu uma mistura de tampão de 25 µL, contendo: 10 mM Tris HCl, pH 8,5, 50 mM KCl – Phoneutria®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil); 1,5 mM MgCl₂; 0,2 mM dNTP; 5 U Taq DNA polimerase (Phoneutria®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil); 0,5 µM de cada iniciador; 5 µL de DNA extraído e água Milli-Q estéril autoclavada em q.s.p.

O programa das amplificações da PCR multiplex consistiu em uma denaturação inicial a 95°C, por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de denaturação, anelamento e extensão (95°C por 1 minuto, 48°C por 1

minuto, 72°C por 1 minuto). A extensão final a 72°C foi de 10 minutos. As amplificações foram realizadas em termociclador automatizado (Veriti 96 Well Thermal Cycler – Applied Biosystems®, Foster City, CA, EUA).

Para a análise, 10 µL dos produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose 2% (Sigma-Aldrich®, Saint Louis, EUA), corados com brometo de etídeo (10 mg/mL), submetidos à eletroforese e visualizados em luz UV. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados na PCR multiplex estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4: Iniciadores utilizados na PCR Multiplex para tipificação de *Clostridium perfringens*.

Toxina (Genes)	Sequência	Tamanho do fragmento	Referência
Alfa (<i>cpa</i>)	F - 5` -GCTAATGTTACTGCCGTTGA- 3` R - 5` -CCTCTGATACATCGTGTAAG- 3`	324 bp	Meer <i>et al.</i> , 1997
Beta (<i>cpb</i>)	F - 5` -GCGAATATGCTGAATCATCTA- 3` R - 5` -GCAGGAACATTAGTATATCTTC- 3`	196 bp	Meer <i>et al.</i> , 1997
Epsilon (<i>etx</i>)	F - 5` -GCGGTGATATCCATCTATTC- 3` R - 5` -CCACTTACTTGTCTACTAAC- 3`	655 bp	Meer <i>et al.</i> , 1997
Iota (<i>iA</i>)	F - 5` -TTTTAACTAGTTCATTTCTAGTTA- 3` R - 5` -TTTTGTATTCTTTTCTCTAGATT- 3`	298 bp	Perelle <i>et al.</i> , 1993
Enterotoxina (<i>cpe</i>)	F - 5` -GGAGATGGTTGGATATTAGG- 3` R - 5` -GGACCAGCAGTTGTAGATA- 3`	233 bp	Meer <i>et al.</i> , 1997
Beta2 (<i>cpb2</i>)	F - 5` -GAAAGGTAATGGAGAA- 3` R - 5` -GCAGAATCAGGATTTT- 3`	573 bp	Herholz <i>et al.</i> , 1999

4.17. Isolamento e classificação de *Salmonella*

4.17.1. Isolamento bacteriano de *Salmonella*

O cultivo bacteriano para isolamento de *Salmonella* foi realizado seguindo as metodologias descritas por Andrews *et al.* (2011) e Brasil (2003). Os *swabs* cloacais coletados foram armazenados em 10 mL do meio caldo seletivo selenito cistina (S-C) (Selenito Cistina, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia), e foram mantidos a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas. O caldo S-C, após a incubação, foi semeado em meio ágar sólido *Salmonella-Shigella* (SS) (BD *Salmonella Shigella* Agar, Becton, Dickinson and Company, Heidelberg, Alemanha) com uma alça bacteriológica de platina com haste circular de 5 mm de diâmetro. As placas contendo os meios sólidos foram incubadas a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas.

As colônias características de *Salmonella* isoladas foram inoculadas em tubos contendo o meio Rugai modificado (Renylab Quim. Farm. LTDA, Minas Gerais, Brasil) por Pessôa e Silva (1972), que permite a identificação presumtiva de enterobactérias. Após incubação do meio a 37°C em estufa bacteriológica por 18 horas foram analisadas as propriedades de produção de indol na tampa de algodão, LTD (produção de L-triptofano-desaminase) e utilização da sacarose no bisel. No corpo, fermentação da glicose, produção de gás, produção de H₂S e produção de urease. Abaixo do anel de Vascar, a descarboxilação da lisina e da motilidade. A interpretação do meio Rugai modificado por Pessôa e Silva foi realizada com o auxílio de uma tabela de leitura e interpretação do meio (Renylab Quim. Farm. LTDA, Minas Gerais, Brasil).

4.17.2. Identificação bioquímica de *Salmonella* em sistema automatizado

As bactérias classificadas como *Salmonella* foram semeadas em ágar sangue, e após incubação do meio a 37°C em estufa por 18 horas, as placas foram encaminhadas para um sistema automatizado de identificação bioquímica de Enterobactérias, o VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA) para confirmação do isolamento da amostra, no Laboratório de Segurança Microbiológica em Alimentos – LSMA do Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA.

4.17.3 Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para *Salmonella*

O DNA das colônias características e identificadas como *Salmonella* foi extraído termicamente a 98°C, por 20 minutos, sem posterior purificação, segundo Baums *et al.* (2004). As amostras de DNA foram estocadas a 4°C até a realização da PCR.

Os nucleotídeos iniciadores utilizados para a detecção de *Salmonella*, responsável por amplificar um produto de 284 pb, correspondente a *Salmonella* Invasion Gene A (InvA), de acordo com Galan *et al.* (1992), Rahn *et al.* (1992) e Oliveira *et al.* (2002), foram:

F: 5'- GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGGCAA - 3'

R: 5'- TCATCGCACCGTCAAAGGAACC - 3'

Uma alíquota de 5 µL de cada amostra de DNA total foi utilizada como molde na reação de amplificação, com volume final de 50 µL contendo: 10 µL de tampão 5X (200 mM Tris-HCl pH 8,4, 500 mM KCl – Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 1 µL de dNTP a 10 mM (dATP, dTTP, dCTP e dGTP – Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA),

4 µL de MgCl₂ a 25 mM (Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA), 1 µL de cada primer a 10 pmol, 0,3 µL de Taq Polimerase a 5 U/µL (Platinum Taq DNA Polymerase – Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA) e água Milli-Q autoclavada q.s.p.

A reação de PCR específica foi realizada em termociclador (Axygen® - Maxygene, EUA). As condições de amplificação foram de um ciclo inicial de denaturação a 94°C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos de denaturação a 94°C por 1 segundo, anelamento a 55°C por 1 segundo e extensão a 72°C por 21 segundos, além de uma extensão final a 72°C por 7 minutos. Um controle positivo foi utilizado a partir de uma amostra de referência de *Salmonella* caracterizada no LABENT – FIOCRUZ. Como controle negativo da reação, foram utilizados os *primers* juntamente com os reagentes e com água ultrapura.

A visualização dos resultados das amplificações foi realizada por eletroforese em gel de agarose. Em cada 8 µL do produto amplificado, foram adicionados 2 µL do tampão corante de amostra (60% de glicerol, 10% de TBE 10X e azul de bromofenol) na concentração de 5X, e essa mistura foi aplicada em gel de agarose a 2%. A eletroforese ocorreu a 100 V em tampão TBE 0,5X (100 mM Tris-base pH 8,3, 25 mM EDTA e 50 mM ácido bórico), utilizando o padrão molecular de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen®, Carlsbad, CA, EUA). Posteriormente à corrida, o gel foi corado com solução de brometo de etídeo na concentração de 0,5 µg/mL e os resultados revelados com o auxílio de um transiluminador UV.

4.17.4. Diagnóstico antigênico conclusivo de *Salmonella*

As estirpes de *Salmonella* isoladas foram inoculadas e mantidas em meio Lignières à temperatura ambiente (25°C). As bactérias, bioquimicamente caracterizadas como *Salmonella* foram submetidas ao diagnóstico antigênico conclusivo, somático (O), flagelar (H) e (Vi) por detecção dos antígenos somáticos e flagelares, utilizando-se antissoros polivalentes e monovalentes, com ou sem indução de fases flagelares. Este diagnóstico foi realizado no Centro de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Laboratório de Enterobactérias (LABENT), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro.

4.18. Avaliações sorológicas por ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*)

Foram utilizados kits de ELISA da IDEXX (IDEXX Laboratories®, Inc., EUA) para a detecção de anticorpos contra as seguintes doenças (Tabela 5): Doença de Gumboro, Leucose Aviária, Pneumovirus Aviário, Reovirus Aviário e Reticuloendoteliase Aviária. Os testes de ELISA foram realizados no Laudo Laboratório Avícola de Uberlândia, Minas Gerais, e no Laboratório AVIPA de Campinas, São Paulo. A metodologia dos testes foi realizada de acordo com as instruções do fabricante.

Tabela 5: Testes utilizados para avaliações sorológicas dos mutuns-de-bico-vermelho (*C. blumenbachii*) e mutuns-do-nordeste (*P. mitu*), mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, no período de 2011 a 2014.

Doença	Kit de ELISA comercial
Doença de Gumboro	IDEXX® IBD Ab Test
Leucose Aviária	IDEXX® ALV Ab Test, IDEXX® ALV-J Ab Teste IDEXX® ALV Ag Test
Pneumovirus Aviário	IDEXX® APV Ab Test
Reovirus Aviário	IDEXX® REO Ab Test
Reticuloendoteliose Aviária	IDEXX® REV Ab Test

4.19. Teste de inibição da hemaglutinação para doença de Newcastle – *Paramyxovirus* Aviário sorotipo 1 (APMV-1)

O teste de inibição da hemaglutinação (IH) foi realizado de acordo com o Programa Nacional de Sanidade Avícola – PNSA (Brasil, 2002). Para o teste de IH, a estirpe La Sota do APMV-1 (New Vacin La Sota – Biovet®, Brasil) foi utilizada após a inativação por β -propiolactona. Foram utilizadas microplacas (fundo em “u”) de 96 orifícios e hemácias frescas de galinhas adultas sadias (SPF), coletadas com seringas estéreis e com anticoagulante citrato de sódio a 4,5% e lavadas três vezes em PBS (pH 7,2). A suspensão viral utilizada na técnica de IH foi titulada pelo teste da hemaglutinação (HA), imediatamente antes da execução da prova de IH, e calculada a diluição para conter 4 unidades hemaglutinantes (UHA). Os soros testados foram diluídos previamente em PBS nas placas de 96 orifícios (50 μ L/orifício), nas diluições de 1:2 a 1:4096. As amostras de soro foram testadas em duplicata. 50 μ L de uma suspensão do vírus contendo 4 UHA foram adicionados a cada diluição do soro. Após uma hora de incubação à temperatura ambiente (25°C), foram adicionados 50 μ L de uma suspensão de hemácias a 1%. Em cada prova foram

utilizados soros controles positivo e negativo, e a retrotitulação do antígeno para a confirmação de 4 UHA. A placa foi incubada por uma hora à temperatura ambiente (25°C) e o título foi expresso como a recíproca da maior diluição que inibiu completamente a hemaglutinação. A ave foi considerada negativa onde não houve a formação de botão, ocorrendo a hemaglutinação. A ave foi considerada positiva onde houve a formação de botão, não ocorrendo a hemaglutinação.

4.20. Testes de inibição da hemaglutinação para *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*

Todos os soros foram submetidos à prova de inibição da hemaglutinação (IH) para detecção de anticorpos contra *M. gallisepticum* e *M. synoviae*. Os testes foram realizados de acordo com o PNSA (Brasil, 2001). O antígeno utilizado nessa prova e no IH foi produzido pelo laboratório LAUDO em Uberlândia, Minas Gerais, a partir de isolados padrões de *M. gallisepticum* e *M. synoviae*. Para o título de anticorpos foi considerada a recíproca da maior diluição capaz de inibir completamente a hemaglutinação. Em cada prova foram utilizados soros controles positivos e negativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Número de aves avaliadas

Foram coletadas amostras de sangue e *swabs* cloacais de 138 mutuns-de-bico-vermelho (*C. blumenbachii*) e de 167

mutuns-do-nordeste (*P. mitu*). Na CRAX, 100% das aves presentes no criadouro foram avaliadas, enquanto que no Criadouro de Aves Poços de Caldas, 48,5% do total de aves presentes foram avaliadas. As Tabelas 6 e 7 apresentam as informações do número de aves avaliadas em cada criadouro.

Tabela 6: Aves avaliadas na CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre, Contagem, Minas Gerais, Brasil.

CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem		
Espécie	Total de aves no criadouro	% de aves avaliadas
<i>Crax blumenbachii</i>	138	100%
<i>Pauxi mitu</i>	151	100%

Tabela 7: Aves avaliadas no Criadouro de Aves Poços de Caldas, Minas Gerais, Brasil.

Criadouro de Aves Poços de Caldas		
Espécie	Total de aves no criadouro	% de aves avaliadas
<i>Pauxi mitu</i>	33	48,5% (16 aves)

5.2. Malária aviária

Do total de 305 aves avaliadas quanto à presença de *Plasmodium*, vinte (6,55% - 20/305) foram positivas na PCR e na leitura da lâmina em microscopia óptica em 1000X. Somente foi realizada a leitura da lâmina das aves positivas na PCR. Das aves positivas, 19 eram mantidas na CRAX, e apenas uma (espécie *P. mitu*) mantida no Criadouro de Aves Poços de Caldas.

Os resultados para mutum-de-bico-vermelho revelaram oito (5,79% - 8/138 aves) aves positivas para *Plasmodium* na PCR e na leitura da lâmina em microscopia óptica em 1000X.

Em mutum-do-nordeste, doze aves (7,18% - 12/167) foram positivas para *Plasmodium* na PCR e na leitura da lâmina em microscopia óptica em 1000X.

A parasitemia foi baixa na maioria das aves (3-5 parasitos / 100 campos microscópicos avaliados). A forma visualizada nos esfregaços foram trofozoítos jovens (Figura 4). Merontes e gametócitos não foram observados em eritrócitos, sugerindo que os mutuns apresentavam-se em fase crônica da infecção (Valkiūnas *et al.*, 2008). Consequentemente, a ausência das diferentes formas eritrocíticas em frequência suficiente, impossibilitou a

classificação das espécies de *Plasmodium* pela avaliação morfológica.

Diferentemente do presente estudo, em uma avaliação para pesquisa de hemoparasitos em mutuns-do-nordeste (*P. mitu*), mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, Brasil, por análise microscópica de esfregaço sanguíneo, não foram encontradas estruturas morfológicas compatíveis com hemoparasitos em nenhuma das amostras (Raso, 2010). No

presente trabalho, a utilização de duas técnicas para diagnóstico, pesquisa do parasito em esfregaço sanguíneo e a detecção do genoma em PCR, aumentou a sensibilidade para pesquisa de hemoparasitos. A discrepância entre os resultados sobre a ocorrência de hemoparasitos em *P. mitu* pode ter ocorrido devido à avaliação de lâminas de esfregaço sanguíneo ser de baixa sensibilidade em infecções crônicas, ou ao pequeno ou ausente número de eritrócitos infectados nos campos avaliados (Valkiūnas *et al.*, 2008).

