NATALIA PHILADELPHO AZEVEDO

Caracterização molecular de bornavírus, poliomavírus e circovírus em
aves de cativeiro, vida livre e criação comercial

São Paulo
2017

NATALIA PHILADELPHO AZEVEDO

**Caracterização molecular de bornavírus, poliomavírus e circovírus em aves
de cativeiro, vida livre e criação comercial**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em
Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Departamento:

Patologia

Área de Concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3539
FMVZ

Azevedo, Natalia Philadelpho
Caracterização molecular de bornavírus, poliomavírus e circovírus em aves de
cativoiro, vida livre e criação comercial. / Natalia Philadelpho Azevedo. -- 2017.
106 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira.

1. Bornavírus. 2. Vírus. 3. Aves. 4. Psitacídeos. 5. Canário I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BORNAVÍRUS, CIRCOVÍRUS E POLIOMAVÍRUS EM AVES DE CATIVEIRO, VIDA LIVRE E CRIAÇÃO COMERCIAL", protocolada sob o CEUA nº 1517240614, sob a responsabilidade de **Antonio José Piantino Ferreira e equipe; Natalia Philadelpho Azevedo** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 23/11/2016.

We certify that the proposal "MOLECULAR CHARACTERIZATION OF BORNAVIRUS, CIRCOVIRUS AND POLYOMAVIRUS IN CAPTIVE BIRDS, WILD BIRDS AND COMMERCIAL ESTABLISHMENT", utilizing 900 Birds (600 males and 300 females), protocol number CEUA 1517240614, under the responsibility of **Antonio José Piantino Ferreira and team; Natalia Philadelpho Azevedo** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 11/23/2016.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [09/2014](#) a [06/2018](#)

Área: [Ornitopatologia](#)

Origem:

Espécie:	Aves	sexo:	Machos	idade:	a	N:	150
Linhagem:	Canários			Peso:	a		

Origem: [Não aplicável biotério](#)

Espécie:	Aves	sexo:	Fêmeas	idade:	a	N:	150
Linhagem:	Passeriformes			Peso:	a		

Origem: [Amostras biológicas estocadas](#)

Espécie:	Aves	sexo:	Machos	idade:	a	N:	300
Linhagem:	Galliformes			Peso:	a		

Origem: [Amostras biológicas estocadas](#)

Espécie:	Aves	sexo:	Fêmeas	idade:	a	N:	150
Linhagem:	Anseriformes			Peso:	a		

Origem: [Animais de proprietários](#)

Espécie:	Aves	sexo:	Machos	idade:	a	N:	150
Linhagem:	Psitacídeos			Peso:	a		

Resumo: O Bornavirus aviário (ABV) é um vírus RNA de fita simples e polaridade negativa, envelopado, pertencente à família Bornaviridae. O ABV é responsável pela doença da dilatação proventricular (PDD) em psitacídeos e outras aves, uma doença neurológica fatal que foi descoberta no início dos anos 80 na Europa e na América do Norte. O Poliomavírus das aves (APV) foi descoberto em 1981, após um surto ocorrido no Texas em um aviário de periquitos australiano (*Melopsittacus undulatus*). É causador de perdas econômicas anuais substanciais para a avicultura, casa de venda de animais. O Circovírus pode causar uma doença fatal em aves, sendo de extrema importância na criação de aves de estimação. As aves serão selecionadas de forma aleatória, com ou sem a presença de sinais clínicos. Serão coletadas amostras (fezes, suabe de cloaca e penas ou órgãos) de passeriformes de vida livre (n=150), passeriformes e psitacídeos de cativeiro (n=150), galiformes de criação extensiva (n=150), galiformes comerciais (n=150) e anseriformes de criação extensiva (n=150), para testar a presença dos vírus nestas espécies. Além disso, serão inoculados 25 animais com Bornavírus a fim de testar a hipótese de uma apresentação diferente da doença em aves nativas. As amostras positivas serão caracterizadas molecularmente.

Local do experimento:

São Paulo, 04 de julho de 2017

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: AZEVEDO, Natalia

Título: Caracterização molecular de bornavírus, poliomavírus e circovírus em aves de cativeiro, vida livre e criação comercial

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Inicio os agradecimentos com a minha família: a meus pais: Maria de Jesus Garcia Philadelpho Azevedo e Philadelpho Azevedo Neto; ao meu irmão, Felipe Philadelpho Azevedo e a minha cunhada, Carla Linhares. Por estarem sempre presente e incentivando, por cederem os ouvidos todas as vezes que precisei desabafar, por acreditarem em mim mesmo quando eu mesmo não acreditava. Amo vocês.

Ao meu namorado, Sahelê Montoza de Oliveira Felício, companheiro de todas as horas, por todo o carinho e compreensão.

Não poderia deixar de agradecer também a minha segunda família, Luís Faria, Olga Penalva, Guilherme Penalva, Renata Penalva e Maria do Carmo. Por me fazerem sentir em casa em São Paulo, pela acolhida, pelo apoio e amor incondicional.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira, por me orientar e me apoiar e pela sua disponibilidade e a Prof. Dr. Claudete S. A. Ferreira, que juntos formam uma outra família que me acolheu com muito carinho.

Ao Dennis Rubbenstroth, pela disponibilidade e por oferecer seu conhecimento, ajudando na análise dos dados durante este trabalho. Sua parceria foi muito importante.

A FMVZ USP e ao VPT por me darem essa oportunidade de enriquecer meu conhecimento.

A Marta Brito Guimarães, que além de ceder parte do material utilizado neste projeto, sempre foi uma mentora e grande amiga.

A Yamê Miniero Davies e Luciana Allegretti Frazão pela ajuda no laboratório, por animar todo lugar que passam e pela amizade, que levarei para a vida toda.

Aos meus amigos Marcos P. V. Cunha, Gabriela Oliveira, Mirela Vilela, Dennis Zanatto, Claudia Carranza, Luis Nunes e Silvana Santander pelo companheirismo.

A University of Saskatchewan pela oportunidade de intercâmbio.

A meus amigos que fiz no Canadá, que tornaram esta experiência ainda mais especial: Tatiana Natasha, Alexandra Belota, Eduardo Bacchi, Amanda Nascimento, Carolina Malgarin, Tábata

Bagatim, Craig Baird, Carolina topan, Shelly Popowich, Ashish Gupta.

Aos membros da Banca Examinadora, por terem atendido ao convite e dispor de tempo e conhecimento para analisar este trabalho.

A Milena Francisco de Oliveira, sempre com bom humor ajudando com as burocracias da pós-graduação. Muito obrigada, você é parte essencial da vida de todos nós.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que participaram direta ou indiretamente neste projeto.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

RESUMO

AZEVEDO, N. P. **Caracterização molecular de bornavírus, poliomavírus e circovírus em aves de cativeiro, vida livre e criação comercial**, 2017. 106f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2017.

As doenças virais são de extrema importância para a saúde das aves. Os vírus podem se espalhar através de fezes, secreções respiratórias ou exfoliação epitelial de penas e pele, dificultando ainda mais esse controle. A utilização do PCR permite detecção de pequenas concentrações do vírus além da possibilidade de diagnosticar a patologia antes de iniciar alterações histológicas. O bornavírus aviário é responsável pela doença da dilatação pró-ventricular (PDD) em psitacídeos e outras aves, uma doença neurológica letal, que foi descoberta no início da década de oitenta na Europa e América do Norte. A detecção do vírus em passeriformes e outras famílias já ocorreu em alguns países. A ocorrência de poliomavírus em outras espécies diferentes dos psitacídeos não é estudada no Brasil, logo não se sabe se há ocorrência da doença nem em aves de cativeiro como em aves de vida livre. O presente trabalho teve como objetivo a padronização das técnicas de PCR e RT-PCR e o estudo epidemiológico dos três tipos virais descritos acima em aves de cativeiro no Brasil. Foram coletadas amostras de passeriformes de vida livre e passeriformes de cativeiro (n=327), galiformes de criação extensiva e comercial (n=90). Nenhuma amostra foi positiva para circovírus e nenhuma amostras de galiformes foi positiva para os vírus testados. A caracterização das amostras biológicas obtidas de psitacídeos resultou na descoberta de um novo genótipo, denominado PaBv-8, atualmente descrito apenas no Brasil. Das amostras de passeriformes testadas, foram encontradas 3 amostras positivas para bornavírus de canário (CnBv-1) e uma para poliomavírus. Esta é a primeira descrição de bornavírus em canário no Brasil. Duas das três amostras positivas para CnBv-1 pertenciam a canários de cativeiro que apresentavam sinais clínicos compatíveis com a doença, enquanto a terceira amostra pertencia a um pula-pula de vida livre, aparentemente assintomático. A ave positiva para poliomavírus apresentou crescimento excessivo do bico, sinal clínico compatível com lesão hepática, que pode ser causada pela infecção viral. A descrição de um novo genótipo assim como a identificação do vírus e da doença em passeriformes indica uma necessidade de reforçar os estudos sobre o assunto no país, assim como rever a legislação a fim de prevenir a disseminação de patógenos.

Palavras-chave: Bornavírus. Vírus. Aves. Psitacídeos. Canário.

ABSTRACT

AZEVEDO, N. P. **Molecular characterization of bornavirus, polyomavirus e circovirus in captive, wild-caught and commercial breeders birds**, 2017. 106f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2017.

Viral diseases are of extreme importance for the health of birds. Viruses can spread through feces, respiratory secretions or epithelial exfoliation of feathers and skin, making it even more difficult to control. The use of PCR allows the detection of small concentrations of the virus, giving the possibility of diagnosing the pathology before initiating histological alterations. The avian bornavirus is responsible for pro-ventricular dilation (PDD) disease in psittacines and other birds, a lethal neurological disease that was discovered in the early 1980s in Europe and North America. Virus detection in passerines and other families has already occurred in some countries. The occurrence of polyomaviruses in species other than psittaciformes was never studied in Brazil. It is not known whether the disease occurs in poultry or in free-living birds as well. The present study aimed to standardize the PCR and RT-PCR techniques and the epidemiological study of the three viral types described above in captive birds in Brazil. We collected samples from wild-caught and captive passeriformes (n = 327), galiformes from breeding facilities (n = 90) and captive psittacines (n=10). No samples were positive for circovirus. None of the galiformes samples were positive for any of the virus tested. The characterization of the biological samples obtained from psittacines resulted in the discovery of a new genotype, called PaBv-8, currently described only in Brazil. Passeriformes samples resulted in 3 positive samples for bornavirus, that were further analyzed as canarian bornaviruses 1 (CnBv-1) and one bird was positive for polyomavirus. This is the first description of bornavirus in canary in Brazil. Two out of the three CnBv-1-positive samples belonged to captive canaries showing clinical signs compatible with the disease, whereas the third sample belonged to an apparently asymptomatic free-living pua. The positive bird for polyomavirus presented excessive growth of the beak, clinical sign compatible with hepatic damage, that can be caused by the viral infection. The description of a new genotype as well as the identification of the virus and the disease in passeriformes indicates a need to reinforce the studies on the subject in the country, as well as to review the legislation to prevent the spread of pathogens.

Keywords: Bornavirus. Virus. Birds. Psittacines. Canary.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Árvore Filogenética de poliomavírus.....	32
Figura 2 -	Árvore filogenética do PaBv-8, segmento N-Com, com 345b bp.....	58
Figura 3 -	Árvore filogenética do PaBv-8, segmento M-Com, com 306 bp.....	59
Figura 4 -	Exame radiográfico de um canário apresentando dilatação proventricular. A amostra de fezes do mesmo indivíduo foi testada positiva para bornavírus.....	60
Figura 5 -	Árvore filogenética das amostras obtidas de canário.....	61
Figura 6 -	Canário com crescimento excessivo do bico.....	63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Distribuição das amostras de passeriformes coletadas de acordo com as espécies e origem das mesmas (vida livre ou cativoiro).....	48
Quadro 2 -	Detalhes das amostras coletadas de passeriformes de cativoiro, incluindo idade, identificação, origem e sinais clínicos.....	49
Quadro 3 -	Caracterização molecular do bornavírus em psitacídeos de cativoiro no Brasil revelando a presença de um novo genótipo.....	55
Quadro 4 -	Comparação entre os genótipos descritos de bornavírus e o PaBV-8.....	61
Quadro 5 -	Matrix de similaridade das amostras de bornavírus obtidas de passeriformes e no GenBank.....	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 BORNAVÍRUS.....	23
2.1.1 Introdução.....	23
2.1.2 Morfologia.....	25
2.1.3 Genótipos.....	25
2.1.4 Sinais clínicos.....	26
2.1.5 Diagnóstico.....	28
2.1.6 Patogenia.....	29
2.1.7 Tratamento.....	31
2.1.8 Vacina.....	32
2.1.9 Zoonose.....	33
2.1.10 Proventriculite em galinhas.....	34
2.2 POLIOMAVÍRUS.....	35
2.2.1 Introdução.....	35
2.2.2 Morfologia.....	35
2.2.3 Patogenia.....	37
2.2.4 Sinais clínicos.....	37

2.2.5 Diagnóstico.....	39
2.2.6 Poliomavírus e aves de vida livre.....	40
2.3 CIRCOVÍRUS.....	41
2.3.1 Introdução.....	41
2.3.2 Circovírus em pombos.....	42
2.3.3 Circovírus em patos.....	42
2.3.4 Circovírus em gansos.....	43
2.3.5 Circovírus em cisnes.....	43
2.3.6 Circovírus em canários.....	43
2.3.7 Morfologia.....	44
2.3.8 Sinais clínicos.....	45
2.3.9 Diagnóstico.....	46
2.3.10 Tratamento.....	46
2.4 ANEMIA INFECCIOSA DAS GALINHAS (CAV)	46
2.4.1 Morfologia.....	47
2.4.2 Sinais clínicos.....	47
2.4.3 Diagnóstico.....	48
2.4.4 CAV E Outras Aves.....	48
3 OBJETIVOS.....	49

4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
4.1 - AMOSTRAS.....	52
4.2 EXTRAÇÃO DE RNA	55
4.3 EXTRAÇÃO DE DNA.....	55
4.4 RT-PCR BORNAVÍRUS.....	56
4.5 PCR POLIOMAVÍRUS.....	57
4.6 PCR CIRCOVÍRUS.....	57
4.7 ANÁLISE DE SEQUENCIAMENTO.....	58
5 - RESULTADOS.....	59
5.1 -CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BORNAVÍRUS EM PSITACÍDEOS	60
5.2 - DETECÇÃO DE BORNAVÍRUS EM CANÁRIOS.....	65
5.3 - DETECÇÃO DE POLIOMAVÍRUS EM CANÁRIOS.....	68
5.4 – DETECÇÃO DE CIRCOVÍRUS	68
6 DISCUSSÃO.....	69
6.1 - BORNAVÍRUS EM PSITACÍDEOS.....	70
6.2 - BORNAVÍRUS EM PASSERIFORMES E GALIFORMES.....	74
6.3 POLIOMAVÍRUS EM PASSERIFORMES E GALIFORMES.....	78
6.4 - CIRCOVÍRUS EM PASSERIFORMES E GALIFORMES.....	80
7 - CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO GERAL

O bornavírus, poliomavírus e o circovírus estão entre as maiores causas de perdas econômicas na avicultura de aves silvestres e exóticas (PHALEN, 1998; KISTLER et al., 2008; HA et al., 2009; SZWEDA et al., 2011). Estes agentes afetam também aves de vida livre (BERT et al., 2005; PAYNE et al., 2011a), sendo de grande importância também na conservação de espécies.

A doença da dilatação proventricular (PDD) foi descrita pela primeira vez nos anos 70 nos Estados Unidos (MANNL; GERLACH; LEIPOLD, 1986; KISTLER et al., 2008). Contudo, o agente causador da doença, o bornavírus aviário, foi descrito apenas em 2008 (HONKAVUORI et al., 2008; KISTLER et al., 2008). O bornavírus é um vírus de RNA fita simples que causa uma doença neurológica fatal, caracterizada por uma ganglioneurite não supurativa (HONKAVUORI et al., 2008; KISTLER et al., 2008). Os sinais clínicos podem variar, podendo ser de origem gastrointestinal como a passagem de sementes não digeridas nas fezes, dilatação do proventrículo e emese; ou de origem neurológica, que incluem ataxia, tremores e convulsões (GERLACH; LEIPOLD, 1986; MANNL; KISTLER et al., 2008; GANCZ et al., 2009). Os psitacídeos são os mais susceptíveis (HONKAVUORI et al., 2008; KISTLER et al., 2008), porém o bornavírus afeta também outras espécies incluindo aves aquáticas, rapinantes e passeriformes (KISTLER et al., 2008; WEISSENBOCK et al., 2009a; PAYNE et al., 2011a).