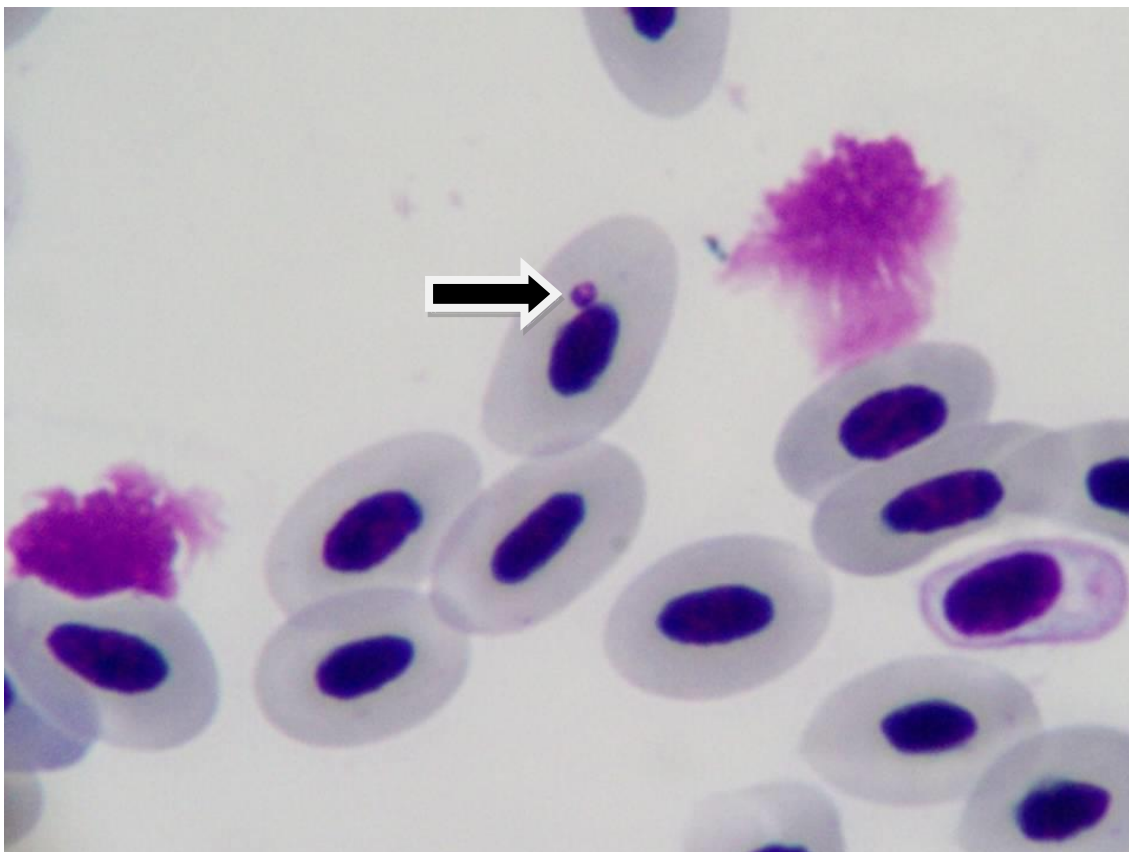


Figura 4. Trofozoíto jovem (seta) visualizado no interior de uma hemácia no esfregaço sanguíneo de mutum-do-nordeste (*P. mitu*) em microscopia óptica em 1000X.

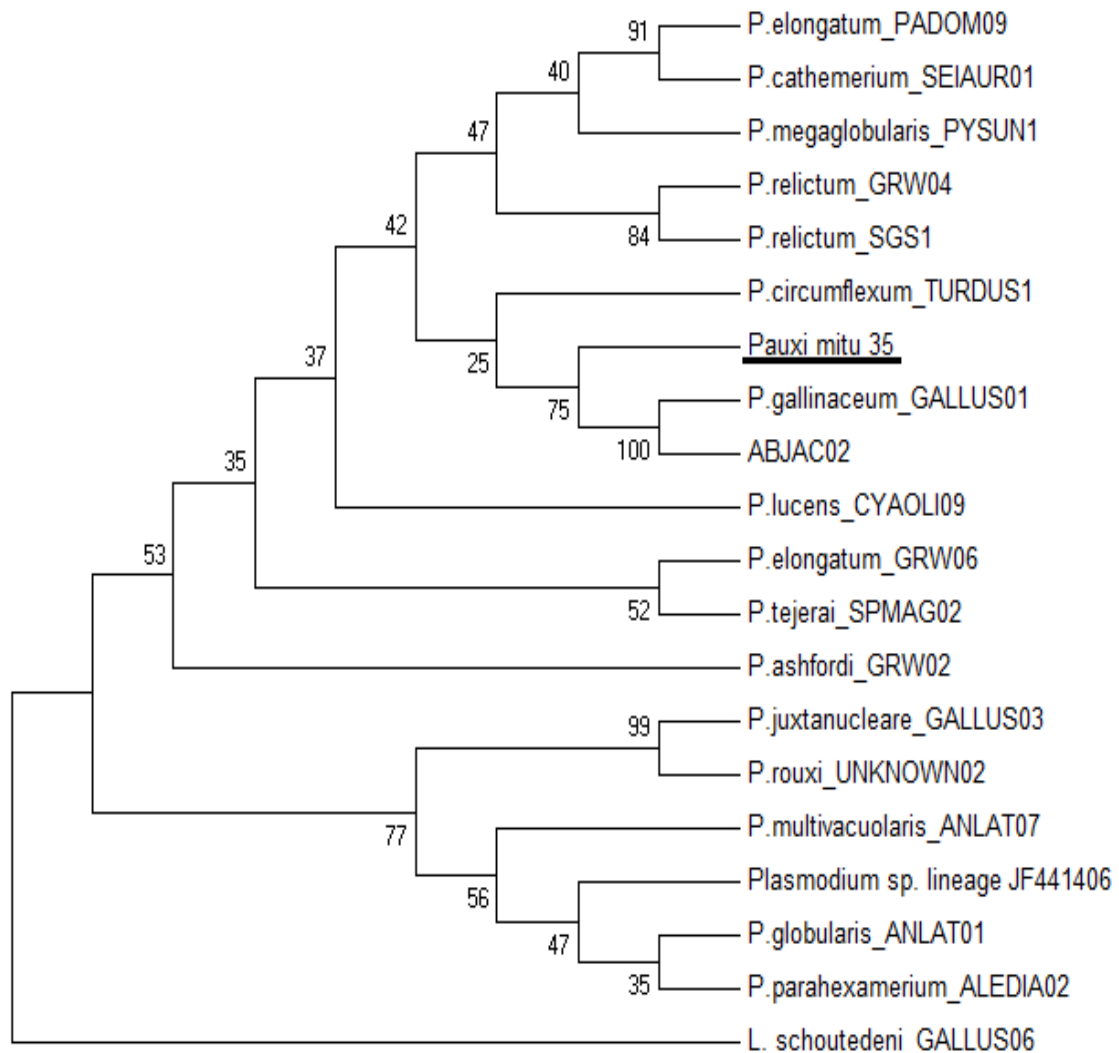


Figura 5. Árvore filogenética (máxima verossimilhança) utilizando morfoespécies de *Plasmodium* com sequências genéticas do *cyt-b* conhecidas, assim como linhagens de parasitos encontradas em cracídeos, incluindo a do presente estudo (sublinhada). O grupo externo utilizado foi o *Leucocytozoon schoutedeni*. A inferência filogenética foi realizada pelo método de máxima verossimilhança utilizando o modelo GTR-gama com 1000 replicações de bootstrap no software MEGA5 (Tamura *et al.*, 2012). Foram comparadas as morfoespécies de *Plasmodium* cujas sequências do gene mitocondrial *cyt-b* são conhecidas e depositadas no GenBank. Foi incluída a sequência de *Plasmodium* descrita em cracídeo no Brasil (ABJAC02; Motta *et al.*, 2013), incluindo a do presente estudo (sublinhada).

Motta (2011) em um estudo com cracídeos cativos no estado de Minas Gerais, para determinar a prevalência de *Plasmodium*, utilizando as mesmas técnicas de diagnóstico, observou uma prevalência da infecção superior à encontrada no presente estudo. Motta (2011) encontrou uma prevalência média, em mutum-de-bicovermelho, de 18,3% para machos e 12,5% para fêmeas, em mutum-de-penacho de 18,2% em machos e 20% em fêmeas e em jacutinga as prevalências em machos e fêmeas foram de 52,65% e 34,8%, respectivamente. No atual estudo realizou-se apenas uma coleta de material para pesquisa de hemosporídeos, sendo que Motta (2011) realizou pelo menos duas amostragens anuais, em seu trabalho, fato este que pode ter contribuído para os maiores valores de prevalência de *Plasmodium* em cracídeos observada em seu estudo.

A amplificação (PCR) de parte do gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade b (*cyt-b*) foi realizada com sucesso em uma amostra de mutum-do-nordeste (*P. mitu*), detectada por eletroforese, resultando em uma amostra positiva com suficiente qualidade de produto para sequenciamento e para a construção da árvore filogenética (Figura 5). A sequência será submetida ao GenBank.

5.3. Adenovírus Aviário (*Adenoviridae* – *Aviadenovirus*)

Foram necropsiados quatro mutuns-do-nordeste que morreram durante o período de estudo, de aproximadamente seis a oito meses de idade com histórico de síndrome respiratória aguda, caracterizada por dispneia, estertores respiratórios, espirros, e curso agudo, com mortalidade em torno de

12 horas após inícios das manifestações clínicas. As mortalidades destes indivíduos ocorreram em um período de cinco dias, as aves ficavam em um mesmo recinto no criadouro CRAX.

5.3.1. Resultados de necropsia e histopatologia

Os exemplares necropsiados foram três machos (anilhas números 352/24, 362/16 e 500/74) e uma fêmea (anilha número 529/19). Macroscopicamente as aves apresentaram lesões similares, especialmente na traqueia. A mucosa da traqueia das aves 352/24 e 529/19 apresentaram-se difusamente espessada e coberta por uma membrana esbranquiçada, friável e frouxamente aderida. No lúmen havia alguns filamentos e flocos de material fibrino-necrótico e hemorrágico (Figura 6). A mucosa da traqueia das aves 362/16 e 500/74 apresentaram-se espessada, intensamente hiperêmica e no lúmen havia um extenso coágulo em toda a sua extensão obstruindo o lúmen traqueal. Sob o coágulo havia uma pseudomembrana amarelada delgada e friável de fibrina (Figura 7). Os pulmões de todas as aves apresentavam-se difusamente hiperêmicos e com edema moderado. O baço encontrava-se moderadamente aumentado de volume com numerosos focos brancos milimétricos e levemente proeminentes. No fígado foram observadas equimoses subcapsulares e no parênquima. Lesões similares às encontradas neste estudo, de traqueíte com quadro de doença respiratória aguda, associadas à infecção por *Aviadenovirus*, foram previamente descritas em outras espécies de aves (Olson, 1950; Schmidt *et al.*, 1970; McFerran *et al.*, 1971; Lim *et al.*, 1973; Easton e Simmons, 1977; Monreal, 1992; Riddell *et al.*, 1992; Crespo *et al.*, 1998; Brash *et al.*, 2009).



Figura 6. Mucosa da traqueia da ave 352/24 (*Pauxi mitu*) difusamente espessada e coberta por uma membrana esbranquiçada, friável e frouxamente aderida. No lúmen havia filamentos e flocos de material fibrino-necrótico.

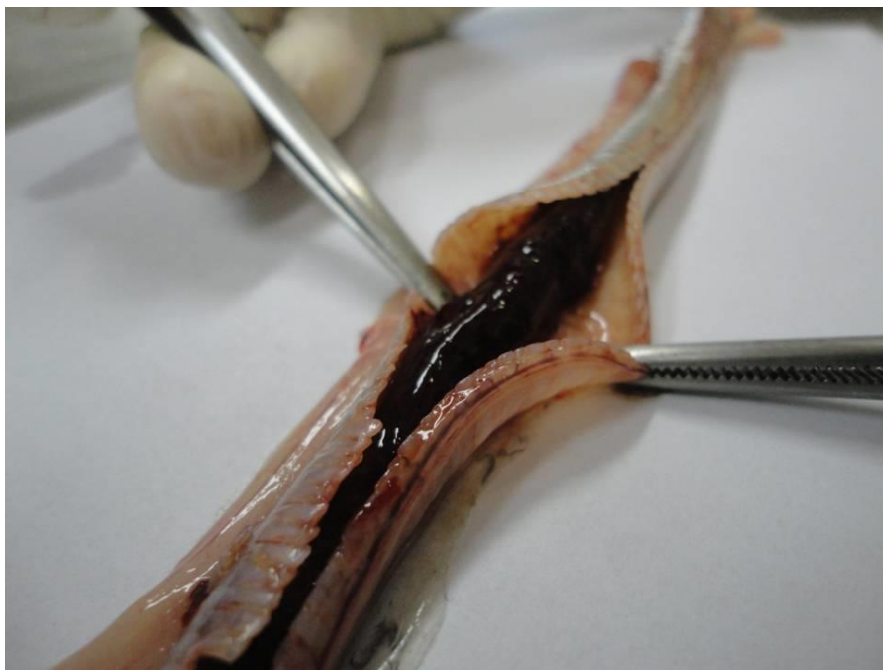


Figura 7. Lúmen da traqueia da ave 362/16 (*Pauxi mitu*), com coágulo sanguíneo em toda a sua extensão, obstruindo completamente a passagem do ar. A mucosa apresentava-se espessada, intensamente hiperêmica. Sob o coágulo havia uma pseudomembrana amarelada delgada e friável de fibrina.

À histopatologia, as alterações foram similares em todas as aves, embora variando na intensidade. Na traqueia observou-se espessamento difuso por infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, macrófagos e fibrina na lâmina própria. Poucas glândulas remanescentes foram vistas, sendo substituídas por células necróticas e infiltrado inflamatório. Na

maior parte do epitélio havia achatamento das células com a perda parcial dos cílios e por vezes, perda do epitélio. Corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares foram observados nas células epiteliais da mucosa. No lúmen havia extensa formação de membrana de fibrina associada a restos necróticos e heterófilos (Figuras 8 e 9).

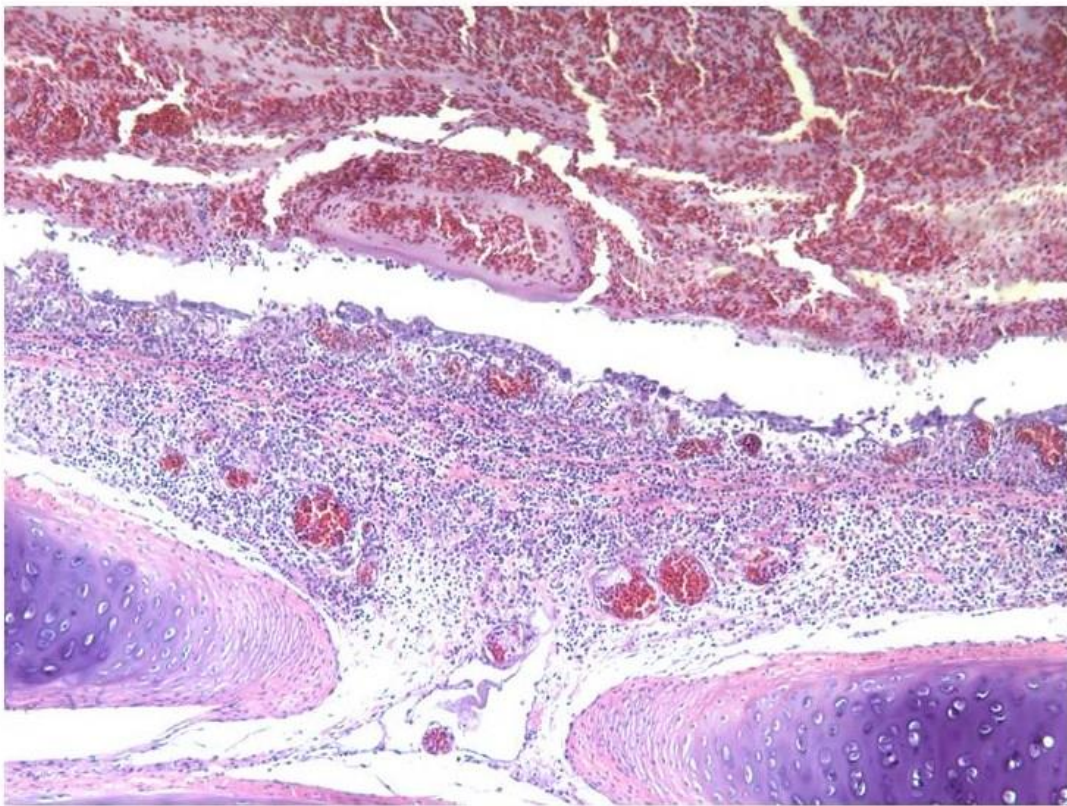


Figura 8. Traqueia (100X) da ave 362/16 (*Pauxi mitu*) com espessamento difuso por infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, macrófagos e fibrina na lâmina própria. Poucas glândulas remanescentes são vistas, sendo substituídas por células necróticas e infiltrado inflamatório. Na maior parte do epitélio há achatamento das células com a perda parcial dos cílios e por vezes, perda do epitélio. No lúmen há extensa formação de membrana de fibrina associada a restos necróticos e heterófilos.