Descoberto em 1981 no Texas após um surto ocorrido em um criatório de periquitos australiano (*Melopsittacus undulatus*) (BOZEMAN et al., 1981), o poliomavírus das aves (APV) é causador de perdas econômicas anuais substanciais para a avicultura, casa de venda de animais (PHALEN, 1998). A doença é caracterizada por uma hemorragia generalizada, podendo ser observado hematomas subcutâneos (PHALEN et al., 2000), ascite, edema e distrofia em (PHALEN, 2005). A maior evidencia da doença em um plantel, entretanto, é a maior mortalidade de filhotes e menor taxa de ovos férteis (PHALEN, 1998). Apesar da distribuição mundial do vírus (ENDERS et al., 1997; PHALEN et al., 2000; BERT et al., 2005; WOLFF et al., 2006; DEB et al., 2010; ZHUANG et al., 2012; ALLEY et al., 2013; BENNETT; GILLET, 2014), pouco se

estudou sobre ele no Brasil (PHILADELPHO et al., 2015). O APV é comumente descrito em psitacídeos, entretanto, pode ocorrer em passeriformes também (GARCIA et al., 1993; ALLEY et al., 2013), apesar de ser menos descrito. O sinal clínico mais comum é a morte súbita (ALLEY et al., 2013).

O circovírus afeta várias espécies de aves. A doença mais comum entre as espécies silvestres é a doença do bico e das penas de psitacídeos, descrita pela primeira vez em 1975 (LATIMER et al., 1990). Entretanto, o circovírus afeta pombos (PiCV), galinhas (anemia infecciosa das galinhas), patos, gansos, cisnes e canários (SOIKE et al., 2004; TODD et al., 2007). O circovírus é pouco estudado em passeriformes e não há relatos da doença na América Latina.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil possui a terceira mais rica avifauna do mundo, abrigando cerca de 1.800 espécies diferentes, incluindo 365 aves migratórias, 251 endêmicos e 169 em ameaça de extinção (NATURESERVE, 2016). As alterações no ecossistema causadas pelos seres humanos afetam diretamente as aves e outros animais silvestres (MARINI; GARCIA, 2005). A translocação e introdução de animais foi aumentada pelo efeito global e intensa comercialização e, são considerados a principal causa de doenças infecciosas emergentes (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000). Esta é ainda mais preocupante para programas de conservação, que devem levar em conta fatores como densidade e estrutura populacional. Uma análise de herpesvírus associado a mortalidade de elefantes em cativeiro indicou que um herpesvírus normalmente benigno para elefantes africanos são mortais para elefantes asiáticos, demonstrando a importância e o perigo da translocação de animais, que vem aumentando com o elevado número de importação e exportação de animais pelo mundo (RICHMAN et al., 1999).

Aves de vida livre têm uma enorme importância na fauna do país e na saúde de animais de cativeiro devido a sua capacidade de migração, podendo carrear patógenos e causando surtos de diversas doenças (REED et al, 2003). Grande parte das espécies migratórias são aves aquáticas que vêm do hemisfério norte e são amplamente estudadas (MARINI; GARCIA, 2005). Entretanto, algumas espécies migratórias, como o sabia-de-olhos (*Catharus ustulatus*), não são muito estudadas e pouco se sabe sobre sua rota de migração (REMSSEN, 2001). A transmissão de agentes infecciosos de reservatórios para animais de vida livre é denominada “spill-over”. Esse fenômeno é particularmente perigoso, podendo levar até a extinção da população local (WOODROFFE, 1999). Um exemplo é a extinção dos cachorros selvagens no Serengeti em 1991, que ocorreu devido a uma epizootia de cinomose decorrente do contato com cachorros domésticos (WOODROFFE; GINSBERG; MACDONALD, 1997). Os surtos epizooticos representam uma ameaça séria tanto para a população de vida livre (pelo efeito já citado “spill-over”), quanto para os animais domésticos, pelo efeito reverso denominado “spill-back”. Neste caso, as populações de animais domésticos susceptíveis são afetadas por doenças transmitidas pelos animais silvestres. A introdução da brucelose no Parque Nacional de Yellowstone, aonde a doença passou de bisões

para o gado doméstico ilustra bem esse fenômeno. O resultado é a perda de muito dinheiro investido na agropecuária (WOODROFFE, 1999).

Há um custo econômico claro nas doenças infecciosas emergentes. Por exemplo, uma profilaxia pós-exposição de um único gato com raiva que ocorreu em uma loja no Estados Unidos em 1994 teve um custo de US\$ 1.1 milhão (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000). Já o custo calculado da introdução de doenças para humanos, agropecuária e agricultura chegam a US\$ 41 bilhões por ano (BARTLEY; SUBASINGHE, 1996). Em contraste, o custo da biodiversidade global não pode ser calculado e a legislação envolvendo doenças exóticas que ameaçam animais silvestres ainda é escassa (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000). As medidas de detecção e controle de doenças infecciosas emergentes de humanos e agropecuária que afetam animais de vida livre é praticamente inexistente, e somada ao intenso tráfico de animais leva a um incerto e sombrio futuro para algumas espécies (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000). O controle de doenças virais que não afetam diretamente a saúde pública e a agropecuária é praticamente inexistente (AZEVEDO, 2014), necessitando de atenção urgente.

O controle das doenças virais são de extrema importância para a saúde das aves (PHALEN, 1998). Os vírus podem se espalhar através de fezes, secreções respiratórias ou exfoliação epitelial de penas e pele, dificultando ainda mais esse controle. A utilização do PCR permite detecção de pequenas concentrações do vírus além da possibilidade de diagnosticar a patologia antes de iniciar alterações histológicas (RITCHIE, 1995). O bornavírus aviário é responsável pela doença da dilatação proventricular (PDD) em psitacídeos e outras aves, uma doença neurológica letal, que foi descoberta no início da década de oitenta na Europa e América do Norte (HONKAVUORI et al., 2008; KISTLER et al., 2008). A detecção do vírus em passeriformes e outras famílias já ocorreu em alguns países da Europa. A ocorrência de poliomavírus em outras espécies diferentes dos psitacídeos não é estudada no Brasil, logo não se sabe se há ocorrência da doença em aves de cativeiro e aves de vida livre.

2.1 BORNAVÍRUS

2.1.1 Introdução

Reconhecida no final do século XVIII, a doença de borna (BD) teve esse nome devido a localização dos primeiros surtos, que ocorreram na cidade de Borna, na Alemanha (MURPHY et al., 1999; LIPKIN; BRIESE; HORNIG, 2011). A doença afeta cavalos e ovelhas e ocorre principalmente na Europa central e Ásia. Leva a uma infecção neurológica imuno-mediada fatal que é caracterizada por uma severa e progressiva meningoencefalomielite não supurativa, com um infiltrado parenquimal perivascular massivo, com predileção pela massa cinzenta do cérebro. Os sinais clínicos relatados mais comuns estão ligados a anormalidades do sistema nervoso central como ataxia, sonolência e depressão (SOLBRIG, 2010; LINKIN; BRIESE; HORNIG; 2011). A maior parte dos casos da doença em equinos foi relatada na Europa Central, porém já ha relatos em todo o mundo (KINNUNEN et al., 2013), incluindo na América Latina (TORRES-CASTRO et al., 2016).

A BD, contudo, não ficou restrita apenas a mamíferos, sendo descrito em 1993, após a ocorrência de um surto em avestruzes. Berg et al. (2001) sugeriram que as aves migratórias poderiam ser a fonte de infecção entre mamíferos e aves. A hipótese, apesar de ainda não ter sido comprovada, se baseou em infecções experimentais em galinhas com material de mamíferos infectados com BD (LUDWIG; BECHT; GROH, 1973). Entretanto, uma recente análise filogenética indicou a presença de cinco grupos associados à sua região geográfica de origem dentro da Europa (HILBE et al., 2006; BOURG et al., 2013; DURRWALD et al., 2014). Essa análise fez com que a hipótese de aves como reservatórios perdesse a força, devido a grande mobilidade destes animais, os grupos deveriam estar distribuídos e não centralizados. Uma segunda hipótese seria a que cavalos, ovelhas e outros animais domésticos fossem os reservatórios do vírus. O mesmo estudo filogenético levou ao questionamento de tais animais como reservatórios, já que os mesmos são comercializados no mundo todo. Após diversas tentativas frustradas, finalmente foi descoberto um potencial animal como reservatório viral: *Crocidura*

leucodon, o musaranho-de-dentes-brancos-bicolor. Nesta espécie existe uma distribuição viral por todos os tecidos e partículas virais infectantes são liberadas nas secreções (HILBE et al., 2006; BOURG et al., 2013; DURRWALD et al., 2014).

O bornavírus de aves foi descoberto em 2008 por dois grupos de pesquisadores (HONKAVUORI et al., 2008; KISTLER et al., 2008). O agente é causador da doença da dilatação proventricular (PDD), descrita desde a década de 70, e que causa emagrecimento progressivo e sinais neurológicos. Inicialmente a doença parecia ocorrer apenas em psitacídeos, entretanto, com a descoberta do agente, já foi descrita em mais de 70 espécies (KISTLER et al., 2008; MIRHOSSEINI et al., 2011; PAYNE et al., 2011a; HOPPES; TIZARD; MIRHOSSEINI et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; SHIVAPRASAD, 2013) incluindo aves em perigo de extinção (DEB et al., 2008; WYSS et al., 2009; GRAY et al., 2010) e espécies de outro gênero como canários (*Serinus canaria*) (RUBBENSTROTH et al., 2013) e manon-do-peito-branco (*Lonchura striata*) (RUBBENSTROTH et al., 2014b).

A primeira descrição do vírus em passeriformes se deu em 2009 (WEISSENBOCK et al., 2009b), um ano após a descoberta do vírus em psitacídeos. Foi descrito um surto em canários (*serinus canaria*) de cativeiro que apresentavam apatia e morte súbita, sendo observado a dilatação do proventrículo na necropsia e a presença de células inflamatórias mononucleares no cérebro, proventrículo e ventrículo. A segunda publicação que descreve o vírus em canários, também ocorreu na Europa, descreveu animais positivos para o vírus com sinais clínicos semelhantes aos descritos anteriormente: diarreia, dilatação proventricular e sinais neurológicos (RUBBENSTROTH et al., 2013). Os mesmos autores fizeram inoculação experimental em canários, sendo observado a distribuição viral por todos os tecidos, entretanto não houve sinais clínicos ou alterações histopatológicas indicativas do PDD.

O bornavírus é considerado uma ameaça importante para psitacídeos de cativeiro e possivelmente para aves de vida livre (ZIMMERMANN et al; 2014). No Brasil, o bornavírus foi descrito apenas em psitacídeos de cativeiro (MARIETTO-GONÇALVES et al., 2009; DONATTI et al., 2013), entretanto, não há estudos descritos em aves de vida livre nem a pesquisa viral em outros gêneros.

2.1.2 Morfologia

O bornavírus é um vírus de RNA fita simples de polaridade negativa com 8.900 nucleotídeos, pertencente a família Bornaviridae, ordem Mononegavirales (HONKAVUORI et al., 2008; KISTLER et al., 2008). O genoma do bornavírus aviário é semelhante ao do bornavírus de mamíferos, possuindo seis unidades de transcrição: nucleoproteína (N), proteína reguladora (X), cofator de polimerase (P), proteína da matrix (M), glicoproteína (G) e polimerase (L) (HONKAVUORI et al., 2008; KISTLER et al., 2008; KASPERS; STAEHELI; RINDER 2010). Possuem a característica de realizar a transcrição dentro do núcleo e de utilizar sinais de iniciação e terminação diferentes de outros vírus (HOPPE; TIZZARD; SHIVAPRASAD, 2013).

2.1.3 Genótipos

Diferente do BD, que só possui dois genótipos (NOWOTNY et al., 2000), o bornavírus de aves possui vários genótipos descritos. A identificação de um novo genótipo e a porcentagem de identidade entre os nucleotídeos que deve ser considerada como mesmo genótipo é diferente para cada vírus. Para o bornavírus, quando pertencentes ao mesmo genótipo, a identidade de nucleotídeos deve ser pelo menos 95%. Para os genótipos pertencentes ao mesmo grupo filogenético, a identidade é de aproximadamente 80-85%, enquanto vírus pertencentes a grupos filogenéticos diferentes demonstram uma identidade de 65-75%. Dentre os bornavírus conhecidos até a presente data, o de répteis possui a maior divergência de nucleotídeos, com identidade de sequência de apenas 57% comparado com todos os outros genótipos conhecidos. Já foi demonstrado que essas diferenças resultam em uma redução na sensibilidade do PCR, que é comumente utilizado na detecção do bornavírus (RUBBENSTROTH et al., 2013; RUBBENSTROTH et al., 2014b).

Os dois primeiros artigos que identificaram o bornavírus descrevem 4 genótipos em

psitacídeos PaBv-1 a PaBv-4, nos Estados Unidos e Israel (apenas o PaBv-4) (KISTLER et al., 2008; HONKAVUORI et al., 2008). O quinto genótipo, PaBv-5, foi descrito no Japão (MAKINO et al, 2016; SASSA et al., 2013), o sexto (PaBv-6) foi descrito por Weissemböck et al. (2009) na Austria e Suíça e o PaBv-7 foi descrito na Alemanha (RUBBENSTROTH et al., 2012).

Em relação a outras espécies não pertencente a ordem psitaciforme, foram descritos três genótipos em canários: C1 (WEISSENBÖCK et al, 2009b), C2 e C3 (RUBBENSTROTH et al., 2013), um em ganso canadense, ABV-CG – o primeiro genótipo descrito em aves de vida livre- (DELNATTE et al., 2011), um genótipo em manon (*Lonchura striata*) ABV-EF (RUBBENSTROTH et al., 2014) e um pertencente a família Estrildidae, denominado ABV- LS (WEISSENBÖCK et al., 2009b).

2.1.4 Sinais clínicos

A infecção por bornavírus é caracterizada por uma ganglioneurite não supurativa dos nervos do plexo presentes no ingluvío, ventrículo e duodeno; podendo estar acompanhada de encefalomielite não supurativa (WEISSENBÖCK et al., 2009b). A presença de um infiltrado linfoplasmático leva a uma anormalidade do sistema nervoso central, causando ataxia, alterações em propriocepção e disfunção do trato gastrointestinal como disfagia, dilatação proventricular, dificuldade na passagem de alimentos e não absorção do mesmo, que leva a fraqueza e perda de peso (MANNL; GERLACH; LEIPOLD, 1986; KISTLER et al., 2008; GANCZ et al., 2009; PAYNE et al. 2011a). Outros sinais descritos são cegueira e outros sinais neurológicos como convulsão (PAYNE et al. 2011a), e em casos raros, pode ocorrer a ruptura do proventrículo devido a distensão extensiva, causando o extravasamento de alimentos para a cavidade celomática (RINDER et al., 2009; STAEHELI et al., 2010; ARAUJO et al., 2016). A automutilação foi observada por Gancz et al. (2009), Horie et al. (2012) e Azevedo (2014), porém não houve confirmação da real causa, já que a automutilação pode ser de etiologia multifatorial. O sinal clínico também ocorre em ararinhas azul, ave em perigo de extinção, que possui histórico de PDD e automutilação (HAMMER; WATSON, 2012). Gancz et al. (2009) especulam que as lesões nos

nervos da pele poderiam levar a automutilação.

Podem existir diferenças na apresentação dos sinais clínicos dependendo da idade em que o animal for infectado. Kistler et al. (2010) relataram um surto em um aviário em que aves muito jovens (até 5 semanas de idade) desenvolveram sinais neurológicos e vieram a óbito em até três dias após o início dos sinais clínicos. A dilatação proventricular é o sinal clínico mais comum segundo Staeheli, Rinder e Kaspers (2010), entretanto, em uma pesquisa em psitacídeos sintomáticos no Brasil, foi observado um número maior de aves apresentando sinais neurológicos (AZEVEDO, 2014), fato também observado por Sassa et al. (2013) em um estudo realizado no Japão em aves infectadas com PaBv-5.

Recentemente foram descritos diferença de sinais clínicos relacionados aos diferentes genótipos do bornavírus. Em uma comparação entre PABV-4 e PaBV-2, o período de incubação de aves infectadas variou 11 dias a 33 dias respectivamente. A dilatação proventricular foi mais comum e mais severa em aves contaminadas com o genótipo 2, apesar de também ocorrer em das aves afetadas com o genótipo 4 (PIEPENBRING et al., 2012; PIEPENBRING et al., 2016). Os mesmos autores relatam que a presença de RNA nos órgãos foi muito maior em aves infectadas com o genótipo 4, assim como apresentavam maior presença de antígeno no sistema nervoso central.

Segundo Makino et al. (2016), o genótipo PaBV-5 causa uma infecção persistente sem causar sinais clínicos de PDD. O mesmo genótipo já foi apontado como possível agente causador de automutilação, porém ainda faltam evidências que comprovem esse dado.

Os outros genótipos ainda não foram estudados e ainda não foi observado nenhuma relação entre sinais clínicos e a espécie de aves afetada.

Em canários não foi observado a correlação do genótipo com a doença clínica (RUBBENSTROTH et al., 2013). Os sinais clínicos são similares aos de psitacídeos, com dilatação proventricular, anorexia, apatia e óbito sem apresentação de sinais clínicos (WEISSENBOCK et al., 2009b; RUBBENSTROTH et al., 2013). Ainda não se conseguiu, entretanto, a apresentação de sinais clínicos com infecção experimental em canários (RUBBENSTROTH et al., 2013; RUBBENSTROTH et al., 2014b).

2.1.5 Diagnóstico

As amostras que devem ser coletadas para o diagnóstico de bornavírus são: cérebro, inglúvio, coração, proventrículo, intestino, glândulas adernais, retina, rins e nervos periféricos (OUYANG et al., 2009; GRAY et al., 2010; HERZOG et al., 2010; PAYNE et al., 2011b; PIEPENBRING et al., 2012). Amostras de fezes podem ser utilizadas em animais vivos, porém é importante lembrar que a eliminação do vírus é intermitente, sendo interessante realizar um pool de fezes por um período de uma semana. Também deve ser ressaltado que aves saudáveis podem liberar o vírus e nunca apresentar a doença (LIERZ et al., 2009; HOPPES et al., 2010). As penas são uma opção interessante para diagnóstico de aves vivas e podem ser armazenadas por períodos prolongados (KERSKI et al., 2012). O sangue, entretanto, não deve ser utilizado já que a viremia não parece ocorrer comumente (HOPPES; TIZARD; SHIVAPRASAD, 2013).

A utilização de ensaios sorológicos como o ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), Western blot e teste de fluorescência indireta do anticorpo (IFAT) são utilizados na detecção do antígeno do bornavírus e dos anticorpos. Os anticorpos utilizados podem ser policlonal anti-ABV2 ou anti-BDV-1 em soro de coelho, sendo comprovado a eficácia em diversos genótipos (WEISSENBOCK et al., 2009a; WEISSENBOCK et al., 2009b; PIEPENBRING et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2013). Além dos testes descritos acima, a imunohistoquímica, aplicada em amostras teciduais, e o isolamento viral também são utilizados na detecção do antígeno (RINDER et al., 2009; RAGHAV et al., 2010; REUTER et al., 2010; RUBBENSTROTH et al., 2013; RUBBENSTROTH et al., 2014b).

Atualmente, o diagnóstico é baseado na combinação da detecção de RNA através da técnica de RT-PCR e a detecção de anticorpos específicos através das técnicas de IFAT ou ELISA (RINDER et al., 2009; WEISSENBOCK et al., 2009a; WEISSENBOCK et al., 2009b; RAGHAV et al., 2010; REUTER et al., 2010; PIEPENBRING et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2013; RUBBENSTROTH et al., 2014b). Entretanto, a eficiência do PCR na detecção de um vírus com tanta variabilidade genética é incerta, com uma sensibilidade variável para os diferentes genótipos (RUBBENSTROTH et al., 2013; RUBBENSTROTH et al.,

2014b).

O isolamento viral pode ser utilizado em amostras de cérebro, retina e rins (HERZOG et al., 2010; PIEPENBRING et al., 2012). O vírus não cresce bem em células de mamíferos, desta forma, as culturas de células que podem ser utilizadas são DEF (Células primárias de fibroblasto de pato) (RUBBENSTROTH et al., 2012; HOPPE; TIZARD; SHIVAPRASAD, 2013), CEC-32 (fibroblasto de codorna) células de musculo de codorna (RUBBENSTROTH et al., 2012) e célula de hepatoma de galinha (RINDER et al., 2009; GRAY et al., 2010). Deve-se lembrar que o vírus não causa lesão nas células e não afeta sua viabilidade (MATSUMOTO et al., 2012).

Exames de sangue não são de muita utilidade no diagnostico da doença, mas geralmente incluem hipoproteinemia, hipoglicemia e heterofilia (STAEHELI; RINDER; KASPERS, 2010).

2.1.6 Patogenia

Apesar de ser um vírus muito estudado, sua descoberta é recente e pouco se sabe sobre sua biologia (RUBBENSTROTH et al., 2016). Os genótipos ABBV-1 e ABBV-2 foram detectados em aves aquáticas, e são presumidamente considerados reservatórios naturais do vírus (GUO et al., 2012). Todos os outros genótipos, entretanto, foram encontrados quase que exclusivamente em cativeiro (HEFFELS-REDMAN et al., 2009; WEISSENBOCK et al., 2009a; RUBBENSTROTH et al., 2013; PHILADELPHO et al., 2014; RUBBENSTROTH et al., 2014), sendo assim, seus reservatórios naturais permanecem desconhecidos, assim como a forma de transmissão na população de cativeiro (RUBBENSTROTH et al., 2016).

O mecanismo de transmissão do bornavírus ainda não foi descrito. Acredita-se que a principal forma transmissão do vírus seja pela via oro-fecal (STAEHELI; RINDER; KASPERS, 2010; KISTLER et al., 2010; HEATLEY, 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2013;), entretanto não há comprovação da mesma (RUBBENSTROTH et al., 2016). Partículas de bornavírus foram encontradas em suabe cloacal de aves infectadas, contudo a inoculação através de mucosas não causou doença (RUBBENSTROTH et al., 2013),

enquanto a inoculação parenteral levando a uma infecção persistente já foi comprovada repetidamente (GRAY et al., 2010; PAYNE et al., 2011b; PIEPENBRING et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2014). Já foi demonstrado a presença de elevada concentração do vírus no ar em um aviário com aves positivas, assim como já foi demonstrado a presença do vírus no pulmão. Desta forma, a transmissão pelo ar também é considerada (HOPPE et al., 2010). A transmissão horizontal em psitacídeos dos genótipos PaBV-2 e PaBV-4 são frequentemente relatadas e bem descrita, sendo considerada a forma mais comum disseminação do bornavírus em populações de aves de cativeiro (RUBBENSTROTH et al., 2016). Em condições naturais e experimentais, a transmissão por contato em animais do mesmo recinto/gaiola foi ineficiente (HEFFELS-REDMAN et al., 2009; PIEPENBRING et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2014), o que reforça o questionamento desta rota de infecção (RUBBENSTROTH et al., 2016).

A transmissão vertical é outro mecanismo possível para a transmissão do bornavírus. O RNA viral foi detectado em ovos e embriões provenientes de aves infectadas (LIERZ ET AL., 2011; KERSKI et al., 2012; MONACO et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2013; DELNATTE et al., 2014). Ainda que tenha sido observado partículas virais em ovos e embriões, não foi comprovada a infecção em embriões através de métodos como imunohistoquímica ou isolamento viral (LIERZ et al., 2011; RUBBENSTROTH et al., 2013;). Devido ao tempo variável de incubação, que pode ser de meses ou anos, a obtenção destes dados se torna mais complexa, exigindo um trabalho laboratorial extenso e com um custo elevado (PIEPENBRING et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2013).

Em canários a transmissão horizontal é a forma mais comum e descrita da doença, sendo comprovada experimentalmente (RUBBENSTROTH et al., 2013), entretanto a transmissão entre aves imunocompetentes é ineficiente (RUBBENSTROTH et al., 2014a). O vírus foi detectado em ovos de canários por PCR, porém foi negativo para imunohistoquímica e não foi possível o isolamento viral (RUBBENSTROTH et al., 2013). Canários são mais resistentes a bornavírus em relação a psitacídeos, podendo apresentar a excreção viral sem sinais clínicos nem lesões macro e microscópicas após o óbito. Existe ainda a maior possibilidade a infecção subclínica do que uma apresentação clínica mais clássica da doença. Em uma infecção experimental foi observado que a disseminação viral é mais rápida em canários (uma semana) em relação a calopsitas (4 a 5

semanas), entretanto a infecção do sistema nervoso central é mais lenta. (RUBBENSTROTH et al., 2014a).

Ainda não se sabe muito sobre a resposta imune do bornavírus em aves, mas é especulado que o linfócito T tenha um papel principal (RUBBENSTROTH et al., 2014), já que o mesmo é o responsável pela defesa do organismo em testes experimentais com infecção de BDV e murinos (RICHT et al., 1994; NOSKE et al., 1998; HAUSMANN et al., 2005). Em estudos experimentais, a massa cinzenta (córtex cerebral, tálamo e hipocampo) é predominantemente afetada. Em roedores experimentalmente infectados por BoDV-1, as células CD4 e CD8 foram as mais importantes, desta forma, a infecção por bornavírus não causa uma resposta imune de proteção, logo anticorpos específicos para o vírus não possuem a capacidade de neutraliza-los (LUDLOW et al., 2016). Outra evidencia seria de que ratos tratados com ciclosporina, que é imunossupressora, apresentam uma maior sobrevida (STITZ et al., 1989). O bornavírus induz também a produção de anticorpos contra o tecido cerebral, o que pode levar a uma lesão secundária contribuindo para o progresso da doença (HOPPES; TIZARD; SHIVAPRASAD, 2013).

2.1.7 Tratamento

O tratamento preconizado ainda é o sintomático, já que não existe um tratamento específico para bornavírus. Nestes são inclusos antibioticoterapia para infecções secundárias, metoclopramida para melhorar a motilidade do trato digestório, fluidoterapia e alimentação por sondagem (GANCZ; CLUBB; SHIVAPRASAD, 2012). Devido a natureza inflamatória da doença, grande parte dos tratamentos recomendados até hoje são baseados em substâncias anti-inflamatórias. Tentativas de tratamento com meloxicam se demonstraram ineficazes, com uma porcentagem de óbito maior no grupo de animais tratados (HOPPES et al., 2013). Uma substância muito utilizada no tratamento foi o celecoxibe, um potente inibidor seletivo da COX-2, considerado eficaz em alguns casos (DAHLHAUSEN; ALDRED; COLAIZZI, 2002). Entretanto, o tratamento pode perdurar por até seis meses, principalmente quando a presença de sinais

neurológicos (GANCZ; CLUBB; SHIVAPRASAD, 2012). Outra substância avaliada, o sulfato de amantadina, utilizada no tratamento do BD em mamíferos e em tratamento da doença de Parkinson em humanos, é indicada nos casos em que há presença de sinais neurológicos e pode ser utilizada em conjunto com celecoxibe (GANCZ; CLUBB; SHIVAPRASAD, 2012).

Existem também algumas terapias baseadas no agente viral ao invés da reação inflamatória causada por ele. Neste caso, o interferon alfa pode ser utilizado, apesar de não existir estudos científicos, apenas relatos de caso que utilizam o tratamento (POLLOCK; CARPENTER; ANTINOFF, 2010). Um tratamento mais recente e promissor foi descrito por Musser et al. (2015), que estudaram o efeito da ribavirina em concentrações entre 2,5 a 25 µg/mL, observando uma inibição, dose-dependente, do crescimento viral em células DEF (fibroblasto embrionários de pato). Os mecanismos propostos de ação da ribavirina são: (1) inibição na iosina monofosfato desidrogenase, resultando na depleção intracelular de nucleotídeos guanosina (GMP, GDP e GTP), (2) inibição da RNA-polimerase viral, captação de RNA e síntese de RNA viral, (3) mutagênese letal e (4) efeitos imunomoduladores nos linfócitos Th1 e Th2. Não se sabe ao certo qual o mecanismo exato pela qual a ribavirina atua no bornavírus, entretanto os mesmos autores descrevem a possibilidade da disrupção do GTP como mecanismo mais provável.

2.1.8 Vacina

A mais recente tentativa de vacina para bornavírus, descrita em 2016 ainda precisa passar por outros estudos. A vacina recombinante utiliza o vacciniavírus Ankara modificado (MVA) e da doença de Newcastle (NDV) que codificam a nucleoproteína (N) e a fosforoproteína (P) de dois bornavírus aviários, o PaBv-4 (psitacídeos) e CnBV-2 (canários). Essas proteínas são amplamente expressas em células infectadas e são imunogênicas em infecções de bornavírus em mamíferos (OLBERT et al., 2016).

2.1.9 Zoonose

A ordem Mononegavirales inclui outras famílias além da Bornaviridae como Rhabdoviridae e Paramixoviridae que são conhecidas por conter doenças zoonóticas letais como raiva e herdar vírus (CALISHER et al., 2006). Existem evidências que indicam que a família Bornaviridae também pode ser uma zoonose, causando uma doença neuropsiquiátrica e neurológica (SOLBRIG, 2010).

Na década de 90, iniciou-se uma série de relatos indicando que o Borna Disease Virus (BoDV), seria uma zoonose e causaria doenças psiquiátricas em humanos (HERDEN et al., 2013; HORNIG et al., 2012). Vários estudos questionaram uma doença causada pelo BoDV em humanos e se chegou a um consenso geral de que o mesmo não seria uma zoonose (WOLFF et al., 2006; HERDEN et al., 2013). Um relato atual, entretanto, demonstra a possibilidade de uma criança acompanhada por anos, positiva para BoDV que desenvolveu autismo. A mãe também foi positiva para anticorpos contra BoDV, sendo então considerado uma possível transmissão vertical (HONDA et al., 2016). As reações de anticorpo pra BoDV geralmente são baixas, indicando uma possível reação cruzada (STAEHELI et al., 2000), todavia, no caso descrito acima foram utilizadas várias formas de diagnóstico e todas foram positivas (HONDA et al., 2016). Deve ser considerado a possibilidade de zoonose, apesar de haver apenas um relato de caso, sendo necessário mais para definir o papel no bornavírus como zoonose. Estudos em animais de laboratório indicam que a infecção em ratos recém-nascidos resulta em uma infecção persistente do sistema nervoso central sem sinais neurológicos claros. Entretanto, alterações no aprendizado e memória foram observados. Em adultos, a doença leva a sinais neurológicos evidentes com presença de meningoencefalite não purulenta severa, similar a doença observada em humanos e equinos (LUDLOW et al., 2016).

Um outro estudo recente relatou a morte de três seres humanos adultos com doença neurológica em que foram detectados bornavírus de esquilo (VSBV-1). A quantidade de RNA detectada nos três indivíduos foi elevada, permitindo o sequenciamento total do genoma das amostras, além da detecção por imunohistoquímica. Desta forma este relato possui evidências mais fortes de uma possível zoonose do bornavírus (HOFFMANN et al., 2015).

Em relação ao bornavírus aviário, não há indicação de que seja zoonótico, entretanto, há relatos de infecção entre diferentes espécies incluindo o de um faisão do nepal que apresentou sinais de doença neurológica e foi identificado com PaBv- 4 (PaBv-4). O animal dividia o ambiente com psitacídeos que eram positivos para bornavírus, sendo então indicados como provável fonte de infecção (BOURQUE et al., 2015). A possibilidade de um vírus ser transmitido naturalmente para animais de ordens diferentes somado a escassa informação sobre a patogenia deve ser uma alerta para a possibilidade, mesmo que remota, de transmissão para mamíferos.

2.1.10 Proventriculite e dilatação proventricular em galinhas

A primeira descrição da doença foi em 1978, na Holanda (KOUWENHOVEN et al., 1978). Alguns vírus já foram considerados como agente causador: adenovírus (KOUWENHOVEN et al., 1978), reovírus (JONES, 2000), vírus da bronquite infecciosa (YU et al., 2001), Gumboro (HUFF et al., 2001), picornavírus (KIM et al., 2015) e birnavírus (GUY et al., 2011; 2011b; NOIVA et al., 2015). Entretanto, ainda não foi definido o agente etiológico, sendo denominado apenas de proventriculite viral transmissível (TVP).