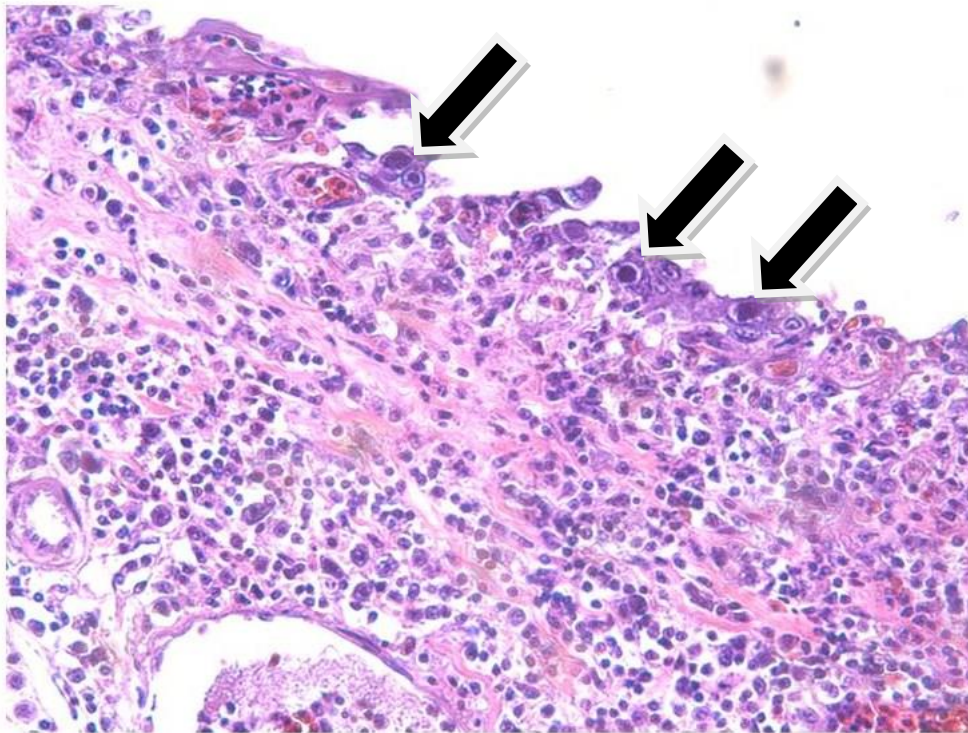


Figura 9. Traqueia (400X) da ave 362/16 (*Pauxi mitu*) com vários corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares observados nas células epiteliais da mucosa (setas).

Nas aves 362/16 e 500/74, numerosas hemácias associadas a membranas de fibrina e restos celulares também foram observadas. Nos sacos aéreos da ave 362/16 foram observados uma área focal discreta com infiltrado linfocitário e vários corpúsculos de inclusão intranucleares basofílicos nas células epiteliais. No pulmão das aves 500/74 e 529/19 foram observadas áreas de infiltrado linfocitário na lâmina própria dos brônquios associado à necrose de coagulação do epitélio correspondente e dos folículos linfoides. Corpúsculos basofílicos intranucleares similares aos observados na traqueia também foram encontrados. Nos fígados dos mutuns-do-nordeste 352/24, 500/74 e

529/19 foram observadas áreas multifocais de hemorragia e infiltrado linfocitário leve. Focos de necrose de coagulação associados à leve infiltrado linfocitário também foram observados. O fígado da ave 362/16 apresentou degeneração gordurosa difusa moderada. No baço de todas as aves observou-se hiperemia moderada e rarefação dos folículos linfoides da polpa branca associada à necrose de coagulação de linfócitos. Estas lesões no trato respiratório observadas à histopatologia são compatíveis com outros relatos de infecção respiratória e mortalidade por *Aviadenovirus* (Aghakhan, 1974; Dhillon, 1984 e 1987; Brash *et al.*, 2009).

5.3.2. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Adenovírus Aviário (*Adenoviridae* – *Aviadenovirus*) e diagnóstico diferencial

Os quatro mutuns-do-nordeste necropsiados (2,39% - 4/167) foram positivos na PCR

para *Aviadenovirus*, utilizando-se amostras de fígado e traqueia. As mesmas amostras foram negativas para o vírus da laringotraqueíte infecciosa aviária (*Iltovirus*), clamidofilose (*C. psittaci*) e micoplasmose (*M. gallisepticum*), como diagnósticos diferenciais (Tabela 8).

Tabela 8. Resultados de reação em cadeia pela polimerase (PCR) para diagnóstico diferencial de agentes respiratórios em amostras de fígado e traqueia de mutuns-do nordeste.

Amostras	<i>Aviadenovirus</i>	<i>Iltovirus</i>	<i>C. psittaci</i>	<i>M. gallisepticum</i>
352/24	+	-	-	-
362/16	+	-	-	-
500/74	+	-	-	-
529/19	+	-	-	-

Os outros indivíduos adultos e jovens da espécie *P. mitu* avaliados neste estudo foram negativos para *Aviadenovirus* por PCR, utilizando-se amostras de *swabs* cloacais. Todos os indivíduos da espécie *C. blumenbachii*, avaliados neste estudo, também foram negativos para *Aviadenovirus* por PCR de amostras de *swabs* cloacais.

5.3.3. Sequenciamento e análise filogenética das amostras obtidas na necropsia

A amplificação (PCR) da parte correspondente à proteína Hexon do *Aviadenovirus* foi realizada com sucesso para as amostras de mutuns-do-nordeste, detectadas por eletroforese, resultando em amostras positivas com suficiente qualidade

de produto para sequenciamento e construção da árvore filogenética (Figura 10 e Tabela 9).

5.3.4. Diagnóstico final de *Aviadenovirus* tipo A

As lesões macroscópicas nas aves examinadas foram características de um agente respiratório viral de evolução aguda. A traqueíte necro-hemorrágica e fibrinosa associada aos corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares permitiram associar com infecção por Adenovírus. O diagnóstico definitivo foi possível pelas técnicas moleculares que permitiram caracterizar o agente como *Aviadenovirus* tipo A. Este é o primeiro relato de *Aviadenovirus* tipo A em aves no Brasil e em cracídeos no mundo.

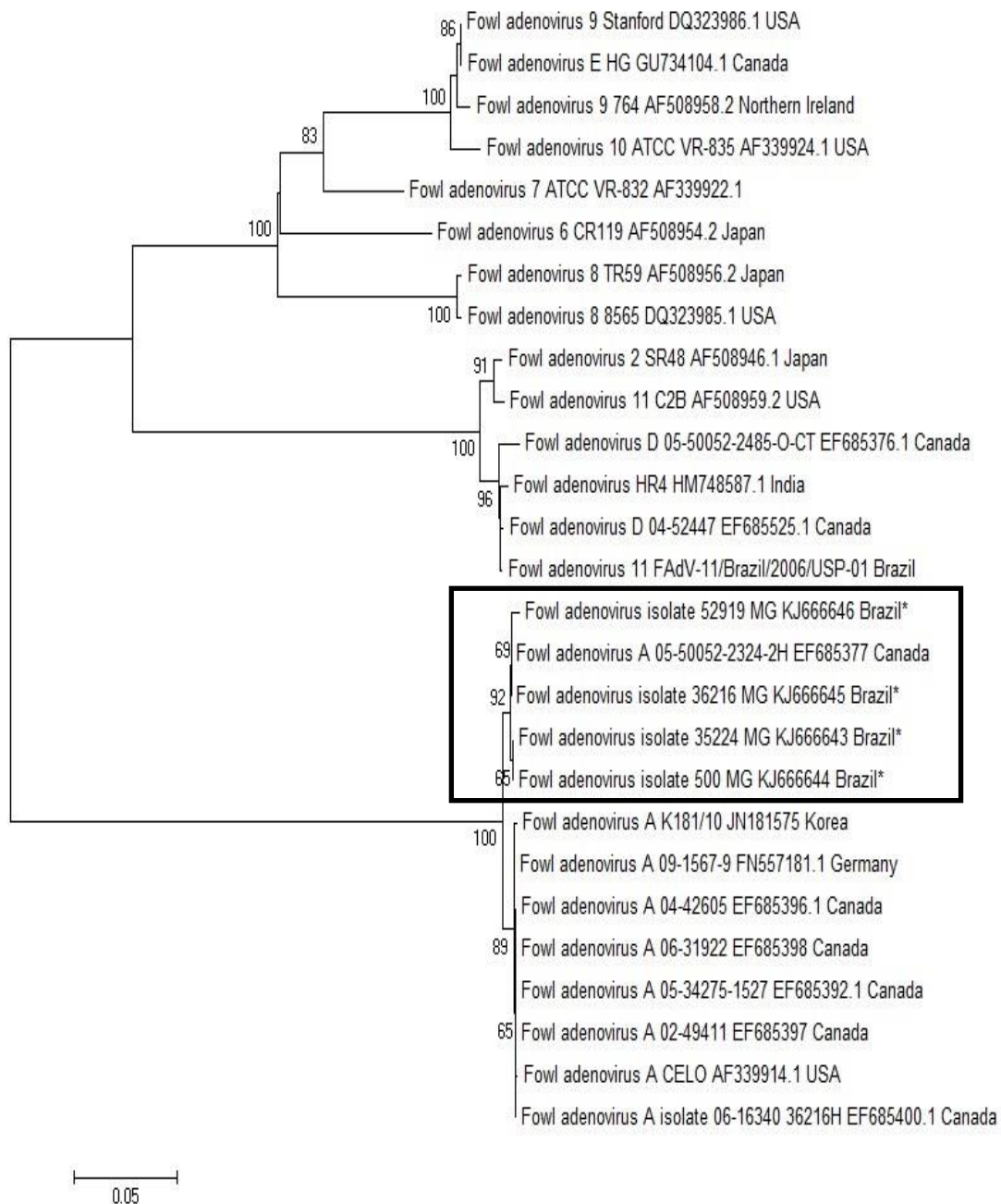


Figura 10. Árvore filogenética reconstruída no programa MEGA5 pelo método neighbor-joining, usando o modelo de substituição de nucleotídeos Tamura-Nei (Tamura *et al.*, 2012) com as sequências deste estudo (Brazil*) e as sequências disponíveis no GenBank de parte do gene da proteína Hexon do *Aviadenovirus* tipo A. Dados submetidos ao teste de confiança em topologia (Boostrap) com 1000 reamostragens, em que resultados >70 são considerados confiáveis. Método. Legenda: Sequências deste estudo marcadas com asterisco e amostras do GenBank (Tipo ou sorotipo vírus, nome estirpe ou isolado e número de acesso no GenBank, país).

Tabela 9. Similaridade em porcentagem (%) do gene Hexon (724 pb) entre as sequências obtidas no presente estudo e obtidas no GenBank.

Sequências GenBank	Sequências deste estudo	Fowl adenovirus 352/24 MG Brazil*	Fowl adenovirus 500/74 MG KJ666644 Brazil*	Fowl adenovirus 362/16 MG KJ666645 Brazil*	Fowl adenovirus 529/19 MG KJ666646 Brazil*
Fowl_adenovirus_A_CELO_AF339914.1_USA		98,74	98,74	98,88	98,46
Fowl_adenovirus_A_09-1567-9_FN557181.1_Germany		98,74	98,74	98,88	98,46
Fowl_adenovirus_A_06-31922_EF685398_Canada		98,88	98,88	99,02	98,60
Fowl_adenovirus_A_isolate_06-16340_36216H_EF685400.1_Canada		98,88	98,88	99,02	98,60
Fowl_adenovirus_A_05-50052-2324-2H_EF685377_Canada		99,86	99,86	100,00	99,58
Fowl_adenovirus_A_05-34275-1527_EF685392.1_Canada		98,88	98,88	99,02	98,60
Fowl_adenovirus_A_04-42605_EF685396.1_Canada		98,88	98,88	99,02	98,60
Fowl_adenovirus_A_02-49411_EF685397_Canada		98,88	98,88	99,02	98,60
Fowl_adenovirus_A_K181/10_JN181575_Korea		98,60	98,60	98,74	98,31
Fowl_adenovirus_D_05-50052-2485-O-CT_EF685376.1_Canada		51,22	51,22	51,22	50,39
Fowl_adenovirus_D_04-52447_EF685525.1_Canada		51,76	51,76	51,76	50,94
Fowl_adenovirus_HR4_HM748587.1_India		51,48	51,48	51,48	50,66
Fowl_adenovirus_2_SR48_AF508946.1_Japan		51,48	51,48	51,48	50,66
Fowl_adenovirus_E_HG_GU734104.1_Canada		54,16	54,16	54,16	53,37
Fowl_adenovirus_6_CR119_AF508954.2_Japan		55,20	55,20	55,20	54,42
Fowl_adenovirus_8_8565_DQ323985.1_USA		53,58	53,58	53,58	52,78
Fowl_adenovirus_7_ATCC_VR-832_AF339922.1		56,99	56,99	56,99	56,23
Fowl_adenovirus_8_TR59_AF508956.2_Japan		53,85	53,85	53,85	53,05
Fowl_adenovirus_9_Stanford_DQ323986.1_USA		54,16	54,16	54,16	53,37
Fowl_adenovirus_9_764_AF508958.2_Northern_Ireland		53,37	53,37	53,37	52,57
Fowl_adenovirus_10_ATCC_VR-835_AF339924.1_USA		52,55	52,55	52,55	51,74
Fowl_adenovirus_11_C2B_AF508959.2_USA		51,77	51,77	51,77	50,95
Fowl_adenovirus_11_FAoV-11/Brazil/2006/USP-01_Brazil		51,75	51,75	51,75	50,94

Em negrito as amostras com identidade em $\% \geq 99,02\%$. Os resultados obtidos com agrupamento de nucleotídeos permitiram estabelecer relação da sequência deste estudo com *Aviadenovirus* tipo A e mostrou alta similaridade com estirpes isoladas no Canadá. As estirpes deste estudo mostraram altas identidades com amostras de *Aviadenovirus* tipo A ou sorotipo 1 depositadas no GenBank.

5.4. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Clamidiofilose (*Chlamydophila psittaci*)

Na PCR para a detecção do DNA de *Chlamydophila psittaci* todas as aves avaliadas foram negativas. Dos mutuns-do-nordeste necropsiados (n=4), foram recolhidos o baço, fígado e traqueia para testes por PCR, com resultados negativos.

Os mutuns avaliados não apresentavam sinais clínicos sugestivos de clamidiofilose. Em concordância com o presente estudo, outros trabalhos em aves selvagens relatam negatividade de *C. psittaci* à PCR por amostras de *swabs* cloacais (Padilla *et al.*, 2003; Raso *et al.*, 2005; Andery *et al.*, 2013; Ferreira Junior, 2012). No entanto, este resultado não descarta a possibilidade de infecção por *C. psittaci* em mutuns-de-bico-vermelho e em mutuns-do-nordeste, mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais.

Embora nenhum indivíduo tenha sido diagnosticado positivo em PCR, a *C. psittaci* pode ter significado na potencial circulação do agente nos criatórios estudados. A hipótese é fundamentada pela existência de psitacídeos nos criatórios avaliados. Durante a fase crônica da infecção, a *C. psittaci* pode ficar restrita a órgãos linfóides (Beeckman e Vanrompay, 2010), o que pode ocasionar em falso-negativo ao avaliar *swabs* cloacais, devido à liberação intermitente do agente nas excretas das aves e algumas espécies de aves tornam-se portadoras do microrganismo (Raso *et al.*, 2002; Sharples e Baines, 2009), corroborando com os resultados do presente estudo. As amostragens foram programadas para o período não reprodutivo e com grandes intervalos de tempo entre coletas, de forma a evitar miopatias por capturas consecutivas

e interferência na reprodução de espécies ameaçadas. Como são espécies em grande ameaça de extinção, os mutuns foram amostrados apenas uma vez ao ano, fato que pode ter contribuído para a obtenção do presente resultado, sendo que coletas seriadas poderiam aumentar a possibilidade de detecção do agente (Raso, 2004).

Estudos futuros, realizando coletas seriadas (uma coleta diária, por três dias consecutivos) de amostras nos mutuns, bem como a coleta de *swabs* de cavidade oral/traqueal, além dos cloacais, aumentariam a possibilidade de detecção do agente por PCR. Associado a avaliação sorológica, poderá esclarecer a ocorrência das infecções nos plantéis e a participação dos mutuns no ciclo epidemiológico da clamidiofilose aviária.

5.5. Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para Micoplasmose (*Mycoplasma gallisepticum*)

Na PCR para a detecção do DNA de *Mycoplasma gallisepticum*, todas as aves avaliadas foram negativas. Em cracídeos, embora com a utilização de técnicas sorológicas (Marques, 2010; Cavero e Pratolongo, 2011), os resultados foram negativos, em concordância com o presente trabalho. Em um estudo por PCR anteriormente realizado em 358 aves selvagens, representando 13 diferentes famílias de Passeriformes (Farmer *et al.*, 2005), os resultados também foram negativos.

Este resultado, provavelmente, se deve ao fato de que aves cronicamente infectadas ou infectadas por estirpes de baixa virulência podem eliminar pequenas ou não detectáveis contagens de *Mycoplasma* nas

excretas (Luttrell e Fischer, 2007), fazendo com que a circulação desta ou de outras espécies de *Mycoplasma* não esteja descartada em cracídeos cativos.

Ao considerar a diversidade de espécies de Galliformes domésticos susceptíveis ao *M. gallisepticum*, não é improvável que cracídeos tenham contato com essa ou outras espécies de *Mycoplasma*. Recomendam-se coletas seriadas (uma coleta diária, por três dias consecutivos) de *swabs* de cavidade oral/traqueal, além dos cloacais, a utilização de isolamento bacteriano e uma PCR com *primers* genéricos para *Mycoplasma*, seguidas de sequenciamento e análise filogenética, para esclarecer a ocorrência das infecções nos plantéis e a participação dos mutuns no ciclo epidemiológico da micoplasmose aviária.

5.6. Isolamento e genotipagem de *Clostridium perfringens* tipo A

Do total de 305 aves avaliadas quanto à presença de *C. perfringens*, todos os isolados dos mutuns-de-bico-vermelho e mutuns-do-nordeste foram classificados como *C. perfringens* tipo A (20,98% - 64/305), e seis amostras (1,96% - 6/305) também foram positivas para o gene *cpb2*, responsável pela produção da toxina beta-2. Todos os isolados foram obtidos dos mutuns mantidos no criadouro CRAX.

Em mutuns-de-bico-vermelho, 46 isolados foram classificados como *C. perfringens* tipo A (33,33% - 46/138), e cinco isolados (3,62% - 5/138) foram positivos para o gene *cpb2*, responsável pela produção da toxina beta-2.

Em mutuns-do-nordeste, 18 isolados foram classificados como *C. perfringens* tipo A (10,77% - 18/167), e apenas um isolado (0,59% - 1/167) foi positivo para o gene *cpb2*, responsável pela produção da toxina beta-2.

C. perfringens tipo A, em concordância com o presente estudo, é o mais comumente isolado em cracídeos (Silva *et al.*, 2014), em aves domésticas (Van Immerseel *et al.*, 2004; Crespo *et al.*, 2007) e em aves selvagens (McOrist e Reece, 1992; Asaoka *et al.*, 2004; Crespo *et al.*, 2007; Hagen e Bildfell, 2007).

Similarmente ao presente estudo, a amplificação do gene *cpb2* foi previamente constatada em outras aves (Boujon *et al.*, 2005; Crespo *et al.*, 2007; Ferreira Junior, 2012) e em cracídeos (Silva *et al.*, 2014). No entanto, a importância da toxina beta-2 na patogenicidade da doença não está bem elucidada (Asten *et al.*, 2010).

No presente estudo o isolamento *Clostridium perfringens* tipo A foi maior em cracídeos (20,98% - 64/305), e também para amostras (1,96% - 6/305) positivas para o gene *cpb2*, quando comparado a outro estudo realizado também em diversas espécies de cracídeos mantidas em cativeiro no estado de Minas Gerais, sendo isolado em apenas duas amostras de *swabs* (1,5% - 2/131), e sendo um positivo para o gene *cpb2* (Silva *et al.*, 2014). Este fato pode ser devido as aves no estudo de menor taxa de isolamento (Silva *et al.*, 2014), estarem submetidas à antibioticoterapia (doxicilina para tratamento de clamidífilose) na época da amostragem, reduzindo assim as chances de se obter o agente em cultura.

Apesar dos estudos publicados não serem conclusivos, a ocorrência de *C. perfringens* tipo A e do gene *cpb2* nas estirpes de cracídeos no presente estudo pode ser relevante, tendo em vista o envolvimento do *C. perfringens* tipo A em casos de enterite necrótica em aves (Long, 1973). Entretanto, a patogenicidade dessa toxina necessita avaliação em aves domésticas e silvestres. O presente estudo sugere que *C. perfringens* tipo A faz parte da microbiota normal de alguns cracídeos em cativeiro, pois as aves foram consideradas saudáveis. Porém, a presença da infecção em alguns indivíduos pode assegurar a circulação do agente entre plantéis, com potencial relevância para indivíduos debilitados.

5.7. Isolamento, diagnóstico antigênico conclusivo e classificação de *Salmonella*

Colônias de cor negra no centro (formação de sulfureto de hidrogênio, H₂S), características de *Salmonella* cresceram no meio ágar sólido *Salmonella-Shigella*, após incubação do meio a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas. Estas colônias foram obtidas a partir da sementeira, com alça bacteriológica (haste circular de 5 mm de diâmetro), do meio caldo seletivo selenito cistina com amostras de *swabs* cloacais mantidos a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas.

Quatro colônias foram identificadas presuntivamente para *Salmonella* (características descritas na Tabela 10), após a interpretação do meio Rugai modificado por Pessôa e Silva (1972), inoculados com colônias características de *Salmonella*, que cresceram em meio ágar sólido *Salmonella-Shigella*.

No sistema automatizado de identificação bioquímica de Enterobactérias VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA) para a confirmação do isolamento da amostra, os quatro isolados apresentaram 99% de probabilidade de serem isolados de *Salmonella* (Anexos 5, 6, 7 e 8).

Na PCR, as quatro amostras geraram um produto de 284 pb, correspondente a *Salmonella* Invasion Gene A (InvA) (Galan *et al.* (1992), Rahn *et al.* (1992) e Oliveira *et al.* (2002).

As estirpes de *Salmonella* isoladas foram submetidas ao diagnóstico antigênico conclusivo, somático (O), flagelar (H) e (Vi) por detecção dos antígenos somáticos e flagelares, e foram identificadas como *Salmonella* Anatum e *Salmonella* Saintpaul (Anexo 9).

Tabela 10. Características de *Salmonella* em meio Rugai modificado por Pessôa e Silva (1972) inoculado com colônia característica de *Salmonella*, que cresceram em meio ágar sólido *Salmonella-Shigella*.

Prova	Indol	Lactose	LTD	Sacarose	Uréia	H ₂ S	Glicose	Gás	Lisina	Motilidade
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

Salmonella Saintpaul foi isolada de três mutuns-de-bico-vermelho (2,17% – 3/138) e *Salmonella* Anatum foi isolada de um mutum-do-nordeste (0,59% – 1/167). As aves apresentavam-se clinicamente saudáveis, e mantidas no criadouro CRAX.

Salmonella Anatum, assim como neste estudo, foi isolada de aves clinicamente saudáveis, como em gaiotão (*Larus dominicanus*) no Chile (López-Martín *et al.*, 2012), em perus domésticos nos Estados Unidos (Nayak *et al.*, 2003), em avestruzes na África do Sul (Huchezermeyer, 2000) e em emas no Rio Grande do Sul, Brasil (Pereira *et al.*, 2008). *Salmonella* Saintpaul também foi isolada de aves de rapina de vida livre e de cativeiro na Espanha (Reche *et al.*, 2003), e em aves marinhas e de rapina em reabilitação na Califórnia (Smith *et al.*, 2002).

Estes são os primeiros isolados bacteriológicos de *Salmonella* em cracídeos. Outros estudos não obtiveram isolamento de *Salmonella* por cultivo bacteriológico (Tocidlowski, 2007; Marques, 2010; Santos, 2010) e indivíduos sororegantes por avaliação sorológica (Raso, 2010) em cracídeos.

Não foram isoladas *Salmonella enterica enterica* Sorovares Gallinarum e Pullorum nas aves avaliadas neste estudo, em concordância com Marques *et al.* (2013).

Foram isoladas *Salmonella* Saintpaul em mutuns-de-bico-vermelho, e *Salmonella* Anatum em mutuns-do-nordeste, mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais. O estudo da ocorrência de salmoneloses em aves selvagens é de grande importância

como indicador de saúde individual, populacional e ambiental. A presença do indivíduo saudável e portador pode disseminar o agente no plantel, e este em situações de imunossupressão pode sofrer quadros diarreicos graves resultando em óbito.

5.8. Avaliação sorológica de mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*)

Nas Tabelas 11 e 12 são apresentados os resultados dos testes de ELISA e de IH, realizados nos mutuns-do-nordeste (*P. mitu*).

Santos (2008) detectou uma maior ocorrência de anticorpos neutralizantes em cracídeos, sendo 15,7% (8/51) contra o reovírus aviário, e 35,3% (18/51) contra o vírus da doença infecciosa da bolsa, quando comparados ao presente estudo. Entretanto, Marques *et al.* (2013) e Cavero e Pralongo (2011), observaram uma menor ocorrência 1,5% (2/130) e 1,9% (2/107) respectivamente, de anticorpos contra a doença de Gumboro em cracídeos quando comparado a presente pesquisa.

Cavero e Pralongo (2011), não observaram a presença de anticorpos em cracídeos contra a Leucose e Reticuloendoteliose Aviárias, diferentemente do atual estudo, onde foi encontrada a ocorrência de anticorpos para as doenças citadas anteriormente, 3,59% (6/167) e 4,79% (8/167), respectivamente. Marques (2010) relata a ocorrência de leucose aviária do tipo linfóide em mutum-do-bico-vermelho. No Parque Zoológico de Houston (Texas – EUA), Tocidlowski (2007) relata, também, em diversos cracídeos necropsiados, lesões indicativas de leucose linfóide, linfoma e

reticuloendoteliose, porém não foi possível o isolamento do agente viral envolvido.

Anticorpos contra o metapneumovírus aviário foram detectados em 1,79% dos mutuns-do-nordeste avaliados. No Brasil, o metapneumovírus aviário subtipo A foi detectado em Jacupemba (*Penelope superciliaris*) (Felippe *et al.*, 2011), corroborando com a presença de títulos de anticorpos encontrados neste estudo. Outras avaliações sorológicas em aves selvagens também demonstraram títulos de anticorpos contra o metapneumovírus aviário (Catelli *et al.*, 2001; Turpin *et al.*, 2008).

A percentagem de aves positivas com títulos de anticorpos significativos em IH para a doença de Newcastle, no presente estudo foi menor, quando comparado ao estudo realizado por Marques *et al.* (2013) em cracídeos (15.3%), tal fato pode ser

explicado devido no estudo anterior uma maior amostragem de cracídeos ter sido realizado em um criadouro com presença de Anseriformes, que podem ser portadores do *Paramyxovirus* Aviário sorotipo 1 – APMV-1. Porém, a percentagem de aves positivas com títulos de anticorpos significativos em IH para a doença de Newcastle foi maior do que o trabalho realizado por Cavero e Pratolongo (2011) em Pava Aliblanca (*Penelope albipennis*) no Peru, onde não foram detectados títulos de anticorpos pela técnica de IH.

Em concordância com o atual estudo, não foram detectados anticorpos para *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae* em outros estudos realizados em cracídeos (Raso, 2010; Cavero e Pratolongo, 2011; Marques *et al.*, 2013). A sorologia negativa para *M. gallisepticum* está de acordo com os resultados negativos da PCR para *M. gallisepticum* realizada nas amostras das aves avaliadas neste estudo.

Tabela 11: Detecção de anticorpos em mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*) contra diferentes viroses pelo teste de ELISA.

Doença	Kit de ELISA	Resultado (percentual de positivos)
Doença de Gumboro	IDEXX IBD Ab Test	4,79% (8/167)
Leucose Aviária	IDEXX ALV Ab Test IDEXX	0% (0/167)
	ALV-J Ab Test IDEXX ALV	3,59% (6/167)
	Ag Test	1,19% (2/167)
<i>Metapneumovirus</i> Aviário	IDEXX APV Ab Test	1,79% (3/167)
<i>Orthoreovirus</i> Aviário	IDEXX REO Ab Test	10,17% (17/167)
Reticuloendoteliose Aviária	IDEXX REV Ab Test	4,79% (8/167)

Tabela 12: Detecção de anticorpos em mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*) contra *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* e *Paramyxovirus* Aviário sorotipo 1 – APMV-1 (Doença de Newcastle) pelo teste de inibição da hemaglutinação.

Agente	Resultado (percentual de positivos)
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	0% (0/167)
<i>Mycoplasma synoviae</i>	0% (0/167)
<i>Paramyxovirus</i> Aviário sorotipo 1 – APMV-1	4,79% (8/167)

CONCLUSÕES

O presente estudo indica uma baixa detecção dos agentes etiológicos pesquisados em mutuns-de-bico-vermelho e mutuns-do-nordeste, durante o período estudado.

A infecção por *Plasmodium* foi detectada em baixa ocorrência em mutuns-de-bico-vermelho e mutuns-do-nordeste, mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais e sem aparente impacto clínico.

A infecção por *Aviadenovirus* tipo A foi detectada em mutuns-do-nordeste mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, resultando em quadro respiratório fatal de evolução aguda e traqueíte necro-hemorrágica.