Os sinais clínicos incluem diminuição na curva de crescimento, alimentos não digeridos nas fezes, apatia e a dilatação proventricular (GOODWIN et al., 1996). As lesões microscópicas definem o diagnóstico da doença e incluem: necrose, infiltrado inflamatório e hiperplasia do ducto epitelial (GOODWIN et al., 1996). O diagnóstico diferencial inclui: micotoxinas, criptosporídeos, fungos, bactérias e outros vírus podem causar sinais clínicos similares.

Não existe conexão até a presente data entre o bornavírus e a dilatação proventricular. Existem algumas similaridades entre as doenças, entretanto não há estudos pesquisando o vírus nesta espécie.

2.2 POLIOMAVÍRUS

2.2.1 Introdução

O Poliomavírus aviário (APV) foi descoberto em 1981, após um surto ocorrido no Texas em um criatório de periquitos australiano (*Melopsittacus undulatus*) (BOZEMAN et al., 1981). Inicialmente a doença foi denominada de doença do filhote de periquito, devido a elevada susceptibilidade dos filhotes desta espécie ao vírus (DAVIS et al., 1981). Entretanto, mais tarde foi observado que o vírus afetava também outras espécies de aves, e que tanto os sinais clínicos quanto a susceptibilidade a doença eram dependentes da espécie e da idade da infecção. Aves como cacatua e papagaios da Amazônia, não são muito sensíveis, enquanto periquitos australianos e diamante-de-gould são muito susceptíveis a doença (GELIS, 2003). Os sinais clínicos podem variar de acordo com a estirpe viral, ocorrendo a forma crônica na Europa e aguda na América (GERLACH, 1994; RITCHIE, 1995). O vírus está distribuído mundialmente (ENDERS et al., 1997; PHALEN et al., 2000; BERT et al., 2005; WOLFF et al., 2006; DEB et al., 2010; ZHUANG et al., 2012; ALLEY et al., 2013; BENNETT; GILLET, 2014) e leva a uma elevada mortalidade, sendo causador de perdas econômicas anuais substanciais para a avicultura pet (PHALEN, 1998).

2.2.2 Morfologia

O poliomavírus é um vírus icosaédrico, não envelopado, de 40-50 nm de diâmetro, com um DNA duplo circular de 4,8 a 5,5 Kb, pertencente à família Papovaviridae (ROTT et al., 1988; RAMIS et al., 1998). Em 2011, foi proposto que o poliomavírus de aves fosse classificado em um gênero diferente denominado avipoliomavirus. Neste gênero estão incluídos o poliomavírus hemorrágico de gansos (GHPyV), poliomavírus da família fringilidae (FPyV), poliomavírus de *Pyrrhula* sp. (SPyV), poliomavírus de corvos (CPyV) e poliomavírus de canários (CpyV).

(JOHNE et al., 2011) (Figura 1).

O genoma do poliomavírus possui três proteínas estruturais: VP1, VP2 e VP3, sendo que a VP1 é a maior proteína, formando o capsídeo enquanto as outras duas envolvem o DNA viral (ROTT et al., 1988). Diferente do poliomavírus de mamíferos, o poliomavírus de aves possui uma ORF (Open Reading Frame) a mais, que codifica a proteína VP4, que esta relacionada com a indução de apoptose (JOHNE; MULLER, 2007). Existe apenas um genótipo de APV (KOU et al., 2008).

Figura 1 - Árvore filogenética de poliomavírus

Fonte: (HALAMI et al., 2010)

O vírus é termoestável, sobrevivendo ao congelamento e ao aquecimento e é resistente a solventes orgânicos. A remoção de matéria orgânica seguida de desinfecção é a única forma segura de remoção deste agente (SZWEDA et al., 2011).

2.2.3 Patogenia

O APV pode permanecer em estado latente, causando a doença apenas após um período de estresse excessivo (BOZEMAN et al., 1981). O período de incubação em infecções naturais varia de 10–14 dias, com a exceção nos periquitos australianos, em que esse período diminui para sete dias (PHALEN, 1998, 2000), enquanto em infecções experimentais com a aplicação do vírus por via intramuscular (IM) ou intravenosa (IV), o período de incubação diminui para 2 dias. A viremia, que pode durar de 17 a 67 dias, precede a liberação do vírus, sendo possível detectar o vírus no sangue antes de se detecta-lo nas fezes e/ou suabes da cloaca (PHALEN et al., 2000). Devido à característica de elevada mortalidade em filhotes, esta doença é percebida pelos criadores durante o período de reprodução, quando ocorre menor taxa de fertilização de ovos e maior mortalidade de filhotes (PHALEN, 1998).

Potti et al. (2007) relataram a transmissão do APV através de insetos, sendo o primeiro grupo a demonstrar uma rota de infecção primária. Esse resultado corrobora com Bert et al. (2005), que encontraram filhotes de papagaios positivos cujos pais apresentavam resultado negativo para o vírus, indicando a possibilidade de uma contaminação pelo ambiente.

2.2.4 Sinais clínicos

A principal característica do poliomavírus é uma hemorragia subcutânea, sangue nas fezes e na urina, devido a uma hemorragia generalizada que provavelmente ocorre devido a uma trombocitopenia (PHALEN et al., 2000). Edema e ascite também são sinais clínicos comumente encontrados em aves positivas, sendo causado pela lesão em glomérulos renais e no parênquima hepático (PHALEN, 2005). A detecção da doença em criadouros ocorre normalmente quando há a percepção de maior mortalidade de filhotes e menor taxa de ovos incubados (PHALEN, 1998).

Em periquitos australianos, aves muito susceptíveis a doença quando filhotes, ocorre

geralmente a doença aguda, com uma demora no esvaziamento do inglúvio, distensão abdominal, ascite, hemorragia subcutânea, alteração em penas e morte súbita como sinais mais comuns (BOZEMAN et al., 1981; BERNIER; MORIN; MARSOLAIS, 1984; PHALEN, 1998). A mortalidade é elevada, chegando a 100%, e aves que sobrevivem aos primeiros 15 dias de infecção apresentam retardo no crescimento das penas primárias das asas e nas penas da cauda, que nascem distróficas. Estes sinais clínicos semelhantes ao PBFD, que deve ser considerado como um diagnóstico diferencial (BERNIER; MORIN; MARSOLAIS, 1981, 1984). Existem ainda casos de sinais neurológicos como ataxia e tremores de intensão, que ocorrem devido à presença do vírus no cerebelo das aves infectadas (RITCHIE, 1995; PHALEN, 1998).

Apesar de ser uma doença comum em filhotes, em agapornis a doença é mais comum em animais mais velhos. O vírus é comumente associado com PBFD, fator que poderia explicar a susceptibilidade de animais mais velhos a doença, uma vez que o circovírus é considerado um vírus imunossupressor (PHALEN, 1998, 2005).

Cacatuas filhotes, quando infectados na idade entre 4-8 semanas, apresentam sinais de dificuldade respiratória e atraso no desenvolvimento corporal, causados por uma pneumonia intersticial severa. Aves adultas apresentam sinais clássicos de alteração em penas e hemorragia, entretanto já foram relatados casos de encefalopatia por APV em dois indivíduos (PHALEN, 2005), incluindo três em cacatuas adultas (LATIMER et al., 1996; PHALEN, 2005).

Aratingas infectadas não sobrevivem mais de seis semanas de idade, enquanto araras e ecleetus doentes morrem em até 14 semanas de idade. Filhotes infectados podem morrer sem demonstrar sinais clínicos, mas quando estes estão presentes, são sutis como a demora no esvaziamento do papo e fraqueza (PHALEN, 1998). A doença é rara em papagaios verdadeiro adultos, geralmente associada a PBFD (PHALEN, 2005). Papagaios da Amazônia infectados podem vir a óbito sem demonstrar sinais clínicos ou apresentarem depressão, anorexia, perda de peso, demora no esvaziamento do papo, diarreia, regurgitação, ataxia, paresia e anemia (SZWEDA et al., 2011; PHILADELPHO; GUIMARÃES; FERREIRA, 2015).

Passeriformes podem ser infectados com quatro tipos de poliomavírus: APV, FPyV, SPyV e CpyV, porém, sem alteração na manifestação clínica. O aumento da mortalidade de filhotes e

baixa taxa de eclosão dos ovos é um dos principais indícios da doença. Hemorragia subcutânea e hepatite também são descritas em canários (HALAMI et al., 2010). Sinais clínicos inespecíficos como anorexia, letargia, fraqueza e diarreia são comuns e geralmente evoluem para óbito em 24-48 horas (ROSSI; TACCINI; TARANTINO, 2005). As aves podem apresentar infecção subclínica, que pode evoluir para a doença clínica após um período de estresse, como uma doença secundária ou mudança de ambiente (importação ou exportação) (ROSSI; TACCINI; TARANTINO, 2005).

2.2.5 Diagnóstico

A técnica de PCR é a mais utilizada e muito sensível para a detecção deste agente. O diagnóstico deve ser feito após duas semanas da exposição da ave ao vírus, período no qual ainda não há viremia ou eliminação do vírus, evitando assim falso negativos (PHALEN et al., 2000). O período de quarentena recomendado é de pelo menos 135 dias, podendo chegar a seis meses em periquitos australianos (PHALEN; WILSON; GRAHAM, 1997; PHALEN et al., 2000). Um primer que detecte os diversos poliomavírus que podem afetar aves deve ser utilizado em passeriformes para evitar falso-negativo.

No exame necroscópico pode ser observado hidropericárdio, palidez generalizada, hepatomegalia e/ou esplenomegalia (BOZEMAN et al., 1981; PHALEN, 1998; PHALEN et al., 2000). Em papagaios da Amazônia, os achados mais comuns são: Inglúvio repleto, hidropericárdio, aumento dos rins, hepatomegalia com lesões focais, esplenomegalia, edema pulmonar e/ou palidez generalizada (SZWEDA et al., 2011). A anemia já foi descrita em papagaio verdadeiro e deve ser considerado no diagnóstico (PHILADELPHO; GUIMARÃES; FERREIRA, 2015).

No exame histopatológico observa-se a presença de corpúsculo de inclusão no baço, nas células epiteliais dos túbulos renais e/ou fígado (PHALLEN, 1998; BOZEMAN et al., 1981). O corpúsculo intranuclear é grande e basofílico, causando um aumento do núcleo da célula

hospedeira (BERNIER; MORIN; MARSOLAIS, 1981). Exames serológicos não devem ser utilizados pois uma vez infectada, a ave apresentará anticorpos para o resto da vida (PHALEN et al., 2000).

2.2.6 Poliomavírus e aves de vida livre

A primeira detecção do vírus em aves de vida livre ocorreu em 1998 em cacatuas na Austrália (RAIDAL et al., 1998). Existem poucas evidencias do vírus em vida livre, desta forma, existe um receio da disseminação do vírus para populações de aves silvestres. Devido a elevada morbidade e mortalidade de filhotes, deve-se tomar cuidado especial na reintrodução de aves e evitar contato de aves de cativeiro com aves de vida livre (PHALEN, 2007).

2.3 CIRCOVÍRUS

2.3.1 Introdução

O gênero circovírus é composto de circovírus suíno tipo 1 e 2 (PCV1, PCV2), doença do bico e das penas de psitacídeos (BFDV), circovírus de pombos (PiCV), circovírus de canários (CaCV), circovírus de patos (DuCV), circovírus de ganso (GoCV), circovírus de cisne (SwCV) e anemia infecciosa das galinhas (CAV) (SOIKE et al., 2004; TODD et al., 2007). Todos esses vírus possuem algumas similaridades: afetam aves jovens, tropismo por órgão responsáveis pela imunidade, imunossupressão levando a infecções secundárias devido a lesão causada nos tecidos linfoides, afetando tanto a resposta imunológica (BASSAMI et al., 1998).

A doença do bico e das penas de psitacídeos foi descrita pela primeira vez em 1975, em cacatuas na Austrália (LATIMER et al., 1990; ALBERTYN; TAJBHAI; BRAGG, 2004). Durante os anos 70 e 80, a doença era mais comum em araras e ficou conhecida como doença do emagrecimento progressivo de araras (Macaw wasting disease). O agente etiológico, entretanto, foi identificado em 1987 (WYLIE; PASS, 1987). A doença afeta mais de 40 espécies de psitacídeos, sendo encontrada em animais de vida livre da Austrália, Indonésia e Filipinas (RITCHIE, 1995; WERTHER et al., 1999; HEATH et al., 2004; KLOET; KLOET, 2004; BERT et al., 2005; OGAWA et al., 2010; MASSARO et al., 2012). Ao analisar sequências do genoma do BFDV de todo mundo disponíveis no Genbank, Harkins et al. (2014) identificaram a Austrália como origem do vírus, e que países da América do Norte e Europa, assíduos importadores de aves, agem como disseminadores do agente. No Brasil, a literatura sobre a doença é escassa (WERTHER et al., 1999; PHILADELPHO, 2012).

O CAV foi isolado primeiramente no Japão (YUASSA; TANIGUCHI; YOSHIDA, 1979), mas atualmente já foi detectado em galinhas no mundo todo (YUASSA; TANIGUCHI; YOSHIDA, 1979; McNULTY; CORMOR; McNEILLY, 1989; DUCATEZ et al., 2006; GHOLAMI-AHANGARAN; ZIA-JAHROMI; RAHIMI, 2013). O vírus pode levar a perdas

econômicas importantes tanto com a doença subclínica quanto com a clínica. Os sinais clínicos incluem a anemia, diminuição das células da medula óssea, hemorragia subcutânea, atrofia dos órgãos linfoides e o aumento da mortalidade (ADAIR, 1998). Apesar de ser um vírus comum em galinhas, há diversos relatos do vírus em outras espécies, como codornas, gralhas e pardal (FARKAST et al., 1998; GHOLAMI-AHANGARAN; ZIA-JAHROMI; RAHIMI, 2013).

2.3.2 Circovírus de pombos

Desde 1993, vários casos de circovírus em pombos foram reportados (PiCV). A doença afeta geralmente filhotes até um ano de idade, que podem apresentar letargia, anorexia e outros sinais clínicos inespecíficos (TODD, 2004). Em pombos, a doença está associada à elevada morbidade e baixa mortalidade, entretanto a mortalidade descrita varia de 1 a 100% (WOODS et al., 1993, 1994; SOIKE et al., 2004; WOODS; LATIMER, 2008). A idade das aves afetadas varia de seis semanas a doze meses. Os sinais clínicos são: letargia, anorexia, diarreia e emagrecimento (RITCHIE, 1995).

2.3.3 Circovírus de patos

Este vírus foi descrito na Alemanha em 2004 em dois patos híbridos que apresentavam alteração em penas e perda de peso. No exame histopatológico foram observados infiltrado inflamatório heterofílico, depleção dos linfócitos e necrose. Não foi observado corpos de inclusão. O exame de PCR foi positivo para o vírus e o sequenciamento indicou a presença de um novo tipo de circovírus, denominado DuCV (SOIKE et al., 2004).

2.3.4 Circovírus de gansos

Existe apenas um caso reportado de circovírus em ganso (GoCV), ocorrido em 1999. As aves também estavam infectadas com *Aspergillus fumigatus* e *Riemerella anatipesfer*, desta forma, os sinais clínicos não estão bem descritos para esta doença (SOIKE; KOHLER; ALBRECHT, 1999; TODD, 2004).

2.3.5 Circovírus de cisnes

Halami et al. (2008) descreveram a presença de um circovírus em cisnes. Entretanto, nada se sabe sobre a patologia do vírus já que todos os animais foram enviados mortos para o laboratório, sem histórico.

2.3.6 Circovírus em canários

Em canários, a doença é associada a “black spot”, cujos sinais clínicos incluem distensão abdominal e congestão da vesícula biliar (TODD, 2001). A mortalidade varia de 90 a 100% dos casos, afetando principalmente filhotes, podendo ser o único sinal de problema no criadouro (TODD, 2000; WOODS, LATIMER, 2000; RAMPIN et al., 2005). Partículas virais podem ser observadas na microscopia eletrônica ou utilizando PCR (TODD, 2000; TODD, 2001).

2.3.7 Morfologia

O BFDV é um vírus não envelopado pequeno, medindo entre 14-18 nm de diâmetro, que possui uma fita simples circular de DNA, pertencente à família Circoviridae (PHALEN, 2005; RITCHIE, 1995). Seu genoma possui 1.993 nucleotídeos e sete ORFs (open reading frame) (FRANCIOSINI et al., 2005; PHALEN, 2005).