Não houve detecção genômica de *Chlamydophila psittaci* e *Mycoplasma gallisepticum* em mutuns-de-bico-vermelho e em mutuns-do-nordeste, mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, podendo indicar a não excreção dos agentes no momento da coleta.

Clostridium perfringens tipo A e *Clostridium perfringens* tipo A produtor da toxina beta-2 (gene *cpb2*) estão presentes na microbiota intestinal de mutuns-de-bico-vermelho e mutuns-do-nordeste, mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais.

Salmonella Saintpaul ocorre em mutuns-de-bico-vermelho e *Salmonella* Anatum em mutuns-do-nordeste, mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais, sendo pela primeira vez detectado o gênero nestas espécies por cultivo bacteriológico.

Anticorpos contra os vírus da doença de Gumboro, doença de Newcastle, leucose linfoide, reticuloendoteliose, *Metapneumovirus* e *Orthoreovirus* aviários foram detectados em mutuns-do-nordeste, mantidos em cativeiro no estado de Minas Gerais. Os resultados sugerem exposição aos agentes. É necessário o monitoramento por técnicas moleculares e sorológicas para esclarecer a ocorrência e a participação dessas aves no ciclo epidemiológico dessas doenças.

As infecções mais frequentemente detectadas foram por *Clostridium perfringens* e *Plasmodium*.

O presente estudo visou contribuir para o conhecimento em sanidade de cracídeos, tendo em vista que na literatura científica são poucas as informações disponíveis. A criação em cativeiro, caracterizada pela concentração e proximidade das aves, aumenta o risco da ocorrência de doenças e de dispersão de agentes infecciosos. Neste contexto, a mortalidade de mutuns-do-nordeste por *Aviadenovirus* tipo A pode ter

resultado desta condição, diferindo da realidade no ambiente natural. Recomenda-se o monitoramento sanitário constante, associado a um calendário sanitário, coordenado por um médico veterinário capacitado, para estabelecer medidas preventivas, tratamentos mais eficazes e a elaboração de protocolos sanitários para criação de cracídeos em cativeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAIR, B. M.; FITZGERALD, S. D. Group 1 adenovirus infections. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. Diseases of Poultry. Iowa: Iowa State University Press, 2008. cap. 9, p. 251-290.
- AGHAKHAN, S. M. Avian adenoviruses. Vet. Bull., v. 44, p. 531-552, 1974.
- ALEXANDER, D. J. Newcastle Disease, Other Avian Paramyxoviruses, and Pneumovirus Infections. In: SAIF, Y. M. (Ed.). Diseases of poultry. 11.ed. Ames: Iowa State University Press, 2003. p. 63-92.
- ALLGAYER, M. C.; CZIULIK, M. Reprodução de psitacídeos em cativeiro. Rev. Bras. Reprod. Anim., v. 31, p. 433-350, 2007.
- ALLGAYER, M. C.; GUEDES, N. M. R.; CHIMINAZZO, C. *et al.* Clinical pathology and parasitologic evaluation of free-living nestlings of the hyacinth macaw (*Anodorhynchus hyacinthinus*). J. Wildl. Dis., v. 45, n. 4, p. 972-981, 2009.
- ANDERSEN, A. A.; FRANSON, J. C. Avian Chlamydiosis. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. Infectious diseases in wild birds. Iowa: Blackwell, 2007. p. 303-316.
- ANDERSEN, A. A.; VANROMPAY, D. Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: SAIF, Y.M. (Ed.) Diseases of poultry. 11.ed. Iowa: Iowa State, 2003. cap. 22, p. 719-721.
- ANDERY, D. A.; FERREIRA JUNIOR, F. C.; ARAÚJO, A. V. *et al.* Health assessment of raptors in triage in Belo Horizonte, MG, Brazil. Rev. Bras. Cienc. Avic., v. 15, p. 247-256, 2013.
- ANDREWS, W. H.; JACOBSON, A.; HAMMACK, T. Chapter 5 Salmonella. In: U.S. FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION, CENTER FOR FOOD SAFETY & APPLIED NUTRITION. Bacteriological Analytical Manual on line. FDA/CFSAN. November 2011 Version. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>>. Acesso em: 01 fev. 2014.
- ARTOIS, M; MANVELL, R.; FROMONT, E. *et al.* Serosurvey for Newcastle disease and avian influenza A virus antibodies in great cormorants from France. J. Wildl. Dis., v. 38, n. 1, 2002.
- ASAOKA, Y.; YANAI, T.; HIRAYAMA, H. *et al.* Fatal necrotic enteritis associated with *Clostridium perfringens* in wild crows (*Corvus macrorhynchos*). Avian Pathol., v. 33, n. 1, p. 19-24, 2004.
- ATKINSON, C. T.; DUSEK, R. J.; WOODS, K. L. *et al.* Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected Hawaii Amakihi. J. Wildl. Dis., v. 36, n. 2, p. 197-204, 2000.
- AZIPIRI, G. S.; MALDONADO, F. G.; GONZÁLEZ, G. C. La importancia del estudio de enfermedades em la conservación de fauna silvestre. Vét. Méx., v. 31, n. 3, p. 223-230, 2000.
- BAUMS, C. G.; SCHOTTE, U.; AMTSBERG, G. *et al.* Diagnostic multiplex PCR for toxin genotyping of *Clostridium perfringens* isolates. Vet. Microbiol. v. 100, p. 11-16, 2004.
- BEECKMAN, D. S.; VANROMPAY, D. C. Biology and intracellular pathogenesis of high or low virulent *Chlamydophila psittaci* strains in chicken macrophages. Vet. Microbiol., v. 141, p. 342-353, 2010.
- BELO, N. O.; PASSOS, L. F.; JÚNIOR, L. M. C. *et al.* Avian malaria in captive

psittacine birds: Detection by microscopy and 18S rRNA gene amplification. *Prev. Vet. Med.*, v. 88, p. 220-224, 2009.

BENČINA, D.; DORRER, D.; TADINA, T. *Mycoplasma* species isolated from six avian species. *Avian Pathol.*, v. 16, p. 653-664, 1987.

BENČINA, D.; TADINA, T.; DORRER, D. Natural infections of ducks with *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma* egg transmission. *Avian Pathol.*, v. 17, p. 441-449, 1988.

BENSCH, S.; PÉREZ -TRIS, J.; WALDENSTRÖM, J. *et al.* Linkage between nuclear and mitochondrial DNA sequences in avian malaria parasite: multiple cases of cryptic speciation? *Evolution*, v. 58, n. 7, p. 1617-1621, 2004.

BOOM, R.; SOL, C. J.; SALIMANS, M. M. *et al.* Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* v. 28, n. 3, p. 495-503, 1990.

BOUJON, P.; HENZI, M.; PENSEYRES, J. H. *et al.* Enterotoxaemia involving β 2-toxigenic *Clostridium perfringens* in a white stork (*Ciconia ciconia*). *Vet. Rec.*, v. 156, p. 746-747, 2005.

BRASH, M. L.; SWINTON, J. N.; WEISZ, A. *et al.* Isolation and identification of duck adenovirus 1 in ducklings with proliferative tracheitis in Ontario. *Avian Dis.*, v. 53, n. 2, p. 317-320, 2009

BRASIL. Instrução Normativa SDA Nº. 44, de 23 de agosto de 2001. Anexo Normas Técnicas para o Controle e a certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas para a micoplasmose aviária (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae* e *M. melleagridis*). Diário Oficial da União, Brasília, DF, p. 68, 24 ago. 2001. Seção 1. 10 p.

BRASIL. Instrução Normativa SDA Nº. 32, de 13 de maio de 2002. Anexo Normas Técnicas de Vigilância para Doença de Newcastle e Influenza Aviária, e de controle e erradicação para a doença de Newcastle. Diário Oficial da União, Brasília, DF, p. 28, 14 mai. 2002. Seção 1. 14 p.

BRASIL. Instrução Normativa SDA Nº. 78, de 03 de novembro de 2003 Anexo Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum* e livres ou controlados para *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, p. 3, 5 nov. 2003. Seção 1. 9 p.

BRYNESTAD, S.; GRANUM, P. E. *Clostridium perfringens* and foodborne infections. *Int. J. Food. Microbiol.*, v. 74, p. 195-202, 2002.

BUENO, M. G.; LOPEZ, R. P. G.; MENEZES, R. M. T. *et al.* Identification of *Plasmodium relictum* causing mortality in penguins (*Spheniscus magellanicus*) from São Paulo zoo, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 173, p. 123-127, 2010.

BUTRON, O.; BRIGHTSMITH, D. J. Testing for *Salmonella* spp. in released parrots, wild parrots, and domestic fowl in lowland Peru. *J. Wildl. Dis.* v. 46, n. 3, p. 718-723, 2010.

CATÃO-DIAS, J. L. Doenças e seus impactos sobre a biodiversidade. *Cienc. Cult.*, v. 55, n. 3, p. 32-34, 2003.

CATÃO-DIAS, J. L. Biossegurança na manipulação de animais silvestres. *Cienc. Vet. Trop.*, v. 11, suple. 1, p. 178-181, 2008.

CATELLI, E.; DE MARCO, M. A.; DELOGU, M. *et al.* Serological evidence of avian pneumovirus infection in reared and

- free-living pheasants. *Vet. Rec.*, n. 14, v. 149(2), p. 56-58, 2001.
- CAVERO, T.; PRATOLONGO, F. A. Health of the Critically Endangered white-winged guan *Penelope albipennis* and implications for its reintroduction and conservation in Peru. *World Pheasant Association. International Journal of Galliformes Conservation*, v. 2, p. 43-53, 2011.
- CAXITO, F. A.; COELHO, F. M.; OLIVEIRA, M. E. *et al.* Feline immunodeficiency virus subtype b in domestic cats in Minas Gerais, Brazil. *Vet. Res. Comm.*, v. 30, p. 953-956, 2006.
- CHEEMA, A. H.; AHMAD, J.; AFZAL, M. An adenovirus infection of poultry in Pakistan. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, v. 8, n. 5, p.797-801, 1989.
- COOPER, K. K.; SONGER, J. G. Necrotic enteritis in chickens: A paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. *Anaerobe*, v. 15, p. 55-60, 2009.
- CRAVEN, S. E.; STERN, N. A.; COX, N. A. *et al.* Cecal carriage of *Clostridium perfringens* in broiler chickens given Mucosal Starter Culture™. *Avian Dis.*, v. 43, p. 484-490, 1999.
- CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H. L.; DROUAL, R. *et al.* Carpenter Inclusion Body Tracheitis Associated with Avian Adenovirus in Turkeys. *Avian Dis.*, v. 42, n. 3, p. 589-596, 1998
- CRESPO, R.; FISHER, D. J.; SHIVAPRASAD, H. L. Toxinotypes of *Clostridium perfringens* isolated from sick and healthy avian species. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 19, p. 329-333, 2007.
- CRITTER, R. B. O.; KUIBIDA, K. V.; UHERARA, T. I. *et al.* Adenoviroses, reoviroses e rotaviroses. In: FILHO ANDREATTI, R. L. *Saúde Aviária e Doenças*. São Paulo: Editora Roca LTDA, 2007. cap.23, p. 208-215.
- DAOUST, P. Y. & PRESCOTT, J. F. Salmonellosis. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. *Infectious diseases in wild birds*. Iowa: Blackwell, 2007. p. 270-288.
- DEEM, L. S., KARESH, W. B.; WEISMAN, W. *Putting Theory into Practice: Wildlife Health in Conservation*. *Conserv. Biol.*, n. 15, p. 1224-1233, 2001.
- DEL HOYO, J. Family Cracidae. In: DEL HOYO J.; ELLIOT A.; SARGATAL J. (Eds.). *Handbook of the birds of the world. New World Vultures to Guineafowl*. Barcelona: Lynx Editions, 1994. v. 2. p. 310 - 364.
- DELACOUR, J.; AMADON D. *Curasows and related birds*. New York: American Museum of Natural History. 1973. 476 p.
- DHILLON, A. S. e R. W. WINTERFIELD. Pathogenicity of various adenovirus serotypes in the presence of *Escherichia coli* in chickens. *Avian Dis.*, v. 28, p. 147-153, 1984.
- DHILLON, A. S.; KIBENGE, F. S. B. Adenovirus infection associated with respiratory disease in commercial chickens. *Avian Dis.* v. 31, p. 654-657, 1987.
- DICKX, V.; GEENS, T.; DESCHUYFFELEER, T. *et al.* *Chlamydophila psittaci* zoonotic risk assessment in a chicken and turkey slaughterhouse. *J. Clin. Microbiol.*, v. 48, n. 9, p. 3244-3250, 2010.
- EASTON, G. D.; SIMMONS, D. G. Antigenic analysis of several turkey respiratory adenoviruses by reciprocal neutralization kinetics. *Avian Dis.*, v. 21, p. 605-611, 1977.
- ECCO, R.; PREIS, I. S.; MARTINS, N. R. S. *et al.* An outbreak of chlamydiosis in

- captive psittacines. *Braz. J. Vet. Pathol.*, v. 2, n. 2, p. 85-90, 2009.
- EVÊNIO NETO, J. Galliformes (Mutum, Jacu, Jacutinga, Aracua, Uru). In: Cubas Z.S., Silva J.C.R., Catão-Dias J.L. (Eds.). *Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária*. São Paulo: Roca, 2007. p. 169 - 184.
- FARMER, K. L.; HILL, G. E.; ROBERTS, S. R. Susceptibility of wild songbirds to the house finch strain of *Mycoplasma gallisepticum*. *J. Wildl. Dis.*, v. 41, n. 2, p. 317-325, 2005.
- FALLON, S. M.; RICKLEFS, R. E.; SWANSON, B. L. *et al.* Detecting avian malaria: an improved polymerase chain reaction diagnostic. *J. Parasitol.*, v. 89, n. 5, p. 1044-1047, 2003.
- FELIPPE, P. A.; SILVA, L. H.; SANTOS, M. B. *et al.* Detection of and phylogenetic studies with avian metapneumovirus recovered from feral pigeons and wild birds in Brazil. *Avian Pathol.*, n. 40, v. 5, p. 445-522, 2011.
- FERREIRA JUNIOR. F. C. Avaliação sanitária de tucanos e araçaris (Aves: Piciformes) em cativeiro no estado de Minas Gerais. 2012. 81f. Dissertação (Mestrado em ciência animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- FRIEND, M.; FRASON, J.C. *Field Manual of Wildlife Diseases, General Field Procedures and Diseases of Birds*. Madison: USGS, 1999. 426 p.
- GALAN, J. E.; GINOCCHIO, C.; COSTEAS, P. Molecular and functional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA*: homology of *invA* to members of a new protein family. *J. Bacteriol.*, v. 174, n. 13, p. 4338-4349, 1992.
- GANAPATHY K.; SALEHA A. A.; JAGANATHAN M. *et al.* Survey of campylobacter, salmonella and mycoplasmas in house crows (*Corvus splendens*) in Malaysia. *Vet. Rec.* n. 5, v. 160(18), p. 622-624, 2007.
- GARAMSZEGI, L. Z. The sensitivity of microscopy and PCR-based detection methods affecting estimates of prevalence of blood parasites in birds. *J. Parasitol.*, v. 96, n. 6, p. 1197-1203, 2010.
- GARCÍA, C.; SORIANO, J. M.; BENÍTEZ, V. *et al.* Assessment of *Salmonella* spp. in feces, cloacal swabs, and eggs (eggshell and content separately) from a laying hen farm. *Poultry Sci.* v. 90, p. 1581–1585, 2011.
- GARNHAM, P.C.C. *Malaria parasites and other Haemosporidia*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1966, 114p.
- GILCHRIST, P. Involvement of free-flying wild birds in the spread of the viruses of avian influenza, Newcastle disease and infectious bursal disease from poultry products to commercial poultry. *World's Poultry Sci. J.*, v. 61, p. 198-214, 2005.
- GOPEE, N. V., ADESIYUN, A. A., CAESAR, K. Retrospective and longitudinal study of salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. *J. Wildl. Dis.*, v. 36, p.284-293, 2000.
- GRIM, K. C.; DER MERWE, E. V.; SULLIVAN, B. A. M. *Plasmodium juxtannucleare* associated with mortality in black-footed penguins (*Spheniscus demersus*) admitted to a rehabilitation center. *J. Zoo Wildl. Med.*, v. 34, n. 3, p. 250-255, 2003.
- HAGEN, C. A.; BILDFELL, R. J. An Observation of *Clostridium perfringens* in Greater Sage-Grouse. *J. Wildl. Dis.*, v. 43, n. 3, p. 545-547, 2007.

- HELLGREN, O.; WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S. A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. *J. Parasitol.* v. 90, n. 4, p. 797–802, 2004.
- HERHOLZ, C., MISEREZ, R., NICOLET, J. *et al.* Prevalence of β 2-toxigenic *Clostridium perfringens* in horses with intestinal disorders. *J. Clin. Microbiol.*, v. 37, p. 358-361, 1999.
- HOLLMÉN, T. E.; FRANSON, J. C.; FLINT, P. L. *et al.* An Adenovirus Linked to Mortality and Disease in Long-Tailed Ducks (*Clangula hyemalis*) in Alaska. *Avian Dis.*, v. 47, n. 4, p. 1434-1440, 2003.
- HUCHZERMAYER, F. W. Doenças de aves e outras ratitas. Jaboticabal:Funep, 2000. 391p.
- ICMBio (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade). Pesquisadores Debatem Ações do PAN Mutum-de-Alagoas. Disponível em <<http://www.icmbio.gov.br/portal/comunicacao/noticias/20-geral/4405-pesquisadores-debatem-acoes-do-pan-mutum-de-alagoas.html>>. Acesso em: 04 fev. 2014.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature) - Conservation Breeding Specialist Group. Conservation assessment and management plan for neotropical guans, curassows and chachalacas. Houston: CBSG, 1995. 198 p.
- IVANICS, E.; PALYA, V.; GLÁVITS, R. *et al.* The role of egg drop syndrome virus in acute respiratory diseases of goslings. *Avian Pathol.* v. 30, n. 1, p. 201-208, 2001.
- KALETA, E. F. e TADAY, E. M. A. Avian host range of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathol.*, v. 32, n. 5, p. 435-462, 2003.
- KEYBURN, A. L.; BOYCE, J. D.; VAZ, P. *et al.* NetB, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens*. *Plos One.*, v. 4, n. 2, e26, 2008.
- KESSEL, A. S.; GILLESPIE, I. A.; O'BRIEN, S. J. *et al.* General outbreaks of infectious intestinal diseases linked with poultry, England and Wales, 1992 - 1999. *Commun. Dis. Publ. Health.*, n. 4, p. 171-177, 2001.
- KLEVEN S. H.. Mycoplasmosis. SAIF, Y. M. (Ed.). Diseases of poultry. 11.ed. Ames: Iowa State University Press, 2003. p. 719 - 774.
- KNOWLES, S. C. L.; PALINAUSKAS, V.; SHELDON, B. C. Chronic malaria infections increase family inequalities and reduce parental fitness: experimental evidence from a wild bird population. *J. Evol. Biol.*, v. 23, p. 557-569, 2010.
- LEIGHTON, F. A.; HECKERT R. A. Newcastle disease and related avian Paramyxoviruses. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. Infectious diseases in wild birds. Iowa: Blackwell, 2007. p. 3-16.
- LEMOS, M.; DA SILVA, G. M.; FEDULLO, L. P. L.; ALMEIDA-PEREIRA, V. L. *Salmonella* in wild birds in the Rio de Janeiro Zoological Garden, Brazil. *Rev. Bras. Ciên.Vet.*, v. 6, n. 1, p. 40-43, 1999.
- LIERZ, M.; HAGEN, N.; HARCOURT-BROWN, N. *et al.* Prevalence of mycoplasmas in eggs from birds of prey using culture and a genus-specific mycoplasma polymerase chain reaction. *Avian Pathol.*, v. 36, n. 2, p. 145-150, 2007.
- LIM, A. C.; MUSTAFFA-BABJEE, A.; BAINS, B. S. *et al.* An Avian Adenovirus Associated with Respiratory Disease. *Avian Dis.*, v. 17, n. 4, p. 690-696, 1973.

- LISTA das aves do Brasil. 11ª Edição - 01/01/2014. CBRO (Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos). Disponível em <<http://www.cbro.org.br>>. Acesso em: 04 fev. 2014.
- LONG, J. R. Necrotic enteritis in broiler chickens I. A review of the literature and the prevalence of the disease in Ontario. *Can. J. Comp. Med.*, v. 37, p. 302-308, 1973.
- LONG, J. R.; PETTIT, J. R.; BARNUM, D. A. Necrotic Enteritis in broiler chickens II. Pathology and proposed pathogenesis. *Can. J. Comp. Med.*, v. 38, p. 467-474, 1974.
- LONG, J. R.; TRUSCOTT, R. B. Necrotic enteritis in broiler chickens III. Reproduction of the disease. *Can. J. Comp. Med.*, v. 40, p. 53-59, 1976.
- LÓPEZ-MARTÍN, J.; JUNOD, T.; RIQUELME, F. *et al.* Detection of *Salmonella* and *Mycobacterium* species in seagulls captured in Talcahuano, Chile. *Rev. Med. Chil.*, v. 139, n. 11, p. 1496-502, 2011.
- LUTTRELL, P.; FISCHER, J. R. Mycoplasmosis. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. *Infectious diseases in wild birds*. Iowa: Blackwell Publishing Ltd, 2007. p.317-331.
- MCFERRAN, J. B.; GORDON, W. A.; TAYLOR, S. M. *et al.* Isolation of viruses from 94 flocks of fowls with respiratory disease. *Res. Vet. Sci.*, v. 12, n. 6, p. 565-569, 1971.
- MARQUES, M. V. R. Avaliação sanitária de cracídeos e tinamídeos de cativeiro no estado de Minas Gerais. 2010. 84f. Dissertação (Mestrado em ciência animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- MARQUES, M. V. R.; JUNIOR, F. C. F.; ANDERY, D. A. *et al.* Serologic, Parasitic, and Bacteriologic Assessment Of Captive Cracids (Aves: Galliformes: Cracidae) in Brazil. *J. Zoo Wildl. Med.*, v. 44, p. 27-34, 2013.
- MARQUES, M. V. R.; JUNIOR, F. C. F.; ANDERY, D. A. *et al.* Health Assessment of Captive Tinamids (Aves, Tinamiformes) in Brazil. *J. Zoo Wildl. Med.*, v. 43, p. 539-548, 2012.
- MARTINS, N. R. S.; RESENDE, J. S. Adenovirose, reovirose, rotavirose e virose intestinais. In: JÚNIOR BERCHIERI, A.; SILVA, NEPOMUCENO, E.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. *Doenças das Aves*. Campinas: Facta, 2009. cap.5.6, p. 677-706.
- MATUSHIMA, E. R. Técnicas necroscópicas. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. *Tratado de animais selvagens – Medicina Veterinária*. São Paulo: Roca, 2007. Cap 61, p. 980-990.
- MCFERRAN, J. B.; GORDON, W. A. M.; TAYLOR, S. M. *et al.* Isolation of viruses from 94 flocks of fowl with respiratory disease. *Res. Vet. Sci.*, v. 12, p. 565-569, 1971.
- MCORIST, S.; REECE, R. Clostridial enteritis in free-living lorikeets (*Trichoglossus* sp.). *Avian Pathol.*, v. 21, p. 503-507, 1992.
- MEER, R. R.; SONGER, J. G. Multiplex polymerase chain reaction assay for genotyping *Clostridium perfringens*. *Am. J. Vet. Res.*, v. 58, n. 7, p. 702-705, 1997.
- MEULEMANS, G.; BOSCHMANS, M.; BERG, T. P. *et al.* Polymerase chain reaction combined with restriction enzyme analysis for detection and differentiation of fowl adenovirus. *Avian Pathol.*, v. 30, n. 6, p. 655-660, 2001.

- MIKAELIAN, I.; DAIGNAULT, D.; DUVAL, M. C. *et al.* *Salmonella* infection in wild birds from Quebec. *Can. Vet. J.*, v. 38, p. 385, 1997.
- MIKAELIAN, I.; LEY, D. H.; CLAVEAU, R. *et al.* Mycoplasmosis in evening and pine grosbeaks with conjunctivitis in Quebec. *J. Wildl. Dis.*, v. 37, n.4, p. 826–830, 2001.
- MILLER, P. J.; DECANINI, E. L.; AFONSO, C. L. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infect. Genet. Evol.*, v. 10, n. 1, p. 26–35, 2010.
- MORNER, T.; OBENDORF, D. L.; ARTOIS, M. *et al.* Surveillance and Monitoring of Wildlife Diseases. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* n. 21, p. 67-76, 2002.
- MONREAL, G. Adenoviruses and adeno-associated viruses of poultry. *Poult. Sci. Rev.*, n. 4, p. 1-27, 1992.
- MOTTA, R. O. C. Malária aviária em cracídeos: influências sobre a hematologia, bioquímica sanguínea e perfil eletroforético de proteínas plasmáticas. 2011. 139f. Tese (Doutorado em Parasitologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- MOTTA, R. O. C.; MARQUES, M. V. R.; FERREIRA JUNIOR, F. C. *et al.* Does haemosporidian infection affect hematological and biochemical profiles of the endangered Black-fronted piping-guan (*Aburria jacutinga*)?. *PeerJ*, v. 1, p. e45, 2013.
- MUNSON, L.; COOK, R. A. Monitoring, investigation and surveillance of diseases in captive wildlife. *J. Zoo. Wildl. Med.*, v. 24, n. 3, p. 281-290, 1993.
- MURATTA, K. Prevalence of blood parasite in Japanese wild birds. *Parasitol.*, v. 64, n. 9, p. 785-790, 2002.
- NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A.; NASCIMENTO, M. G. F. *et al.* L. Avian Mycoplasmosis Update. *Braz. J. Poult. Sci.*, v. 7, n. 1, p. 01-09, 2005.
- NAYAK R, KENNEY PB, KESWANI J, RITZ C. Isolation and characterisation of *Salmonella* in a turkey production facility. *Br. Poult. Sci.*, v. 44, n. 2, p. 192-202, 2003.
- NEWMAN, S. H.; PADULA, V.M., CRAY C. *et al.* Health assessment of Black-crowned Night-herons (*Nycticorax nycticorax*) of the New York Harbor estuary. *Comp. Biochem. Physiol.*, n. 148, part B, p. 363-374, 2007.
- OIE, WORLD ORGANISATION OF ANIMAL HEALTH. Chapter 2.3.5. - Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*). In: OIE. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Terrestrial Manual)*. Paris: OIE, 2008.
- OLIVEIRA, S. D., SANTOS, L. R., SCHUCH, D. M. T., *et al.* Detection and identification of salmonellas from poultry by PCR. *Vet. Microbiol.*, v. 87, p. 25–35, 2002.
- OLIVEIRA JUNIOR, J. G.; PORTZ, C.; LOUREIRO B. O. *et al.* Vírus da Doença de Newcastle em aves não vacinadas no Estado do Rio de Janeiro. *Cienc. Rural*, v. 33, n. 2, p. 381-383, 2003.
- OLSON, N. O. A respiratory disease (bronchitis) of quail caused by a virus. *Proc 54th Annu Meet US Livestock Sanit Assoc*, p. 171-174, 1950.
- ORTEGO, J.; CORDERO, P. J.; APARICIO, J. M. *et al.* Consequences of chronic infections with three different avian

- malaria lineages on reproductive performance of lesser kestrels (*Falco naumanni*). *J. Ornithol.*, v. 149, p. 337-343, 2008.
- PADILLA, L. R.; HUYVAERT, K. P.; MERKEL, J. L.V.T. *et al.* Hematology, plasma chemistry, serology, and *Chlamydophila* status of the waved albatross (*Phoebastria irrorata*) on the Galapagos islands. *J. Zoo. Wildl. Med.*, v. 34, n. 3, p. 278-283, 2003.
- PALINAUSKAS, V.; VALKIUNAS, G.; BOLSHAKOV, C. V. *et al.* *Plasmodium relictum* (lineage P-SGS1): effects on experimentally infected passerine birds. *Experim. Parasitol.*, v. 120, p. 372-380, 2008.
- PALINAUSKAS, V.; VALKIŪNAS, G.; KRIŽANAUSKIENE A. *et al.* *Plasmodium relictum* (lineage P-SGS1): further observation of effects on experimentally infected passeriform birds, with remarks on treatment with Malarone™. *Experim. Parasitol.*, v. 123, p. 134-139, 2009.
- PETROVAY, F.; BALLA, E. Two fatal cases of psittacosis caused by *Chlamydophila psittaci*. *J. Med. Microbiol.*, v. 57, p. 1296–1298, 2008.
- PEREIRA, R. A.; CANAL, C. W.; SCHMIDT, V. Detecção de *Salmonella* Anatum em ema (*Rhea americana*). *Cienc. Rural*, v. 38, n. 3, p. 823-825, 2008.
- PERELLE, S.; GIBERT, M.; BOQUET, P. *et al.* Characterization of *Clostridium perfringens* Iota-toxin genes and expression in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, v. 61, n. 12, p. 5147-5156, 1993.
- PERES, C. A. Effects of subsistence hunting on vertebrate community structure in Amazonian forests. *Conserv. Biol.*, v. 14, n. 1, p. 240-253, 2000a.
- PERES, C. A. Evaluating the impact and sustainability of subsistence hunting at multiple Amazonian forest sites. In: ROBINSON J. G.; BENNETT E. L. (Eds.). *Hunting for sustainability in tropical forests*. New York: Columbia University Press, 2000b. p. 31-56.
- PESSÔA, G. V. A.; SILVA, E. A. M. Meios de Rugai e Lisina-Motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 32, p. 97-100, 1972.
- PLANO de Ação para a Conservação do mutum-do-sudeste *Crax blumenbachii*. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, v. 1, 2004. 64 p. (Série Espécies Ameaçadas)
- PLANO de Ação para a Conservação do Mutum-de-Alagoas (*Mitu mitu* = *Pauxi mitu*) Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, v. 7, 2008. 48 p. (Série Espécies Ameaçadas)
- PREIS, I. S.; BRAGA, J. F. V.; COUTO, R. M. *et al.* Outbreak of infectious laryngotracheitis in large multi-age egg layer chicken flocks in Minas Gerais, Brazil. *Pes. Vet. Bras.*, v. 33, n. 5, p. 591-596, 2013.
- RAHN, K.; DE GRANDIS, S. A.; CILARKE, R. C. *et al.* Amplification of an invA gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Mol. Cell Probe.*, v. 6, p. 271-279, 1992.
- RASO, T. F.; BERCHIERI J. R. A.; PINTO, A. A. Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive amazon parrot in Brazil. *J. Zoo Wildl. Med.* v.33, n.2, p. 118–121, 2002.