A ORF V1 possui 867 nucleotídeos e codifica uma proteína de 33,3 KDa. Esta proteína está associada à replicação viral, denominada de proteína Rep (LATIMER et al., 1993; BASSAMI et al., 1998). A ORF C1 fica localizada na fita complementar do DNA, codifica uma proteína de capsídeo de 28,9 KDa. Não se sabe ao certo a função das outras ORFs (BASSAMI et al., 1998; RAIDAL et al., 1998). Devido ao tamanho reduzido do genoma, a replicação viral é extremamente dependente das enzimas celulares, ocorrendo tipicamente no núcleo, onde produzem os corpúsculos de inclusão (WOODS; LATIMER, 2008).

Assim como os outros circovírus, o BFDV afeta os órgãos linfóides como timo e a bursa de Fabricius, causando uma imunodeficiência e facilitando infecções secundárias (LATIMER et al., 1990). O período de incubação varia de 3 semanas a 1 ano e é dependente da idade da ave no momento da infecção e da espécie do hospedeiro. Psitacídeos do velho mundo podem ser afetados, apesar de existir diferença na susceptibilidade a doença, aves mais jovens e espécies do velho mundo são considerados mais susceptíveis (BERT et al., 2005; FRANCIOSINI et al., 2005; PHALEN, 2005).

O vírus é eliminado nas secreções como pó da pena, fezes e epitélio do ingluvío, logo a transmissão ocorre via oral e respiratória (PHALEN, 2005), podendo ocorrer também transmissão vertical (RAHAUS et al., 2008).

2.3.8 Sinais clínicos

A doença manifesta-se de três formas: hiperaguda, aguda e crônica. A forma hiperaguda ocorre em neonatos, ocorrendo óbito sem a presença de sinais clínicos. A forma aguda é mais comum filhotes, quando as penas estão em fase de formação, levando o animal a óbito em 1-2 semanas. Na forma crônica, as aves afetadas estão na faixa etária de 6-12 meses, passando pela primeira muda de penas, entretando, esta fase pode ocorrer também em animais mais velhos. A morte geralmente ocorre entre 6 meses a 2 anos do início da manifestação dos sinais clínicos, devido a natureza imunossupressora da doença. Na maioria das espécies, a doença é crônica, caracterizada pelo crescimento progressivo de penas distróficas e deformidade no bico (PASS; PERRY, 1984).

Algumas espécies possuem sinais clínicos específicos. Filhotes de cacatuas por exemplo, comumente apresentam a doença aguda e fatal. Os sinais clínicos são: depressão, regurgitação e crescimento de penas com estrangulamento na base (PHALEN, 2005). Aves entre 8-10 meses podem apresentar a doença crônica. Neste caso, os primeiros sinais clínicos são sutis, como a diminuição de pó de pena no bico, muda de penas prolongadas e presença de algumas penas distróficas em alguns casos (PHALEN, 2005). Outro sinal clássico em cacatuas é a lesão no bico, que raramente ocorre em outras espécies. Esta hiperqueratose do bico levam ao seu alongamento e um maior crescimento, com necrose no estágio final da doença. Devido a dor causada por estas lesões, as aves apresentam anorexia, logo, animais que não apresentam lesão no bico possuem maior sobrevida. Uma grande porcentagem de animais morre entre 6-12 meses após o início dos sinais clínicos (PHALEN et al., 2000).

Em papagaios africanos, podem ocorrer alteração na coloração das penas, primariamente cinzas que passam a apresentar coloração vermelha (PHALEN, 2005). Em aves jovens, até 7 meses de idade, os sinais clínicos são sistêmicos como anorexia, vômito e fraqueza, nem sempre ocorrendo as clássicas penas distróficas (SCHOEMAKER et al., 2000). Em agapornis, a doença geralmente é subclínica, sendo necessário um cuidado extra ao mistura-los com outras espécies (PHALEN, 2005).

Outra espécie que apresenta uma forma única da doença é o periquito australiano, com a ausência do crescimento das penas primárias e secundárias das asas. A mesma apresentação ocorre com a infecção por poliomavírus, sendo esta um diagnóstico diferencial importante (PHALEN, 2005).

2.3.9 Diagnóstico

No exame histológico, é possível observar corpúsculo de inclusão intranuclear basofílico, entretanto, o poliomavírus, herpesvírus e adenovírus podem causar inclusões nucleares basofílicas em psitacídeos, dificultando o diagnóstico da doença pelo exame histopatológico (LATIMER et al., 1990; LATIMER et al., 1993). A reação de hemaglutinação (HA) e inibição de hemaglutinação também podem ser utilizadas (RAIDAL et al., 1998). Entretanto, o PCR ainda é o principal meio de diagnóstico da doença (LATIMER et al., 1993). Penas, fezes, suabes orais e cloacais, além de órgão se a ave vier a óbito, podem ser testados. (PHALEN, 2005).

2.3.10 Tratamento

Não existe cura para a doença, sendo preconizado o tratamento suporte do animal. As lesões em pena são toleradas, entretanto lesões em bico e unhas são extremamente dolorosas, principalmente quando há infecção secundária, sendo indicada a eutanásia (GERLACH, 1994).

2.4 ANEMIA INFECCIOSA DAS GALINHAS (CAV)

2.4.1 Morfologia

O CAV é um vírus de DNA simples circular e icosaédrico, pequeno e não envelopado, resistente a inativação térmica e tratamento com solventes e desinfetantes (VON BULOW, SHAT, 1997). Por possuir sequências que se sobrepõem, o genoma deste vírus é considerado ambisenso (SCHAT; VAN SANTEN, 2008).

A absorção viral ocorre por adsorção e penetração, enquanto a replicação do DNA se dá através do mecanismo denominado “rolling-circle” (SCHAT; VAN SANTEN, 2008).

2.4.2 Sinais clínicos

Esta doença é caracterizada por uma anemia aplástica e uma atrofia generalizada do sistema linfóide (SCHAT; VAN SANTEN, 2008). Aves de todas as idades podem ser afetadas, entretanto apenas aves jovens apresentam sintomatologia. Aves mais jovens, até três semanas, geralmente são infectadas pela transmissão vertical, enquanto aves de outras idades podem ser infectadas através da rota oral ou respiratória (ENGSTROM et al., 1988; VON BULOW; SCHAT, 1997). As aves apresentam anorexia, depressão, palidez generalizada e hemorragia subcutânea e na musculatura (ROSEMBERGER; CLOUD, 1998). A atrofia e congestão do timo é comumente encontrada e importante no diagnóstico da doença. Todos os sinais clínicos e lesões são exacerbados quando há uma coinfeção com gumboro. Animais afetados de forma severa vem a óbito entre 2 a 4 semanas de vida. Devido a imunossupressão causada pelo circovírus, infecções secundárias são frequentes, principalmente associadas com *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus* em tecidos subcutâneos, o que aumenta a mortalidade devido a dermatite gangrenosa (ROSEMBERGER; CLOUD, 1998).

O período de incubação é de 10-12 dias, podendo haver um segundo pico de mortalidade após 30 dias se a infecção for grave, devido principalmente a transmissão horizontal (SCHAT; VAN SANTEN, 2008). A mortalidade não excede 30%, havendo recuperação total após 20-28 dias.

2.4.3 Diagnóstico

Os sinais clínicos já são suficientes para fechar o diagnóstico, entretanto, exames complementares como ELISA, PCR e isolamento viral podem ser utilizados no diagnóstico (ROSEMBERGER, CLOUD, 1998). O fígado e baço podem ser utilizados no isolamento viral (SCHAT; VAN SANTEN, 2008).

As lesões macroscópicas incluem: Ausência dos lobos do timo, medula óssea amarelada ou rosada e atrofia da Bursa em alguns casos. Em exame microscópico, devido a infecção na medula óssea, ocorre uma depleção de eritrócitos, trombócitos e granulócitos e seus precursores, atrofia do timo, Bursa de Fabricius e baço. Todos os compartimentos hematopoéticos podem sofrer atrofia e aplasia e pode ocorrer a troca de células hematopoéticas por células adiposas (ROSEMBERGER; CLOUD, 1998).

2.4.5 CAV e outras aves

O CAV já foi descrito em pardais no Iran, as amostras vieram de aves que vieram a óbito por diversos motivos, desta forma não foi realizado uma pesquisa de sinais clínicos causados em passeriformes (GHOLAMI-AHANGARAN; ZIA-JAHROMI; RAHIMI, 2013). Os mesmos autores descrevem a possibilidade de os passeriformes agirem como reservatório do vírus.

OBJETIVOS

3 Objetivos

- ✓ Caracterização molecular o bornavírus em psitacídeos de cativeiro no Brasil

- ✓ Detecção e caracterização molecular de bornavírus em passeriformes de cativeiro e vida livre e galiformes de cativeiro

- ✓ Detecção e caracterização molecular de poliomavírus em passeriformes de cativeiro e vida livre e galiformes de cativeiro

- ✓ Detecção e caracterização molecular de circovírus em passeriformes de cativeiro e vida livre e galiformes de cativeiro

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

As amostras de psitacídeos utilizadas neste trabalho foram obtidas entre 2012-2015, sendo selecionadas as amostras positivas de maior intensidade para uma caracterização molecular do bornavírus no Brasil. Das 33 amostras positivas, dez foram sequenciadas. Seis amostras de *Amazona aestiva*, uma *Guarouba guarouba*, duas *Cacatua alba* e uma *Cyanopsitta spixii*.

Foram examinadas amostras de 227 Passeriformes, sendo 81 de cativeiro e 146 de vida livre. Para as aves de vida livre foram coletadas amostras de suabe cloacal, enquanto as amostras de aves de cativeiro foram divididas entre cérebro (75/81) e suabe cloacal (6/81). As amostras de aves de vida livre foram coletadas em Mogi das Cruzes e Louveira, São Paulo, perto de granjas, em áreas em que poderia haver contato entre as aves de vida livre e as aves da granja. Os detalhes de coleta das amostras estão descritos por Guimarães et al. (2012). As amostras de cativeiro tiveram origens diferentes: 71 destas amostras (todas *Sicalis flaveola*) provenieram de um centro de triagem, após apreensão, duas (2) aves vieram de um criador em Minas Gerais, três (3) aves vieram de criadores de São Paulo e seis (6) aves vieram através do Ambulatório de Aves da Universidade de São Paulo. As aves de cativeiro pertenciam a duas espécies apenas: *Serinus canaria* e *Sicalis flaveola*, enquanto as de vida livre pertenciam a dezessete espécies diferentes (Quadro 1).

Nenhuma das aves de vida livre apresentavam sinal clínico aparente, entretanto, das aves de cativeiro, dez apresentavam algum sinal clínico (descrito na Quadro 2).

Para psitacídeos, foram selecionadas dez (10) amostras coletadas anteriormente e positivas para bornavírus foram sequenciadas. As espécies das amostras selecionadas foram: ararajuba (n=1), ararinha azul (n=1), cacatua (n=2), papagaio verdadeiro (n=6).

Quadro 1 - Distribuição das amostras de passeriformes coletadas de acordo com as espécies e origem das mesmas (vida livre ou cativeiro).

Espécie	Número de amostras de vida livre	Número de amostras de cativeiro	Espécie	Número de amostras de vida livre	Número de amostras de cativeiro
<i>Basileuterus culicivorus</i>	1	0	<i>Pseudoleistes guirahuro</i>	3	0
<i>clorostibopn aureoventris</i>	1	0	<i>Serinus canaria</i>	0	10
<i>Columbina talpacoti</i>	22	0	<i>Sicalis flaveola</i>	22	71
<i>chrysomus ruficapillus</i>	6	0	<i>Tangara sayaca</i>	1	0
<i>Cyanoloxia brissonii</i>	1	0	<i>Todirostrum cinereum</i>	2	0
<i>elaenia flavogaster</i>	3	0	<i>Troglodytes musculus</i>	1	0
<i>Furnarius rufus</i>	8	0	<i>Turdus amaurochalinus</i>	5	0
<i>Passer domesticus</i>	57	0	<i>Turdus flavipes</i>	2	0
<i>Pitangus sulphuratus</i>	6	0	<i>Zonotrichia capensis</i>	5	0

Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

Para os galiformes, foi realizada uma seleção aleatória de um total de 90 amostras coletadas em criações de galinhas tipo subsistência, perto de áreas aonde as amostras de passeriformes também foram coletadas (GUIMARÃES et al., 2012). Além destas, 10 amostras de galinhas recebidas no laboratório de ornitopatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, que possuíam a dilatação do proventrículo.

Quadro 2 - Detalhes das amostras coletadas de passeriformes de cativeiro, incluindo idade, identificação, origem e sinais clínicos.

Nome comum/idade	Identificação/origem	Sinais clínicos
Canário/adulto	NP1000/São Paulo	Apatia, anorexia e dilatação proventricular em exame radiográfico
Canário/adulto	NP1002/Minas Gerais	Apatia, sinais neurológicos, morte súbita
Canário/adulto	NP1003/Minas Gerais	Apatia, sinais neurológicos, morte súbita
Canário/ filhote	NP1004 /São Paulo	Óbito sem sinais clínicos
Canário/ filhote	NP1005/São Paulo	Óbito sem sinais clínicos
Canário/ filhote	NP1006/São Paulo	Sinais neurológicos
Canário/ filhote	NP1007/São Paulo	Sinais neurológicos
Canário/ filhote	NP1008/São Paulo	Sinais neurológicos
Canário/ filhote	NP1009/São Paulo	Óbito sem sinais clínicos
Canário/ adulto	NP1010/São Paulo	Crescimento excessivo do bico

Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

4.2 EXTRAÇÃO DE RNA

Inicialmente se realizou a suspensão das amostras seguida da extração de RNA. A suspensão ocorreu de seguinte forma: as amostras foram congeladas a -80°C por dez minutos, então descongeladas por um minuto em banho-Maria a 56°C , foram homogeneizadas com o uso do vortex por 20 segundos. Esses procedimentos foram repetidos três vezes, para então serem centrifugadas a $12.000\times g$ durante 30 minutos. Seguiu-se então a extração de RNA.

O método GIT modificado foi utilizado para a extração de RNA. Em um microtubo foram adicionados 500 μL de GIT, 250 μL de suspensão da amostra, 500 μL de fenol (pH 4,0), 50 μL de acetato de sódio 2M, pH 4,0 e 4 μL de Beta- mercaptoetanol. A amostra foi agitada com o uso do vortex e mantidas em temperatura ambiente por cinco minutos. Após o repouso, 250 μL de clorofórmio foram adicionados. As amostras foram homogeneizadas com o uso do vortex, mantidos a 4°C por 15 minutos e centrifugados a $12.000\times g$ por 20 minutos. Em novo microtubo, uma alíquota de 750 μL de isopropanolol e 700 μL do sobrenadante do microtubo anterior foi pipetado. Estes foram incubados a -20°C por 20 minutos. Uma nova centrifugação foi realizada a $12.000\times g$ durante 15 minutos, o sobrenadante foi desprezado e o pellet lavado com 1mL de etanol 75%. A amostra foi centrifugada $12.000\times g$ por 10 minutos, desprezando novamente o sobrenadante novamente desprezado e o pellet diluído com 20 microlitros de água DPEC. O microtubo foi colocado em placas a 56°C por 10 minutos. Após esse procedimento, a amostra com o material genético extraído foi armazenada a -20°C até o processamento.

4.3 EXTRAÇÃO DE DNA

Antes do procedimento de extração do DNA a amostra recebeu choque térmico através do congelamento a -80°C . O método GT modificado foi utilizado para a extração de DNA. O método GT foi realizado da seguinte forma: O volume de 600 μL de GT (60g Isioticionato de Guanidina,

5mL de Tris-Hcl 1 M pH 7,5, 10mL de EDTA 0,25M pH 8,0, adicionar água ultra pura para o volume de 100 mL) foi adicionado a 200µL de amostra. A amostra foi homogeneizada no vortex por 20 segundos e mantida em temperatura ambiente por cinco minutos. Após este período de incubação se adicionou 100µL de clorofórmio. A amostra foi homogeneizada por 20 segundo no vortex, mantida em repouso em temperatura ambiente por dez minutos e centrifugada a 12.000xg a 4°C por cinco minutos. O volume de 600µL de isopropanolol foi colocado em novo microtubo, e adicionado de 500µL do sobrenadante da amostra. Esta reação foi incubada a -20°C por duas horas. Após o período de incubação, as amostras foram centrifugadas a 12.000xg a 4°C por 20 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o pellet foi lavado com 500µL de etanol 70% e centrifugado por 10 minutos a 12.000xg a 4°C. O sobrenadante foi novamente desprezado e o pellet dissolvido com 30µL de TE. A amostra foi mantida em placa a 56°C por 15 minutos e armazenada a -20°C até o momento da realização do PCR.

4.4 RT-PCR BORNAVÍRUS

Os primers utilizados foram selecionados por amplificarem uma região conservada do RNA, reduzindo assim a chance de reação falso-negativo. Os primers para a identificação do bornavírus em passeriformes e galiformes foram utilizados os primers: Ncom: 5'CATGAGGCTATWGATTGGATTA3'; 5'GGCAYCAYCKACTCTTRAYYGTRT CAGC3' (WEISSENBOCK K et al., 2009a) Ccon_490+: 5'-GGTGTGGTGATTGGKTCTTC-3'; Ccon_708-: 5'-SGGYGAYTCAAAGTCTGTAG-3' (RUBBENSTROTH et al., 2013). Foi utilizado o kit OneStep (QIAGEN) seguindo as instruções do fabricante, com a temperatura de hibridização de 50°C.

4.5 PCR POLIOMAVÍRUS

Os primers selecionados foram: 5'CTTATGTGGGAGGCTGCAGTGTT3' e 5'TACTGAAATAGCGTGGTAGGCCTC3' (BERT et al., 2005). O mix utilizado apresentava 5µL de solução tampão 5X, 2µL de MgCl₂, 0,75µL de dNTP (1,25mM), 2µL de cada primer (10mM) e 0,2µL de Taq Polymerase (5U), 1µL de DNA e água para o volume de 25µL. As amostras foram submetidas ao seguinte ciclo: 96°C por 5 minutos, 40 ciclos de 96°C por 30 segundos, 58°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos, sendo a extensão realizada a 72°C durante 10 minutos.

4.6 PCR CIRCOVÍRUS

Foram utilizados dois pares de primers, o primeiro par selecionado para identificação no circovírus de psitacídeos: 5'AACCCTACAGACGGCGAG3' e 5'GTCACAGTCTCCTTGTACC3' (YPELAAR et al., 1999); enquanto o segundo par utilizado foi o do CAV (vírus da anemia das galinhas) para galiformes, baseado em um artigo que detecta o vírus em passeriforme 5'TGCTGCAAAGAGATGGTGCT 3' e 5'TCCCACCAGTCACCTTTCAT3' (GHOLAMI-AHANGARAN; ZIA-JAHROMI; RAHIMI, 2013).

Para o mix, foi utilizado 5µL de solução tampão 5X, 2µL de MgCl₂, 0,75µL de dNTP (1,25mM), 2µL de cada primer (10mM) e 0,2µL de Taq Polymerase (5U), 1µL de DNA e água para o volume de 25µL; e o ciclo idealizado foi: 96°C por 5 minutos, 32 ciclos de 96°C por 30 segundos, 61°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos, sendo a extensão realizada a 72°C durante 10 minutos.

Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5% contendo o corante Sybr Safe (Invitrogen). Foi utilizado o marcador de peso molecular de 100 pb.

O resultado foi analisado por meio de um transluminador e foto documentado por Alpha Imager Mini Análises System (Alpha Innotech).

4.7 ANÁLISE DE SEQUENCIAMENTO

O sequenciamento parcial de nucleotídeos para o bornavírus de psitacídeos foi realizado para os genes M e N. Foi utilizado o Kit GFX PCR DNA/Gel band purification (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) para a extração do DNA. A análise filogenética parcial do gene N (342 bp) e M (306 bp) foi realizada utilizando MUSCLE (Multiple Sample Alignment) e Genius Pro 6.1.6 software (created by Biomatters, Auckland, New Zealand) utilizando o método “Neighbor-Joining tree” 1000 “bootstrap” de replicação. As sequencias referencia de bornavírus foram obtidas no GenBank e todas as sequencias obtidas foram submetidas no mesmo, com número de acesso (KJ950617) até (KJ950626).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BORNAVÍRUS EM PSITACÍDEOS

O sequenciamento das dez amostras positivas de bornavírus foram analisados. Duas amostras pertenciam ao genótipo PaBv-4, já descrito no Brasil anteriormente (NP-166; número de acesso no GenBank KJ950626). As outras oito amostras formaram um cluster separado, não pertencendo a nenhum dos bornavírus já descritos, apresentando 80 a 86% de identidade com os genótipos de psitacídeos descritos (Quadro 3). Sete amostras eram idênticas e uma (NP-46 KJ950620) diferenciou das demais em um par de bases no gene N. Esses resultados indicam a descoberta de um novo genótipo, que denominamos “parrot bornavírus 8” (PaBV-8). A comparação entre os genótipos de bornavírus já descritos em literatura e o PaBv-8 pode ser observado na Quadro 4.

Quadro 3 - Caracterização molecular do bornavírus em psitacídeos de cativeiro no Brasil revelando a presença de um novo genótipo (continua).

Nome comum	Nome científico	Genótipo
Ararajuba	<i>guarouba guarouba</i>	PaBv-8
Ararinha azul	<i>Cyanopsitta spixii.</i>	PaBv-4
Cacatua	<i>Cacatua alba</i>	PaBv-8
Cacatua	<i>Cacatua alba</i>	PaBv-4
Papagaio verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	PaBv-8
Papagaio verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	PaBv-8

Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

Quadro 3 - Caracterização molecular do bornavírus em psitacídeos de cativeiro no Brasil revelando a presença de um novo genótipo (conclusão).

Nome comum	Nome científico	Genótipo
Papagaio verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	PaBv-8
Papagaio verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	PaBv-8
Papagaio verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	PaBv-8
Papagaio verdadeiro	<i>Amazona aestiva</i>	PaBv-8

Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

Quadro 4 - Comparação entre os genótipos descritos de bornavírus e o PaBV-8 (continua).

Espécies	bornavírus	Espécie hospedeira	Comparação de identidade com PaBv-8		
			Gene N parcial	Gene M parcial	
Psittaciform bornavirus	2	PaBv-1	Psitacídeos	81,4-83,3	84,6-85,0
		PaBv-2	Psitacídeos	83,6-86,3	83,0-85,3
		PaBv-3	Psitacídeos	83,3-84,8	81,4
		PaBv-4	Psitacídeos	83,0-85,7	81,0-81,4
		PaBv-7	Psitacídeos	80,4-80,7	80,4
Waterbird bornavirus	1	ABBV-1	Aves aquáticas	74,6-75,4	72,6-75,1

Fonte: (PHILADELPHO et al., 2014 modificada)

Quadro 4 - Comparação entre os genótipos descritos de bornavírus e o PaBV-8 (conclusão).

Passeriforme 2 bornavírus	EsBV-1	Passeriformes	73,4-73,7	71,9
Sem classificação	PaBv-5	Psitacídeos	72,9-73,7	67,0-70,3
	PaBv-6	Psitacídeos	-----	73,5-73,9
Passeriform bornavirus	CnBv-1	Passeriformes	70,2-72,2	69,0-71,2
	CnBv-2	Passeriformes	71,1-72,5	71,9
	CnBv-4	Passeriformes	72,1-73,5	68,2-69,0
	MnBv-1	Passeriformes	-----	69,6
Mammalian bornavirus	BoDV-1	Mamíferos	69,0-70,5	70,9-71,9
	BoDV-2	Mamíferos	69,3-69,6	

Fonte: (PHILADELPHO et al., 2014 modificada)

A análise das árvores filogenética (Figuras 2 e 3) das proteínas parciais N e M demonstrou um grupamento das amostras obtidas no presente trabalho, formando um novo genótipo, denominado PaBv-8.

Figura 2 - Árvore filogenética do PaBv-8, segmento N-Com, com 345b bp. Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

Fonte: (PHILADELPHO et al., 2014)

Figura 3 - Árvore filogenética do PaBv-8, segmento M-Com, com 306 bp.

B

Fonte: (PHILADELPHO et al., 2014)

5.2 DETECÇÃO DE BORNAVÍRUS EM CANÁRIOS

Um total de 327 amostras foram examinadas para a presença de bornavírus utilizando dois tipos diferentes de RT-PCR: Ncom e Ccom. Foram identificados uma amostra positiva em uma ave de vida livre, um pula-pula (*Basileuterus culicivorus*) sem sinal clínico e duas amostras positivas em canários de cativeiro (*Serinus canaria*) que apresentavam sinais clínicos (morte súbita e dilatação proventricular respectivamente). Um indivíduo apresentou dilatação proventricular, diagnostica através do exame radiográfico (Figura 4). Nenhuma amostra de galiforme foi positiva.

A análise da árvore filogenética (Figura 5) demonstrou que todas as amostras pertencem ao mesmo genótipo, CnBV-1. Apesar das amostras terem origem diferentes, os vírus obtidos das mesmas foram geneticamente muito parecidos, com diferença em apenas um par de base (Quadro 5).

Figura 4- Exame radiográfico de um canário apresentando dilatação proventricular. A amostra de fezes do mesmo indivíduo foi testada positiva para bornavírus.

Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

Figura 5 - Árvore filogenética das amostras obtidas de canário.

Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

N.	Sequences	% - Amino Acid															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
		% - Nucleotides															
ABV-C1	1	NP 93-94 BRAZIL	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	2	NP 107-108 BRAZIL	99,5	-	100	100	100	100	100	100	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	3	NP 109-110 BRAZIL	100	99,5	-	100	100	100	100	100	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	4	KC464471.1 GER	99,5	99	99,5	-	100	100	100	100	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	5	KC464472.1 GER	95,8	95,4	95,8	95,4	-	100	100	100	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	6	KC464474.1 GER	96,3	95,8	96,3	95,8	96,8	-	100	100	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	7	KC464475.1 GER	99,5	99	99,5	99	95,4	95,8	-	100	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	8	KC464476.1 GER	99,5	99	99,5	99	95,4	95,8	100	-	100	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	9	KC464477.1 GER	96,8	96,3	96,8	96,3	98,1	97,7	96,3	96,3	-	100	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	10	KU748794.1 GER	96,8	96,3	96,8	96,3	98,1	97,7	96,3	96,3	100	-	98,6	98,6	98,6	98,6	98,6
	11	KU748792.1 GER	97,2	96,8	97,2	96,8	97,7	99	96,8	96,8	98,6	98,6	-	98,6	98,6	98,6	98,6
	12	KC464478.1 GER	82,6	83,1	82,6	83,1	83,1	82,6	82,6	82,6	83,5	83,5	82,1	-	100	100	100
	13	KC464479.1 GER	82,6	83,1	82,6	83,1	83,1	82,6	82,6	82,6	83,5	83,5	82,1	100	-	100	100
	14	KC464480.1 GER	82,6	83,1	82,6	83,1	83,1	82,6	82,6	82,6	83,5	83,5	82,1	100	100	-	100
	15	KC464481.1 GER	82,1	82,6	82,1	82,6	82,6	83,1	82,1	82,1	83,1	83,1	82,6	98,1	98,1	98,1	-
	16	KC595273.2 GER	82,1	81,7	82,1	82,6	83,5	83,1	81,7	81,7	83,1	83,1	82,6	84,9	84,9	84,4	-

Quadro 5 - Matriz de similaridade das amostras de bomavírus obtidas de passeriformes e no GenBank. Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

5.3 DETECÇÃO DE POLIOMAVÍRUS EM CANÁRIOS

De todas as 327 amostras examinadas, uma foi positiva para poliomavírus. A amostra positiva pertencia a um canário que apresentava crescimento excessivo do bico. Outros agentes (bornavírus, circovírus, herpesvírus) também foram pesquisados na mesma amostra, além do exame coproparasitológico e exame de gram.

Figura 6 - Canário com crescimento excessivo do bico

Fonte: (NATALIA PHILADELPHO, 2017)

5.4 DETECÇÃO DE CIRCOVÍRUS

Nenhuma das 327 amostras foi positiva para circovírus.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 BORNAVÍRUS EM PSITACÍDEOS

O bornavírus está amplamente distribuído em psitacídeos de cativeiro e até a presente data foram descritos sete genótipos diferentes de bornavírus em psitacídeos (PaBV-1 – PaBV-7) (RUBBENSTROTH et al., 2011). Ao caracterizar as amostras positivas de bornavírus de psitacídeos, foi observado a formação de um novo cluster separado dos demais genótipos, cujas identidades variam de 80 a 86% ao comparar com as outras sequências disponíveis. A análise filogenética das sequências positivas em psitacídeos indicaram um novo genótipo que denominamos de PaBV-8. A análise sub genômica demonstrou que as sequências PaBV-8 formaram um novo ramo dentro da espécie psittaciforme 1 bornavirus, sendo proposto que este genótipo seja incluso nesta espécie.

A identificação de um novo genótipo é de extrema importância para o país já que a sensibilidade do RT-PCR pode variar de acordo com o genótipo (RUBBENSTROTH et al., 2013; RUBBENSTROTH et al., 2014b). Desta forma, o conhecimento dos diferentes genótipos e sua distribuição geográfica é decisivo na seleção do melhor método de diagnóstico (ZIMMERMANN et al., 2014), assim como a escolha do melhor primer ou pares de primers a serem utilizados. Tal afirmação corrobora com os dados previamente publicados (AZEVEDO, 2014) em que ao utilizar o primer Mcom (KISTLER et al., 2008), nenhuma amostra foi positiva, porém, ao testar as mesmas amostras com outro par de primers, Ncom (WEISSEMBOCK et al., 2009a), foram observadas 32 positivas. Este resultado deve ser levado em consideração principalmente por laboratórios de diagnóstico de cada país/região, já que a escolha de um par de primer errada aumentaria o número de falso negativo.

De acordo com Staeheli, Rinder e Kaspers (2010), a dilatação de proventrículo é o sinal clínico mais comum, entretanto, Sassa et al. (2013) descreve os sinais neurológicos como os mais frequentes, o que corroborou com os achados descritos por Azevedo (2014) realizado com

psitacídeos sintomáticos no Brasil. Com a recente observação da diferença na apresentação da doença em relação ao genótipo (PIEPENBRING et al., 2012; PIEPENBRING et al., 2016), ficam claras essas divergências, indicado a necessidade de estudos nesta área. Comparando os genótipos que encontramos com os sinais clínicos, observamos que todas as aves PaBV-8 demonstraram apenas sinais neurológicos. Nenhum dos dois animais que pertenciam ao PaBV-4 apresentou sinais neurológicos e apenas um apresentou dilatação proventricular. Devido ao baixo número de aves positivas e sequenciadas neste trabalho não é possível concluir uma ligação entre este sinal clínico e o genótipo.

Dentre as 10 amostras sequenciadas, apenas duas foram identificadas como PaBv-4, enquanto todas as outras amostras pertenciam a um novo genótipo (PaBV-8). Tal distribuição não era esperada já que os genótipos PaBv-2 e PaBv-4 são as mais comumente reportadas e distribuídas mundialmente, inclusive no Brasil (MARIETOO-GONÇALVES et al., 2009; WEISSEMBOCK et al., 2009a; RUBBENSTROTH et al., 2012; DONATTI et al., 2013). A primeira amostra de genótipo 4 pertencia a uma *Cacatua alba*, importada da América do Norte que havia viajado entre Brasil e Estados Unidos pelo menos duas vezes, indicando uma possibilidade de ter sido infectada fora do país. Ainda que o PaBV-4 já tenha sido descrito no Brasil (DONATTI et al., 2014), as aves coletadas eram importadas ou estavam em contato com aves de importação, o que reforça a hipótese de uma contaminação em outro país. A segunda amostra pertencia a uma ararinha azul, que veio importada para Brasil para participar do projeto de reprodução internacional e reintrodução organizado pelo Instituto Chico Mendes (ICMBio). Segundo Rubbenstroth et al., (2016), a aparente impossibilidade de correlacionar as sequências de bornavírus de psitacídeos de cativeiro geograficamente reflete uma distribuição viral extensa através de importações e exportações no passado, levando a uma distribuição global dos diversos variantes. Tal disseminação permanece atualmente com a globalização e a maior facilidade em comprar aves de qualquer parte do mundo. De fato, as duas aves positivas para o PaBv-4 participaram de mais de uma viagem internacional, e em nenhuma as quarentenas em que passaram nos diversos países foram identificadas como positivas para o vírus, o que reforça a necessidade de um maior controle na entrada e saída de animais em todo o mundo.