- RASO, T. F.; GODOY, S. N., MILANELO, L. *et al.* An outbreak of chlamydiosis in captive blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) in Brazil. *J. Zoo Wildl. Dis.*, v. 35, n. 1, p. 94-96, 2004.
- RASO, T. F.; SEIXAS, G. H. F.; GUEDES, N. M. R. *et al.* *Chlamydophila psittaci* in free-living Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) and Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Vet. Microbiol.*, v.117, n.2-4, p. 235–241, 2006.
- RASO, T. F.; CARRASCO, A. O. T.; SILVA, J. C. R. *et al.* Seroprevalence of antibodies to *Chlamydophila psittaci* in zoo workers in Brazil. *Zoonoses Public Health*, v. 57, p. 411-416, 2008.
- RASO, T. F. Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae*, *Salmonella pullorum* and hemoparasites in an Alagoas Curassow (*Pauxi mitu*) population in Brazil. In: 25th International Ornithological Congress, 2010, Campos do Jordão - SP. Abstracts 25th International Ornithological Congress 2010. p. 849.
- RECHE, M. P.; JIMÉNEZ, P. A.; ALVAREZ, F. *et al.* Incidence of salmonellae in captive and wild free-living raptorial birds in central Spain. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health*, v. 50, n. 1, p. 42-44, 2003.
- RIDDELL, C.; VAN-DEN-HURK, J. V.; COPELAND, S. *et al.* Virus tracheitis in goslings in Saskatchewan. *Avian Dis.*, n. 36, p. 158-163, 1992.
- ROBINSON, J. G.; BENNETT, E. L. Carrying capacity limits to sustainable hunting in tropical forests. In: ROBINSON J. G.; BENNETT E. L. (Eds.). *Hunting for sustainability in tropical forests*. New York: Columbia University Press, 2000. p. 13-30.
- SACHSE, K.; LAROUCAU, K.; VORIMORE, F. *et al.* DNA microarray-based genotyping of *Chlamydophila psittaci* strains from culture and clinical samples. *Vet. Microbiol.* v. 135, n. 1-2, p. 22-30, 2009.
- SANGUINETTI, C. J.; NETO, E. D.; SIMPSON, A. J. G. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *BioTechniques*, v. 17, p. 914-921, 1994.
- SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. (Ed.). *Molecular cloning: A Laboratory Manual*, New York: CHSL Press, 2001.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *PNAS. USA*, v. 74, p. 5463-5467, 1977.
- SANTOS, H. F. Anticorpos contra vírus de aves em galinhas de terreiro e cracídeos. identificação e susceptibilidade a antimicrobianos da microbiota de cracídeos cativos no RS, Brasil. 2008. 55f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- SCHRENZEL, M. D.; MAALOUF, G. A.; KEENER, L. L. *et al.* Molecular characterization of malarial parasites in captive passerine birds. *J. Parasitol.*, v. 89, n. 5, p. 1025-1033, 2003.
- SEAL, U. S.; ARMSTRONG, D. Comments on the Executive Summary and recommendations - Report of the Disease Risk Workshop. Nebraska: International Union for Conservation of Nature/Conservation Breeding Specialist Group, 2000. p. 9 – 11.
- SHARPLES, E.; BAINES, S. J. Prevalence of *Chlamydophila psittaci*-positive cloacal PCR tests in wild avian casualties in the UK. *Vet. Rec.*, v. 164, p. 16-17, 2009.

- SCHMIDT, U., H. HANTSCHHEL, P. SCHULZE, *et al.* Untersuchungen über eine Mischinfektion von aviarem Adenovirus und dem virus der infektiösen bronchitis. Arch. Exp. Vetmed., v. 24, p. 587-607, 1970.
- SHIVAPRASAD, H. L. Pullorum Disease and Fowl Typhoid. In: SAIF, Y. M. Dis. poultry. 11.ed. Iowa: Iowa State, 2003. p. 568-582.
- SICK H. Ornitologia brasileira. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2001. 862 p.
- SILVA, R. O. S.; SALVARANI, F. M.; ASSIS, R. A. *et al.* Antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* strains isolated from broiler chickens. Braz. J. Microbiol., v. 40, p. 262-264, 2009.
- SILVA, R. O. S.; FERREIRA JUNIOR, F. C.; MARQUES, M. V. R. *et al.* Genotyping and antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from Tinamidae, Cracidae and Ramphastidae species in Brazil. Cienc. Rural, v. 44, n. 3, p. 486-491, 2014.
- SILVA, J. L.; STRAHL S. D.. Human impact in populations of chachalacas, guans and curassows (Galliformes: Cracidae) in Venezuela. In: ROBINSON, J. G.; REDFORD K. H. (Eds.). Neotropical wildlife use and conservation. Chicago: University of Chicago Press, 1991. p. 37-52
- SILVEIRA, L. F.; STRAUBE, F. C. Aves. In: MACHADO, A. B. M., DRUMMOND G. M., PAGLIA A. P. (Eds.) Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. 1.ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, v.2, 2008. p. 378-679.
- SLAVIĆ, D.; BOERLIN, P.; FABRI, M. *et al.* Antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* isolates of bovine, chicken, porcine, and turkey origin from Ontario. Can. J. Vet. Res., v. 75, p. 89-97, 2011.
- SMITH, K. A.; BRADLEY, K. K.; STOBIERSKI, M. G. *et al.* Compendium of measures to control *Chlamydoxiphila psittaci* (formerly *Chlamydia psittaci*) infection among humans (psittacosis) and pet birds. J. Am. Vet. Med. Assoc, v. 226, p. 532-539, 2005.
- SMITH, K. F.; ACEVEDO-WHITEHOUSE, K.; PEDERSEN, A. B. The role of infectious diseases in biological conservation. Anim. Conserv., v. 12, p. 1-12, 2008.
- SMITH, K. M.; KARESH, W. B.; MAJLUF, P. *et al.* Health Evaluation of free-ranging humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*) in Peru. Avian Dis., v. 52, n. 1, p. 130-135, 2008.
- SCHMIDT, U.; HANTSCHHEL, H.; SCHULZE, P. *et al.* Untersuchungen über eine mischinfektion von aviarem adenovirus und dem virus der infektiösen bronchitis [Investigations of a mixed infection of adenovirus aviarem and the virus of infectious bronchitis]. Arch. Exp. Vet. Med., v. 24, p. 587-607, 1970.
- SMITH, W. A.; MAZET, J. A.; HIRSH; D. C. *Salmonella* in California wildlife species: prevalence in rehabilitation centers and characterization of isolates. J. Zoo Wildl. Med., v. 33, n. 3, p. 228-235, 2002.
- SONGER, J. G. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin. Microbiol., v. 9, n. 2, p. 216-234, 1996.
- STRAHL, S. D.; GRAJAL, A. Conservation of large avian frugivores and the management of Neotropical protected areas. Oryx, v. 25, n. 1, p. 50-55, 1991.
- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N. *et al.* MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using

maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, n. 121, v. 2, 2012.

TRAVIS, E. K.; VARGAS, F. H.; MERKEL, J. *et al.* Hematology, plasma chemistry, and serology of the flightless cormorant (*Phalacrocorax harrisi*) in the Galápagos Islands, Ecuador. *J. Wildl. Dis.*, v. 42, n. 1, p. 133-144, 2006.

TOCIDLOWSKI, M. E. Medical Management of Curassows. In: FOWLER M. E; MILLER R. E. (Eds.). *Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy*. 6.ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 186-190.

TURPIN, E. A.; STALLKNECHT, D. E.; SLEMONS, R. D. *et al.* Evidence of avian metapneumovirus subtype C infection of wild birds in Georgia, South Carolina, Arkansas and Ohio, USA. *Avian Pathol.*, n. 37, v. 3, p. 343-51, 2008.

UHART, M. M.; QUINTANA, F.; KARESH, W. B. *et al.* Hematology, plasma biochemistry, and serosurvey for selected infectious agents in southern giant petrels from Patagonia, Argentina. *J. Zoo Wildl. Med.*, v. 39, n. 2, p.359-365, 2003.

VALKIŪNAS, G. Avian malaria parasites and other haemosporidia. Boca Raton: CRC, 2005. 935p.

VALKIŪNAS, G.; IEZHOVA, T. A.; KRIŽANAUSKIEN, A. *et al.* A comparative analysis of microscopy and PCR-based detection methods for blood parasites. *J. Parasitol.*, v. 94, n. 6, p. 1395-1401, 2008.

VAN ASTEN, A. J.A.M.; NIKOLAOU, G. N.; GRÖNE, A. The occurrence of cpb2-toxigenic *Clostridium perfringens* and the

possible role of the β 2-toxin in enteric disease of domestic animals, wild animals and humans. *Vet. J.*, v. 183, p. 135-140, 2010.

VAN IMMERSEEL, F.; DE BUCK, J.; PASMANS, F. *et al.* *Clostridium perfringens* in poultry: An emerging threat for animal and public health. *Avian Pathol.*, v. 33, n. 6, p. 537-549, 2004.

VIEIRA, A. A. S.; GUEDES, R. M. C.; SALVARANI, F. M. *et al.* Genotipagem de *Clostridium perfringens* isolados de leitões diarréicos. *Arq. Inst. Biol.*, v. 75, n. 4, p. 513-516, 2008.

WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S.; KIBOI, S. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. *Mol. Ecol.*, v. 11, p. 1545-1554, 2002.

WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S.; HASSELQUIST, D. *et al.* A new Nested polymerase chain reaction method very efficient in detecting *Plasmodium* and *Haemoproteus* infections from avian blood. *J. Parasitol.*, v. 90, n. 1, p. 191-194, 2004.


WARNER, R.E. 1968. The role of introduced diseases in the extinction of the endemic hawaiian avifauna. *Condor*, v. 70, p. 101-120, 1968.

WOBESER G.; LEIGHTON, F. A.; NORMAN, R. *et al.* Newcastle disease in wild water birds in western Canada, 1990. *Can. Vet. J.*, v. 34, n. 6, p. 353-359, 1993.

YOHANNES, E.; HANSSON, B.; LEE, R. W. *et al.* Isotope signatures in winter moulted feathers predict malaria prevalence in a breeding avian host. *Oecologia*, v. 158, p. 299-306, 2008.

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de aprovação do protocolo 20/2009 pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG).



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 20/2009**, relativo ao projeto intitulado "**Avaliação sanitária de Cracídeos e Tinamídeos de cativeiro no Estado de Minas Gerais**", que tem como responsável(is) **Nelson Rodrigo da Silva Martins**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **15/ 04/2009**.

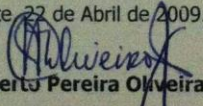
Este certificado expira-se em **15/ 04/ 2014**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 20/2009**, related to the project entitled "**Sanitary evaluation of captive cracids and tinamids in the state of Minas Gerais**", under the supervisors of **Nelson Rodrigo da Silva Martins**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **April 15, 2009**.

This certificate expires in **April 15, 2014**.

Belo Horizonte, 22 de Abril de 2009.



Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

(Mod.Cert. v1.0)

Anexo 2. Autorização para atividades com finalidade científica pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), protocolo 31108-1.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 31108-1	Data da Emissão: 14/10/2011 07:46
Dados do titular	
Nome: Marcus Vinicius Romero Marques	CPF: 068.849.996-16
Título do Projeto: Avaliação sanitária de cracideos em cativeiro - Etapa 2	
Nome da Instituição: UFMG - UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS	CNPJ: 17.217.985/0001-04

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de amostras biológicas	10/2011	10/2013
2	Avaliação dos resultados	10/2011	12/2013
3	Processamento das amostras	10/2011	12/2013
4	Defesa de Tese e produção de artigos e planos de manejo	10/2011	03/2014
5	Entrega do relatório ao SISBIO	04/2014	12/2014

De acordo com o art. 35 da IN 154/2007, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de fora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos, e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação de legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/ogen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade e fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	CONTAGEM	MG	CRAX Sociedade de Pesquisa e Reprodução da Fauna Silvestre	Fora de UC
2	SÃO GONÇALO DO RIO ABAIXO	MG	Estação Ambiental de PETI - CEMIS	Fora de UC
3	POÇOS DE CALDAS	MG	Criadouro Foca de Caldas	Fora de UC
4	BELO HORIZONTE	MG	Fundação Zoológica de Belo Horizonte	Fora de UC
5	BETIM	MG	Vale Verde	Fora de UC
6	POZ DO QUIAÇU	PR	Parque das Aves	Fora de UC

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
---	-----------	--------

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

Código de autenticação: 22811199



Página 1/3

Anexo 3. Formulário contendo informações dos mutuns-de-bico-vermelho (*Crax blumenbachii*) avaliados.

Amostra	Nome científico	Nome popular	Anilha	Sexo	Recinto	Local
387	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		159 Fêmea	2B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
388	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		631 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
389	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		634 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
390	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		630 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
391	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		628 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
392	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		633 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
393	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		629 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
394	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		637 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
395	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		643 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
396	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		632 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
397	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		635 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
398	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		640 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
399	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		636 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
400	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		581 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
401	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		598 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
402	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		576 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
403	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		593 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
404	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		619 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
405	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		566 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
406	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		706 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
407	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		620 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
408	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		645 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
409	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		712 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
410	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		565 Macho		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
411	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		618 Fêmea		CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
412	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9825 Fêmea	38C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
413	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9476 Fêmea	23C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
414	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9853 Fêmea	28B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
415	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		119 Fêmea	60A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
416	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		163 Fêmea	19A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
417	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9255 Macho	46A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

449	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9649	Macho	51A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
450	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9356	Fêmea	51A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
451	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.18		Fêmea	56A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
452	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		417	Macho	56A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
453	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		580	Macho	60A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
454	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		409	Macho	1A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
455	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9757	Fêmea	1A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
456	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.09		Macho	4A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
457	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.35		Fêmea	4A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
458	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		208786	Macho	5A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
459	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9278	Fêmea	5A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
460	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		8964	Macho	6A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
461	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	03.01		Fêmea	6A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
462	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		375	Fêmea	7A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
463	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		441	Macho	7A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
464	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		446	Fêmea	8A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
465	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		427	Macho	8A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
466	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		162	Macho	9A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
467	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		108	Fêmea	9A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
468	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	03.33		Fêmea	13A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
469	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		450	Macho	13A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
470	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	03.27		Fêmea	26A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
471	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.19		Macho	26A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
472	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		415	Fêmea	29A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
473	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.08		Macho	29A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
474	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.17		Fêmea	30A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
475	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.38		Macho	30A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
476	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		416	Macho	31A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
477	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		420	Fêmea	31A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
478	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9704	Fêmea	35A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

479	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9811	Macho	35A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
480	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	607	Fêmea	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
481	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	380	Macho	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
482	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	601	Fêmea	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
483	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	587	Macho	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
484	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	608	Macho	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
485	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	623	Macho	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
486	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	379	Fêmea	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
487	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	605	Macho	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
488	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	IBAMA ES 150723	Fêmea	73A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
489	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	03.28	Macho	73A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
490	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	428	Fêmea	70A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
491	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	430	Macho	70A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
492	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	436	Macho	66A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
493	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	138	Fêmea	66A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
494	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	444	Macho	1B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
495	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9506	Fêmea	1B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
496	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9657	Fêmea	21B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
497	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9658	Macho	21B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
498	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	158	Macho	23B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
499	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	151	Fêmea	23B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
500	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9431	Fêmea	24B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
501	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9707	Macho	24B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
502	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	435	Macho	24B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
503	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	412	Fêmea	24B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
504	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	171	Macho	25B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
505	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9550	Fêmea	25B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
506	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9510	Fêmea	26B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
507	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	9703	Macho	26B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
508	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	X06893	Fêmea	26B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

509	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		166	Macho	26B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
510	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9962	Macho	27B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
511	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	IBAMA ES 15.0 3347		Fêmea	27B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
512	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		154	Macho	27B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
513	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	00.15		Fêmea	27B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
514	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		160	Macho	28B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
515	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9313	Macho	28B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
516	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9328	Fêmea	28B1	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS3	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		603	Macho	80A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS52	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.13		Fêmea	150A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS54	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9855	Macho	75A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS55	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9223	Fêmea	75A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS62	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9433	Fêmea	22B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS63	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho	02.49		Macho	22B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS69	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9447	Macho	25B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
MS80	<i>Crax blumenbachii</i>	Mutum-do-bico-vermelho		9919	Fêmea	28B2	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

Anexo 4. Formulário contendo informações dos mutuns-do-nordeste (*Pauxi mitu*) avaliados.