A obtenção de um exemplar de ararinha azul positivo foi alarmante. A ararinha azul é uma dos psitacídeos em maior perigo de extinção do mundo, sendo considerada extinta na natureza. A

última ave de vida livre foi observada no ano 2000, e é provável que tenha morrido por causas naturais devido a sua idade avançada. Houve um avistamento de um único espécime livre em 2016, porém a suspeita é que este tenha fugido de um cativeiro ilegal (ESCOBAR, 2016). A ararinha azul é endêmica da Bahia habitando a caatinga, ambiente muito depredado devido a ação do homem. Atualmente existem 79 indivíduos da espécie em cativeiro. A presença de PDD nesta espécie já foi descrito antes (DEB et al., 2008, HAMMER; WATSON, 2012), e apesar do esforço em manter todos os indivíduos saudáveis, com exames periódicos nacionais, a eliminação do vírus é intermitente, e há a possibilidade de a ave ser portadora assintomática. O objetivo do projeto de reintrodução destas aves no seu habitat natural pode gerar problemas para outras espécies se aves positivas foram soltas. O PDD é uma doença de cativeiro, sendo raros os casos em aves de vida livre, não se sabendo ao certo quais os danos que poderiam levar caso ocorressem surtos da doença em aves de vida livre.

Rubbenstroth et al. (2016) relataram uma correlação de aves positivas que foram importadas do Brasil para a Alemanha, que apresentavam sequencias de nucleotídeos similares as sequencias do Brasil descritas no GenBank, evidenciando de forma clara a ineficiência na proteção da fauna dos diversos países e uma maior necessidade na fiscalização das doenças nas fronteiras assim como ressalta a possibilidade de disseminação dos mais diversos patógenos e a possível fonte de vários surtos em aves de cativeiro no mundo. No Brasil, todos os animais que são importados devem passar pelo Quarentenário de Cananéia, pertencente ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e único quarentenário credenciado no Brasil. O Quarentenário tem como objetivo o isolamento de animais importados e submetê-los a exames laboratoriais, a fim de testar sua sanidade, sendo considerada uma das mais importantes frentes para evitar a entrada de doenças no país (Ministério da agricultura). Entretanto, a legislação Brasileira de exames para aves importadas não inclui nenhum dos vírus descritos neste trabalho, já que o objetivo maior do país é a proteção de doenças que afetam a agropecuária e/ou a saúde pública. Em uma pesquisa com 18 aves recém liberadas do quarentenário de Cananéia, foram obtidas uma amostra positiva para bornavírus e três para circovírus (AZEVEDO; ALLEGRETTI; FERREIRA, 2015). Essas aves já haviam passado por todo o processo preconizado pelo país para prevenir a entrada de doenças, e mesmo com um número baixo de animais testados, o número de aves positivas foi considerável, reforçando a ideia de Daszak, Cunningham e Hyatt (2000) de que a translocação de

animais e intensa comercialização são responsáveis pelas principais doenças infecciosas emergentes.

Além do reforço na legislação de importação de aves exóticas no Brasil, o tráfico de animais silvestre é outro ponto que precisa ser discutido e levado em consideração na entrada de patógenos e origem de novos surtos de doenças no país. O tráfico de animais silvestres no Brasil ainda é muito forte, ameaçando a fauna do país (LAÇAVA, 2000; RENTAS, 2002), sendo o tráfico de aves um dos mais rentáveis do mundo (outros incluem partes de tigres, caviar, marfim e chifre de rinoceronte (WILLIAMS; GRANTE, 2009). A falta de dados concretos sobre o mercado ilegal assim como o limitante conhecimento do real impacto que o tráfico ilegal causa nas populações de vida livre e na biodiversidade dificultam ainda mais a causa. O mesmo ocorre com os surtos ocorridos no país, que são pobremente relatados e raramente correlacionados a origem. A autora presenciou pelo menos seis surtos de doenças virais em criadouros no Brasil, um deles ligado a entrada de um animal de tráfico ilegal que não passou por quarentena e contaminou os outros indivíduos. Outros surtos tiveram como origem aves que vieram de Centro de Triagem (CETAS), desta forma, provavelmente ligados ao tráfico ilegal. Nenhum dos surtos foram registrados devido a falta de evidências concretas da origem das aves que iniciaram o surto. Das amostras sequenciadas neste trabalho, seis pertenciam a animais que vieram de um CETAS, todas pertencentes ao novo genótipo. A presença de aves positivas em CETAS já foi descrito por Encinas-Nagel et al. (2014), corroborando com os nossos achados. Este fato é preocupante, já que demonstra a grande possibilidade de que o bornavírus já esteja disseminado em aves de vida livre, ameaçando a avifauna do Brasil e de seus vizinhos. A ocorrência de bornavírus em psitacídeos de vida livre já foi descrita no Brasil, entretanto, as amostras provieram de centros de reabilitação de animais silvestres, sem informação do período em que o animal ficou no local e sem dados de origem, logo, a autora não considera uma evidência concreta da presença do vírus em aves de vida livre. Entretanto, o achado de 30% de aves positivas para o vírus, descrito pelos mesmos autores é muito significativo e deve ser levado em consideração nas decisões de ação de preservação do ambiente futura. De acordo com Marini e Garcia (2005), existe a necessidade de um plano nacional para a conservação das aves, afim, dentre outros, estabelecer as necessidades para a pesquisa futura, estabelecer prioridades nacionais para conservação e promover políticas públicas para melhorar a proteção das aves.

6.2 BORNAVÍRUS EM PASSERIFORMES E GALIFORMES

No presente trabalho, foram testadas 327 amostras, destas 100 amostras pertenciam a galiformes e 227 a passeriformes, das quais 81 eram aves de cativeiro e 146 de vida livre. Das amostras de cativeiro, 10 pertenciam a aves doentes e duas destas amostras foram positivas. Ambas as amostras pertenciam a espécie *Serinus canaria*. O primeiro animal apresentou apatia e anorexia e dilatação proventricular no exame radiográfico. O segundo veio de um surto de morte súbita em canários em um criatório em Minas Gerais, cujo sinais clínicos incluíam morte súbita, anorexia e sinais neurológicos. Das aves de vida livre, uma amostra, pertencente a um pula-pula (*Basileuterus culicivorus*), foi positiva para o vírus. Nenhuma das amostras de galiformes foi positiva para o vírus.

A dilatação proventricular das galinhas ainda não possui um agente etiológico distinto, apesar de apresentar um sinal clínico similar ao do PDD. Dentre as amostras testadas de galiformes, 10 possuíam a dilatação proventricular, entretanto, nenhuma delas foi positiva para bornavírus (assim como foram negativas para outros agentes virais comuns em galinhas testados no laboratório de diagnóstico). Este resultado era esperado, já que não há relatos da presença do vírus em galinhas.

O bornavírus de passeriforme não é tão estudado quanto em psitacídeos (RUBBENSTROTH et al., 2012). A primeira descrição do vírus em passeriformes se deu em 2009, um ano após a descoberta do bornavírus em psitacídeos como agente causador da PDD (WEISSENBOCK et al, 2009b). O surto ocorreu em canários (*serinus canaria*) de cativeiro que apresentavam elevada mortalidade, sendo observado a dilatação do proventrículo na necropsia e a presença de células inflamatórias mononucleares no cérebro, proventrículo e ventrículo (WEISSENBOCK et al, 2009b). Alguns anos depois, Rubbenstroth et al. (2013) sequenciaram amostras de canários coletadas por toda Europa que apresentavam os mesmos sinais clínicos, e descreveram três genótipos do vírus em canários. Até a data, existem cinco genótipos descritos em passeriformes: CnBv-1, CnBv-2, CnBv-4, MnBv-1 e EsBV-1. Estes foram descritos em canários (CnBV-1, CnBV-2 e CnBV-4), passeriformes da família Estrildidae (EsBV-1) e manon (*Lonchura striata*)

(MnBv-1). Em passeriformes, o vírus foi descrito na Europa e Japão (RUBBESNTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2013).

Os sinais clínicos observados neste trabalho foram: anorexia, morte súbita, dilatação proventricular e sinais neurológicos, que corroboram com os descritos na literatura para passeriformes (WEISSENBOCK et al., 2009b; RUBBESNTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2013). Todas as aves de cativeiro positivas para o vírus não sobreviveram a infecção. Rubbenstroth et al. (2014) observaram que entre os Passeriformes da Europa, ocorre uma maior prevalência do vírus em canários. Dentre as três amostras positivas encontradas neste trabalho, duas pertenciam a canários, entretanto, não podemos chegar na mesma conclusão já que ambas as amostras pertenciam ao grupo de dez aves com sintomatologia, todas da mesma espécie. A terceira amostra positiva, contudo, pertencia a outra espécie (*Basileuterus culicivorus*), o que contraria os achados dos mesmos autores já que não foi encontrado nenhuma amostra positiva em canários assintomáticos. Deve ser considerado que Rubbenstroth et al. (2013) coletaram amostras de *Serinus canaria* de cativeiro enquanto no presente trabalho foram amostrados *Sicalis flaveola flaveola* proveniente de tráfico e com poucos dias de cativeiro (porém, sem histórico detalhado) e *Sicalis flaveola* de vida livre. Desta forma, devido a divergência do tipo de amostra e origem das mesmas, não seria fidedigno a comparação como os resultados descritos pelos mesmos autores, que concluem que o ambiente e a forma pelo quais os canários são criados favoreceria a transmissão do vírus, além da possibilidade de maior susceptibilidade da espécie.

Duas amostras positivas pertenciam a aves de cativeiro (*Serinus canaria*). A primeira pertencia a um canário, único animal doméstico do proprietário. A ave veio a óbito e foi enterrada, não podendo ser realizado outros exames. O animal ficava em uma gaiola do lado de fora da casa do dono, sendo possível contato com outros animais. O Segundo caso, um canário de um criatório. Outras aves também vieram a óbito, porém apenas um foi positivo. As amostras foram enviadas inadequadamente para o laboratório, devendo ser considerado como principal motivo para haver apenas um positivo, já que o bornavírus é um vírus de RNA, sendo extremamente sensível ao ambiente. Esta amostra foi sequenciada, porém a qualidade foi inferior ao das outras amostras positivas, reforçando a hipótese de destruição do RNA viral durante o transporte das amostras deste criatório. Ambas as aves positivas eram criadas em gaiolas com possibilidade de contato

com aves de vida livre, devendo ser considerada como possível forma de contágio da doença. A forma de transmissão do bornavírus ainda não é conhecido. Alguns autores ainda consideram aves de vida livre como, outros acreditam que outras espécies, como mamíferos ou répteis podem estar envolvidos neste processo (RUBBENSTROTH et al., 2016). A transmissão horizontal, entretanto, já foi comprovada para o bornavírus, incluindo entre espécies diferentes (HEFFELS-REDMAN et al., 2009; PIEPENBRING et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2012; RUBBENSTROTH et al., 2014).

O canário doméstico (*Serinus canaria* forma domestica) é uma forma domesticado do canário selvagem originário das ilhas Canárias. Esta espécie começou a ser criada em cativeiro no século XVII, trazidas por expedições espanholas. Os machos eram vendidos por preços exorbitantes, sua capacidade de cantar os tornava fascinantes e estavam presentes na corte de reis espanhóis e ingleses. Com o aumento do número de criadores, os canários se tornaram mais acessíveis e ainda mais populares. Atualmente, os canários são uma das espécies canoras mais populares, sendo distribuídos por todo o mundo (LOARY; UEDA, 2017). No Brasil, estas aves são muito populares devido ao canto, sendo extensamente criada em todo território. O país possui, entretanto, uma espécie de canário nativa, *Sicalis flaveola*, vítima constante do tráfico ilegal de animais.

O pula-pula (*Basileuterus culicivorus*), também conhecido como sebinho, é um passeriforme da família Parulidae, que recebe esse nome por ser uma ave inquieta. (MARTINS, 2006). A ave mede cerca de 12 centímetros e pesa em média 10,5 gramas. Possui penas amareladas no peito e esverdeadas no dorso, com sobrançelha esbranquiçada com uma listra negra abaixo e acima desta. Esta espécie vive em bando misto de aves e esta distribuída por quase todo o país, ocorrendo também no México, Bolívia, Paraguai, Argentina e Uruguai. Apesar de espécie não apresentar declínio populacional preocupante e possuir uma população farta, pouco se sabe sobre sua biologia, dieta e relações ecológicas (MARINI; CALVACANTI, 1993; LIMA; MANHÃES, 2009). Devido ao fato da ave viver em bando misto, esta espécie entra em contato com diversas outras, facilitando a disseminação viral, principalmente se entrar em contato com aves migratórias. A descoberta de uma ave de vida livre positiva para o vírus é de extrema importância. As doenças infecciosas emergentes são responsáveis por mortalidade em massa, extinção de populações locais e até extinção de espécies (DASZAK; CUNNINGHAM, 1999). Encontrar

passeriformes positivos para o vírus abre um leque de possibilidades para a possibilidade de outras espécies também serem positivas. Por serem pequenas, são a base da cadeia alimentar de outros animais, incluindo aves de rapina, que podem se contaminar ao se alimentar de aves positivas (PAYNE et al., 2011a).

Todas as três amostras positivas encontradas pertenciam ao mesmo genótipo, CnBV-2. Diferente dos genótipos de bornavírus para psitacídeos, ainda não foi observado diferença na apresentação clínica dos genótipos de passeriformes. O genótipo CnBV-2 só havia sido descrito em canários até o presente momento, sendo este o primeiro relato de bornavírus na espécie e o deste genótipo em um passeriforme que não seja um canário. Este fato pode ser explicado por estudos recentes que sugerem que o bornavírus de passeriforme, assim como o de psitacídeos, podem afetar outras espécies e até outras ordens de aves (RUBBENSTROTH et al., 2013).

6.3 POLIOMAVÍRUS EM PASSERIFORMES E GALIFORMES

O poliomavírus é considerado um agente causador de grandes perdas econômicas para criadores de aves pet, além de ser uma ameaça para aves de vida livre e criadouros conservacionistas. Apesar de sua importância, a doença não é muito diagnosticada no Brasil, sendo ainda mais negligenciada em passeriformes. Neste trabalho, foram examinadas 327 amostras, resultando em uma positiva para poliomavírus. A amostra pertencente a um canário apresentado com crescimento excessivo de bico. Os sinais clínicos de poliomavírus em passeriformes são iguais ao de psitacídeos. Estes incluem: hemorragia subcutânea, edema, sinais neurológicos, apteria, penas distróficas, aumento da mortalidade de filhotes e baixa eclosão dos ovos. O crescimento do bico é um sinal descrito, entretanto não muito comum.

O crescimento excessivo do bico pode ser causado por diversos fatores como lesão hepática, desnutrição, trauma, mal oclusão entre outros fatores, incluindo a infecção por poliomavírus (BOUSSARIE, 2002). O crescimento do bico em aves infectadas por poliomavírus pode ser explicada pela lesão hepática. Apesar de ser um sinal clínico descrito para o vírus, não existem muitos casos com este sinal clínico e muitas vezes o crescimento do bico não leva o veterinário a pensar em poliomavírus como diagnóstico diferencial. A amostra foi negativa para bornavírus, circovírus e herpesvírus, que também poderiam causar esta alteração. Este sinal clínico é incomum (assim como os sinais neurológicos), e muitas vezes é negligenciado na clínica de aves, e isso fica ainda mais evidente na clínica de passeriformes. A identificação de um canário positivo para o vírus serve de alerta para clínicos e criadouros sobre a real ameaça do agente. Por levar a uma alta morbidade e mortalidade, a prevenção ainda é a melhor opção, evitando contato com aves de vida livre, mosquitos (um dos transmissores da doença) e fazendo quarentena quando novas aves são adquiridas (tanto para criadores quanto para proprietários que já possui outra ave).

A presença do vírus em aves de vida livre é rara, havendo poucos relatos confirmados, desta forma, a ausência de positivos nas amostras de aves de vida livre não foi uma surpresa. Apesar de não ser possível comprovar a ocorrência do vírus em aves de vida livre no país, existe a necessidade de uma maior amostragem e outros estudos para aumentarmos a compreensão

sobre este agente. Um estudo da prevalência do vírus e da doença em passeriformes de vida livre se faz necessário para melhor entender a importância deste agente na avicultura. Apesar disso, o achado de um passeriforme, mesmo que de cativeiro, positivo para doença é de grande importância para aves de vida livre, já que aves de cativeiro muitas vezes entram em contato com aves de vida livre podendo assim transmitir a doença e causar grandes danos à fauna.