Sigla	Nome científico	Nome popular	Anilha	Sexo	Idade	Puro/Híbrido	Recinto	Local
PM1	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 61901	Macho	Adulto	Puro	219	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM2	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 33399	Fêmea	Adulto	Híbrido	219	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM3	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 1356	Fêmea	Adulto	Puro	221	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM4	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 04 92	Macho	Adulto	Híbrido	221	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM5	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 100502	Fêmea	Adulto	Híbrido		Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM6	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 02 92	Macho	Adulto	Híbrido		Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM7	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 33199	Macho	Adulto	Puro	228	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM8	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 07 95	Fêmea	Adulto	Puro	228	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM9	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 04 98	Fêmea	Adulto	Puro	223	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM10	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 73901	Fêmea	Adulto	Híbrido	222	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM11	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 95702	Macho	Adulto	Híbrido	222	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM12	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	Poços 77233		Adulto	Híbrido	233	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM13	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 1253	Macho	Adulto	Puro	215	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM14	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 33299	Fêmea	Adulto	Híbrido	215	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM15	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CPC 1254	Macho	Adulto	Puro	225	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM16	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 06 92	Fêmea	Adulto	Puro	225	Criatório Científico e Cultural de Poços de Caldas CCCPC
PM17	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 99	Fêmea	Adulto	10%H	V1 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM18	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 496	Macho	Adulto	Puro	V2 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM19	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 492	Fêmea	Adulto	Puro	V2 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM20	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 01 03	Fêmea	Adulto	Puro	V3 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM21	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 01 00	Macho	Adulto	Puro	V3 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM22	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 33	Fêmea	Adulto	Híbrido	V4 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM23	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 556	Macho	Adulto	Híbrido	V4 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM24	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 00 15	Fêmea	Adulto	Puro	V5 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM25	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 04 99	Fêmea	Adulto	Híbrido	V6 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM26	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 00 08	Macho	Adulto	Híbrido	V6 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM27	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 13 00	Fêmea	Adulto	Híbrido	V7 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM28	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 02 91	Macho	Adulto	Híbrido	V7 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM29	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 104	Macho	Adulto	Puro	V8 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM30	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 11 00	Fêmea	Adulto	Híbrido	V8 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM31	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 01 02	Fêmea	Adulto	Híbrido	V9 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

PM32	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 01 05	Macho	Adulto	Híbrido	V9 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM33	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 36	Fêmea	Adulto	Híbrido	V10 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM34	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 101	Macho	Adulto	Híbrido	V10 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM35	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 03 17	Macho	Adulto	Puro	V11 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM36	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 117	Fêmea	Adulto	10%H	V11 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM37	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 03 26	Macho	Adulto	Híbrido	V12 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM38	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 44	Fêmea	Adulto	Híbrido	V12 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM39	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 454	Macho	Adulto	10%H	V14 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM40	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 04	Fêmea	Adulto	Puro	V14 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM41	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 29	Fêmea	Adulto	Puro	V16 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM42	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 07	Macho	Adulto	Puro	V18 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM43	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 30	Fêmea	Adulto	Puro	V21 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM44	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 489	Fêmea	Adulto	Puro	V21 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM45	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 491	Fêmea	Adulto	Híbrido	V22 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM46	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 505	Macho	Adulto	Puro	V22 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM47	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 21	Macho	Adulto	Puro	V23 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM48	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 560	Fêmea	Adulto	Puro	V24 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM49	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 05	Macho	Adulto	Híbrido	V24 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM50	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 31	Fêmea	Adulto	Híbrido	V27 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM51	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 22	Macho	Adulto	Híbrido	V28 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM52	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 472	Fêmea	Adulto	Híbrido	V28 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM53	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 451	Macho	Adulto	Híbrido	V29 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM54	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 10	Fêmea	Adulto	Híbrido	V29 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM55	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 466	Fêmea	Adulto	Híbrido	V30 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM56	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 473	Macho	Adulto	Híbrido	V30 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM57	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 40	Macho	Adulto	Híbrido	V40 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM58	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 34	Fêmea	Adulto	Híbrido	V40 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM59	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 136	Macho	Jovem	Puro	V41 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM60	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 146	Fêmea	Adulto	Híbrido	V42 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM61	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 150	Macho	Adulto	10%H	V43 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM62	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 141	Fêmea	Adulto	Puro	V43 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM63	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 11	Macho	Adulto	Puro	V44 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM64	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 28	Macho	Adulto	10%H	V45 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

PM65	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 06	Macho	Adulto	Puro	V46 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM66	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 00 09	Fêmea	Adulto	Híbrido	V46 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM67	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 03 36	Fêmea	Adulto	Híbrido	V47 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM68	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 452	Fêmea	Adulto	Híbrido	V47 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM69	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 134	Fêmea	Adulto	Puro	V48 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM70	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 145	Macho	Adulto	Híbrido	V48 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM71	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 24	Fêmea	Adulto	Híbrido	V49 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM72	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 46	Macho	Adulto	10%H	V49 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM73	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 03 09	Macho	Adulto	Híbrido	V51 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM74	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 487	Macho	Adulto	Puro	V51 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM75	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 139	Fêmea	Jovem	Híbrido	V53 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM76	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 140	Fêmea	Jovem	Híbrido	V53 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM77	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 132	Macho	Jovem	Puro	V53 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM78	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 147	Macho	Jovem	Puro	V54 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM79	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 02 01	Fêmea	Jovem	Híbrido	V55 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM80	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 457	Macho	Jovem	Híbrido	V55 - C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM81	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 411	Macho	Jovem	Puro	V14 - B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM82	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 418	Macho	Jovem	Puro	V14 - B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM83	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 419	Fêmea	Jovem	Híbrido	V14 - B	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM84	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 04 94	Macho	Adulto	Puro	V74-A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM85	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 94	Fêmea	Adulto	Híbrido	V41-C	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM86	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 93	Macho	Adulto	Híbrido	V74 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM87	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 07 92	Fêmea	Adulto	Puro	V74 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM88	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 01 89	Fêmea	Adulto	Puro	V75 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM89	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 470	Macho	Adulto	Híbrido	V75 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM90	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 135	Fêmea	Adulto	Puro	V37 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM91	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	ZMN 03 97	Fêmea	Adulto	Puro	V36 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM92	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 142	Fêmea	Adulto	Puro	V29 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM93	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 116	Fêmea	Adulto	Puro	V27 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM94	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 465	Macho	Adulto	Puro	V27 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM95	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 0129	Macho	Adulto	Híbrido	V24 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM96	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 106	Macho	Adulto	Puro	V23 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

PM97	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	00 10	Fêmea	Adulto	Puro	V22 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM98	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	IBDF 002 84	Macho	Adulto	Híbrido	V17 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM99	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 148	Fêmea	Adulto	10%H	V15 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM100	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 456	Macho	Adulto	Puro	V15 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM101	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste	CB 366	Fêmea	Adulto	Puro	V20 - A	CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM102	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		535	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM103	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		369	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM104	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		508	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM105	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		530	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM106	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		594	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM107	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		368	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM108	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		548	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM109	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		377	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM110	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		364	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM111	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		372	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM112	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		370	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM113	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		541	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM114	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		374	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM115	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		373	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM116	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		532	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM117	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		544	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM118	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		533	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM119	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		367	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM120	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		537	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM121	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		531	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM122	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		488	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM123	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		506	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM124	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		529	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM125	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		538	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM126	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		362	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM127	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		539	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem
PM128	<i>Pauxi mitu</i>	Mutum-do-nordeste		550	Filhote			CRAX – Sociedade de Pesquisa do Manejo e Conservação da Fauna Silvestre - Contagem

Anexo 5. Identificação bioquímica da amostra de *Salmonella* número 217 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).

IMA / LSMA

Cliente bioMérieux:
Nº do Sistema:

Relatório do Laboratório

Impresso a 4/Jul/2013 16:47 CDT
Impressão Automática

Grupo de Isolados: 217/UFMG-1

Bionúmero: 0017610441166210

Microrganismo Seleccionado: *Salmonella* spp

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta:	GN	Nº de Lote:	241253010	Data de Validade:	17/Nov/2013 12:00 CST
	Concluído:	4/Jul/2013 17:01 CDT	Estado:	Final	Hora da Análise:	5,00 Horas
Microrganismo Seleccionado	99% Probabilidade		<i>Salmonella</i> spp		Bionúmero: 0017610441166210	
Microrganismo FRS					Confiança: Excelente identificação	
Microrganismos de Análise e Testes a Separar:						
Mensagens da Análise: Confirmar com testes serológicos						
Contradizem o(s) Perfí(l)(s) Biológico(s) Típico(s)						

Detalhes Bioquímicos																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	+	11	BNAG	(-)	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04
Norma de Interpretação CMI:
Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:
Último Parâmetro AES Modificado:

Anexo 6. Identificação bioquímica da amostra de *Salmonella* número 392 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).

IMA / LSMA

Cliente bioMérieux:
Nº do Sistema:

Relatório do Laboratório

Impresso a 4/Jul/2013 15:48 CDT
Impressão Automática

Grupo de Isolados: 392/UFMG-1

Bionúmero: 0015610461066210

Microorganismo Seleccionado: *Salmonella* spp

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta:	GN	Nº de Lote:	241266540	Data de Validade:	1/Abr/2014 13:00 CDT
	Concluído:	4/Jul/2013 16:01 CDT	Estado:	Final	Hora da Análise:	4,00 Horas
Microorganismo Seleccionado	99% Probabilidade		<i>Salmonella</i> spp		Bionúmero:	0015610461066210
Microorganismo FRS					Confiança:	Excelente identificação
Microorganismos de Análise e Testes a Separar:						
Mensagens da Análise: Confirmar com testes serológicos						
Contradizem o(s) Perfi(l)(s) Biológico(s) Típico(s)						

Detalhes Bioquímicos																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	+	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	+	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04
Norma de Interpretação CMI:
Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:
Último Parâmetro AES Modificado:

Anexo 7. Identificação bioquímica da amostra de *Salmonella* número 415 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).

IMA / LSMA

Cliente bioMérieux:
Nº do Sistema:

Relatório do Laboratório

Impresso a 4/Jul/2013 15:48 CDT
Impressão Automática

Grupo de Isolados: 415/UFMG-1

Bionúmero: 0015610461066210

Microorganismo Seleccionado: *Salmonella* spp

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta:	GN	Nº de Lote:	241266540	Data de Validade:	1/Abr/2014 13:00 CDT
	Concluído:	4/Jul/2013 16:00 CDT	Estado:	Final	Hora da Análise:	4,00 Horas
Microorganismo Seleccionado	99% Probabilidade		<i>Salmonella</i> spp		Bionúmero:	0015610461066210
Microorganismo FRS					Confiança:	Excelente identificação
Microorganismos de Análise e Testes a Separar:						
Mensagens da Análise: Confirmar com testes serológicos						
Contradizem o(s) Perfí(l)(s) Biológico(s) Típico(s)						

Detalhes Bioquímicos																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	+	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	+	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IIMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04

Norma de Interpretação CMI:

Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES: 425_4118

Norma de Interpretação Terapêutica:

Último Parâmetro AES Modificado:

Anexo 8. Identificação bioquímica da amostra de *Salmonella* número 476 no sistema VITEK® 2 (bioMérieux, Inc, EUA).

IMA / LSMA

Cliente bioMérieux:
Nº do Sistema:

Relatório do Laboratório

Impresso a 4/Jul/2013 15:48 CDT
Impressão Automática

Grupo de Isolados: 476/UFMG-1

Bionúmero: 0015610461066210

Microrganismo Seleccionado: *Salmonella* spp

Comentários:	

Informações da Identificação	Carta:	GN	Nº de Lote:	241266540	Data de Validade:	1/Abr/2014 13:00 CDT
	Concluído:	4/Jul/2013 16:00 CDT	Estado:	Final	Hora da Análise:	4,00 Horas
Microrganismo Seleccionado	99% Probabilidade		<i>Salmonella</i> spp		Confiança: Excelente identificação	
Bionúmero:	0015610461066210					
Microrganismo FRS						
Microrganismos de Análise e Testes a Separar:						
Mensagens da Análise: Confirmar com testes serológicos						
Contradizem o(s) Perfi(l)(s) Biológico(s) Típico(s)						

Detalhes Bioquímicos																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	+	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	+	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Versão do VITEK 2 Systems instalada: 05.04
Norma de Interpretação CMI:
Nome dos Conjuntos de Parâmetros AES:

Norma de Interpretação Terapêutica:
Último Parâmetro AES Modificado:

Anexo 9. Laudo de identificação das estirpes de *Salmonella* isoladas submetidas ao diagnóstico antigênico conclusivo, somático (O), flagelar (H) e (Vi) por detecção dos antígenos somáticos e flagelares.



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ
Laboratório de Enterobactérias
Centro de Ref. Nac. de Enteroinfecções Bacterianas



Destinatário: SR. NELSON RODRIGUES DA SILVA MARTINS
PROFESSOR ASSOCIADO IV

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA - DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA
SETOR DE DOENÇA DAS AVES

Endereço: AV. ANTÔNIO CARLOS, 6627 - CX. POSTAL 567 - BELO HORIZONTE / MG - CEP: 30123-970
Fone: (31) 3409-2080

Data da emissão da 3ª via do laudo: 14 / 10 / 2013 (COMPLEMENTAÇÃO DIAGNÓSTICA-PCR)

Data da emissão da 2ª via do laudo: 04 / 09 / 2013

Data da emissão da 1ª via do laudo: 29 / 07 / 2013

Data do recebimento da cepa: 17 / 07 / 2013

Nº. Do Laudo: 247 / 13

Nº da Folha: 01 / 01

Nº IOC	Nº ORIGEM	FONTE	IDENTIFICAÇÃO	*PERFIL DE RESISTÊNCIA	**GENES
2828	217	AN	<i>Salmonella</i> ser. Anatum	Sensível	Positivo
2829	392	AN	<i>Salmonella</i> ser. Saintpaul	Sensível	Positivo
2830	415	AN	<i>Salmonella</i> ser. Saintpaul	Intermediário: NIT	Positivo
2831	476	AN	<i>Salmonella</i> ser. Saintpaul	Intermediário: TCY,NIT	Positivo

Maurício de Sá
Responsável Técnico

Carine Luiza
Responsável pelo Laboratório
Chefe Substituta

NOR...
Revisor



* Antimicrobianos avaliados
AMP - Ampicilina / CHL - Cloranfenicol / TCY - Tetraciclina / FOX- Cefoxitina /
CAZ- Cefazidime / STR / Streptomicina / CIP - Ciprofloxacina / GEN - Gentamicina /
IMP - Imipenem / NAL - Ácido Náldixico / SXT - Trimetoprim-Sulfametoxazol /
NIT - Nitrofurantoina

** Genes de virulência avaliados:
SPI 1 - invIA, org A, sip A, hil A
SPI 2 - sse A
SPI 3 - matC