6.4 CIRCOVÍRUS EM PASSERIFORMES E GALIFORMES

O circovírus, assim como o poliomavírus e o bornavírus, é considerado de extrema importância para a saúde das aves de vida livre e cativeiro mundialmente. Não houve amostras positivas. Devido a ausência de trabalhos com circovírus em passeriformes e galiformes no Brasil, assim como na América Latina, o presente trabalho se torna importante para a fauna cativa e de vida livre no país. Ainda que não haja amostras positivas, este trabalho tem intenção de incentivar o estudo deste agente no país e tentar entender os complexos fatores envolvidos em surtos e que poderiam colocar nossa fauna em risco.

Uma dificuldade encontrada foi os diversos tipos de circovírus que afetam as aves, que incluem, além da doença do bico e das penas de psitacídeos (BFDV) e anemia infecciosa das galinhas (CAV) o circovírus de pombos (PiCV), circovírus de canários (CaCV), circovírus de patos (DuCV), circovírus de ganso (GoCV) (TODD et al., 2007). Neste trabalho, foram testados primers apenas para dois destes vírus (BFDV e CAV), esta escolha foi feita baseada na importância econômica destas doenças para a avicultura comercial e doméstica. O CAV, apesar de ser um vírus que afeta principalmente galinhas, já foi relatado em passeriformes, ressaltando a importância do presente estudo, já que passeriformes poderiam facilmente disseminar a doença no Brasil.

O CAV é bem descrito em galinhas no Brasil. Neste caso, existe uma possibilidade de transmissão entre galinhas e aves de vida livre, que acabam entrando em contato com esses animais. As amostras de passeriformes coletadas em nosso trabalho foram em áreas de criação de galinhas, tanto comercial como fundo de quintal. O fato de não haver nem galinhas nem passeriformes positivos não foi surpresa, já que as amostras foram suabes cloacais, falso negativos podem ocorrer. Mais estudos são necessários nesta área, com objetivo de entender o circovírus nestas espécies afim de evitar surtos em galiformes carregados por passeriformes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo identificamos um novo genótipo para bornavírus de psitacídeos presente em aves de cativeiro no Brasil: PaBv-8. Este genótipo foi identificado apenas no Brasil até o momento. Os sinais clínicos descritos nas aves positivas no Brasil divergiram um pouco do descrito em literatura, sendo interessante um estudo que correlacione os sinais clínicos deste genótipo com os outros descritos, facilitando diagnósticos futuros.

Foram identificadas aves positivas para bornavírus de canários, tanto em cativeiro quanto em vida livre. Não há descrição deste vírus nestas espécies no Brasil. A ocorrência de surtos em criatórios de canários, com mortalidade evidencia a importância da doença. A descrição do bornavírus em uma ave de vida livre, um pula-pula, reforça ainda mais esta questão e a necessidade de outros estudos, principalmente relacionados a epidemiologia e patogenia.

Descrevemos um canário positivo para poliomavírus que apresentou crescimento excessivo do bico. Este sinal já foi descrito para a doença, entretanto não é comum, mas deve ser incluído nos demais sinais clínicos característicos da poliomavirose.

Por último, a ausência de circovírus nas amostras testadas. Este resultado não indica a total ausência da doença no país, e tem como função servir de base para pesquisas futuras.

Em suma, as doenças virais estudadas aqui estão diretamente relacionadas com o tráfico de animais silvestres ilegal, assim como a comercialização nacional e internacional destes animais. Há a necessidade de uma legislação mais rígida e específica, que proteja não apenas agropecuária, mas também nossa fauna.

REFERÊNCIAS

ADAIR B.M. Immunopathogenesis of chicken anaemia virus infection. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 24, p. 247-255, 2000.

ALBERTYN, J.; TAJBHAI, K. M.; BRAGG, R. R. Psittacine beak and feather disease virus in budgerigars and ring-neck parakeets in South Africa. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 71, n. 1, p. 29–34, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15185572>>. Acesso em: 22 jun. 2012.

ALLEY, M. R.; RASIAH, I.; LEE, E. A.; HOWE, L.; GARTRELL, B. D. Avian polyomavirus identified in a nestling Gouldian finch (*Erythrura gouldiae*) in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 61, n. 6, p. 359–61, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23445119>>. Acesso em: 8 nov. 2013.

ARAÚJO, J.L.; PLUMLEE, Q.; RECH, R.R.; WINKEL-BLAIR, A.; HOPPE, S.; SCHNEIDER, S.M. Proventricular rupture associated with Psittaciforme 1 Bornavirus (PaBV) infection in a Major Mitchell Cockatoo (*Lophochroa leadbeateri*). **Brazilian Journal Veterinary Pathology**, v. 9, n. 2, p. 83 – 87, 2016.

AZEVEDO, N.P. **Deteção de Bornavírus, Poliomavírus e Circovírus em amostras biológicas, utilizando PCR e RT-PCR, de psitacídeos com diferentes aspectos clínicos**. 2014. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

AZEVEDO, N.P.; ALLEGRETTI, L.; FERREIRA, A.J.P.; Detection of bornavirus and circovirus in exotic birds importation reveals danger to Brazilian wild fauna. In: XXVI BRAZILIAN CONGRESS OF VIROLOGY, v. 20, Florianópolis, **Anais...** São Paulo, 2015. p. 220.

BARTLEY D.M.; SUBASINGHE R.P. Historical aspects of international movements of living aquatic species. **Revue Scientifique Technique** v.15, n. 2, p.387-400, 1996.

BASSAMI, M. R.; BERRYMAN, D.; WILCOX, G. E.; RAIDAL, S. R. Psittacine beak and

feather disease virus nucleotide sequence analysis and its relationship to porcine Circovirus, plant circoviruses, and chicken anaemia virus. **Virology**, v. 249, n. 2, p. 453–9, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9791035>>. Acesso em: 23 maio 2013.

BENNETT, M. D.; GILLET, A. Butcherbird Polyomavirus isolated from a grey butcherbird (*Cracticus torquatus*) in Queensland, Australia. **Veterinary Microbiology**, v. 168, n. 2-4, p. 302–11, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24355535>>. Acesso em: 31 Jan. 2014.

BERG M.; JOHANSSON M.; MONTELL H.; BERG A. L. Wild birds as a possible natural reservoir of Borna disease virus. **Epidemiology Infectious**, v. 127, n. 2, p. 173-178, 2001.

BERNIER, G.; MORIN, M.; MARSOLAIS, G. A generalized inclusion body disease in budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) caused by papovavirus-like agent. **Avian Diseases**, v. 25, p. 1083–1092, 1981.

BERNIER, G.; MORIN, M.; MARSOLAIS, G. Papovavirus induced feather abnormalities and skin lesions in the budgerigar: clinical and pathological findings. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 25, n. 8, p. 307–10, 1984. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1790627&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 22 jun. 2013.

BERT, E.; TOMASSONE, L.; PECCATI, C.; NAVARRETE, M. G.; SOLA, S. C. Detection of beak and feather disease virus (BFDV) and avian polyomavirus (APV) DNA in psittacine birds in Italy. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 52, n. 2, p. 64– 8, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15752264>>. Acesso em: 22 jun. 2013.

BOURG, M.; HERZOG, S.; ENCARNACAO, J.A.; NOBACH, D.; LANGE-HERBST, H.; EICKMANN, M.; HERDEN, C. Bicolored White- toothed Shrews as Reservoir for Borna Disease Virus, Bavaria, Germany. **Emerging Infectious Diseases**. v. 19, n.12, p. 2064–6, 2013.

BOURQUE, L.; LANIESSE, D.; BEAUFRÈRE, H.; PASTOR, A.; OJKIC, D.; SMITH, D.A. Identification of avian bornavirus in a Himalayan monal (*Lophophorus impejanus*) with

neurological disease, **Avian Pathology**, v. 44, n. 4, p. 323-327, 2015.

BOUSSARIE, D. Anomalies and disorders in beak and feathers. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION 2002 CONGRES, 2002, Granada, **Proceedings...** Granada, 2002.

BOZEMAN, L. H.; DAVIS, R. B.; GAUDRY, D.; LUKERT, P. D.; FLETCHER, O. J.; DYKSTRA, M. J. Characterization of a papovavirus isolated from fledgling budgerigars characterization of a papovavirus isolated from fledgling budgerigars. **Avian Diseases**, v. 25, n. 4, p. 972-980, 1981. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/1590072>>. Acesso em: 22 jun. 2013.

CALISHER, C.H.; CHILDS, J.E.; FIELD, H.E.; HOLMES, K.V.; SCHOUNTZ, T. Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. **Clinical Microbiology Reviews** v. 19, p. 531-545, 2006.

DALHAUSEN, B.; ALDRED, S.; COLAIZZI, E. Resolution of clinical proventricular dilatation disease by cyclooxygenase 2 inhibition. In: ASSOCIATION OF AVIAN VETERINARIAN. 2002, Monterey, California. **Anais...** Páginas 9-12.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A. Extinction by infection. **Trends Ecology Evolution** v. 14, p. 279, 1999.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Emerging Infectious Diseases of Wildlife— Threats to Biodiversity and Human Health. **Wildlife Ecology** v. 287, 2000.

DAVIS, R.B.; BOZEMANLH, L.H.; GAUDRY, D.; FLETCHER, O.J.; LUKERT, P.D.; DYKSTRA, M.J. A viral disease of fledgling budgerigars. **Avian Diseases**, v. 25, p. 179-83, 1981.

DEB, A.; FOLDENAUER, U.; BORJAL, R. J.; STREICH, W. J.; LUKEN, C.; JOHNE, R.; MULLER, H.; HAMMER, S. A longitudinal study on avian polyomavirus-specific antibodies in captive spix's a longitudinal study on avian polyomavirus-specific antibodies in captive spix's macaws (*Cyanopsitta spixii*). **Journal of Avian Medicine And Surgery**, v. 24, n. 3, p. 192–198, 2010. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/full/10.1647/2009-004.1>>. Acesso em: 27 fev. 2014.

DELNATTE, P.; BERKVEN, C.; KUMMROW, M.; SMITH, D. A.; CAMPBELL, D.; CRAWSHAW, G. New genotype of avian bornavirus in wild geese and trumpeter swans in Canada. **The Veterinary Record**, v. 169, n. 4, p. 108, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21784813>>. Acesso em: 8 nov. 2013.

DELNATTE, P.; NAGY E.; OJKIC, D.; CRAWSHAW, G.; SMITH, D.A. Investigation into the possibility of vertical transmission of avian bornavirus in free-ranging Canada geese (*Branta canadensis*). **Avian Pathology**, v. 43, n. 4, p. 301-304, 2014.

DONATTI, R.; RESENDE, M.; JUNIOR, F.; MARQUES, M. V. R.; ECCO, R.; SHIVAPRASAD, H. L.; RESENDE, J. S.; MARTINS, N. R. S. Fatal proventricular dilatation disease in captive native psittacines in Brazil. **Avian Diseases**, v. 58, n.1, p. 187-93, 2013.

DUCATEZ, M.F.; OWOADE, A.A.; ABIOLA, J.O.; MULLER C.P. Molecular epidemiology of chicken anemia virus in Nigeria. **Archives Virology**. V. 151, p. 97-111, 2006.

DÜRRWALD, R.; KOLODZIEJEK, J.; WEISSENBOCK, H.; NOWOTNY, N. The bicolored white-toothed shrew *Crocidura leucodon* (HERMANN 1780) is an indigenous host of mammalian borna disease virus. **Plos One**. V. 9, n. 4, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0093659

ENCINAS-NAGEL, N.; ENDERLEIN, D.; PIEPENBRING, A.; HERDEN, C.; HEFFELS-REDMANN, U.; FELIPPE, P.A.N.; ARNS, C.; HAFEZ, H.M.; LIERZ, M. Avian bornavirus in free-ranging psittacine birds, Brazil **Emerging Infectious Disease** v. 20, n. 12, p. 2103–2106, 2014.

ENDERS, F.; GRAVENDYCK, A. M.; GERLACH, B. H.; KALETAB, E. F. Case report-

fatal avian polyomavirus infection during quarantine in adult wild-caught red- faced lovebirds (*Agapornis pullaria*). **Avian Diseases**, v. 41, n. 2, p. 496–498, 1997. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/1592213>>. Acesso em: 22 maio 2012.

ENGSTROM, B.E.; FOSSUM, O.; LUTHMAN, M. Blue wing disease of chickens: Experimental infection with a Swedish isolate of chicken anemia agent and an avian reovirus. **Avian Pathology**, v. 17, p. 33–50, 1988.

ESCOBAR, H. **Ararinha azul é vista na natureza após 15 anos desaparecida**. Estadão, São Paulo, 24 jun. 2016. Caderno de ciência. Disponível em: <<http://ciencia.estadao.com.br/blogs/heron-escobar/ararinha-azul-e-vista-na-natureza-apos-15-anos-desaparecida/>>. Acesso em: 16 de dez de 2016.

FARKAS, T.; MAEDA, M.; SUGIURA, H.; KAI, K.; HIRAI, K.; OSTUKI, K.; HAYASHI, T. A serological survey of chickens, Japanese quail, pigeons, ducks and crows for antibodies to chicken anaemia virus (CAV) in Japan. **Avian Pathology**, v. 27, p. 316-320, 1998.

FRANCIOSINI, M. P.; FRINGUELLI, E.; TARHUNI, O.; GUELF, G.; TODD, D.; PROIETTI, P. C.; ASDRUBALI, G.; FRANCIOSINI, M. P.; FRINGUELLI, A. E.; TARHUNI, A. O.; GUELF, A. G.; TODD, A. D.; PROIETTI, B. P. C. Development of a polymerase chain reaction-based in vivo method in the diagnosis of subclinical pigeon Circovirus infection development of a polymerase chain reaction-based in vivo method in the diagnosis of subclinical pigeon circovirus infection. **Avian Diseases**, v. 49, n. 3, p. 340–343, 2005.

GANCZ, A. Y.; CLUBB, S.; SHIVAPRASAD, H. L. Advanced diagnostic approaches and current management of proventricular dilatation disease. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 13, n. 3, p. 471–94, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20682431>>. Acesso em: 18 mar. 2012.

GANCZ, A. Y.; KISTLER, A. L.; GRENINGER, A. L.; FARNOUSHI, Y.; MECHANI, S.; PERL, S.; BERKOWITZ, A.; PEREZ, N.; CLUBB, S.; DERISI, J.; GANEM, D.; LUBLIN, A. Experimental induction of proventricular dilatation disease in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) inoculated with brain homogenates containing avian bornavirus-4. **Virology Journal**, v. 6, p. 100, 2009. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2717941&tool=pmcentres>>

z&rendertype=abstract>. Acesso em: 8 nov. 2013.

GARCIA, A.P.; LATIMER, K.S.; NIAGRO, F.D.; NORTON, T.M; HARMON, B.G.; CAMPAGNOLI, R.P.; STEFFENS W. L. avian polyomavirus infection in three black-bellied seed crackers (*Pyrenestes ostrinus*). **Journal of the Association of Avian Veterinarians**, v. 7, n. 2, p. 79-82, 1993.

GELIS, S. The Gouldian finch (*Erythrura gouldiae*) in health and disease. **Journal of Exotic Pet**, v. 12, n. 4, p. 215-227, 2003.

GERLACH, H. Viruses. In: RITCHIE, BW; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 888–902.

GHOLAMI-AHANGARAN, M., ZIA-JAHROMI, N., RAHIMI, E. Molecular detection of chicken anemia vírus (CAV) in house sparrow (*Passer domesticus*) in Iran, **Revue Medecine Veterinaire**, v. 164, n. 11 p. 487-490, 2013.

GOODWIN, M.A.; HAFNER, S.; BOUNOUS, D.I.; LATIMER, K.S.; PLAYER, E.C.; NIAGRO, F.D.; CAMPAGNOLI, R.P.; BROWN, J. Viral proventriculitis in chickens. **Avian Pathology**, v. 25, p. 369–379, 1996.

GRAY, P.; HOPPE, S.; SUCHODOLSKI, P.; MIRHOSSEINI, N.; PAYNE, S.; VILLANUEVA, I.; SHIVAPRASAD, H. L.; HONKAVUORI, K. S.; BRIESE, T.; REDDY, S.; TIZARD, I. Use of avian bornavirus isolates to induce proventricular dilatation disease in conures. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. 473–9, 2010.
Disponível em:
<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3322028&tool=pmcentre>
z&rendertype=abstract>. Acesso em: 8 nov. 2013.

GUIMARÃES, M.B. **Detecção do vírus da Influenza Aviária, Paramyxovirus tipo 1 (vírus da Doença de Newcastle), Mycoplasma gallisepticum e Mycoplasma synoviae em aves silvestres e domésticas próximas às granjas avícolas comerciais nas regiões de Mogi das Cruzes e Louveira do Estado de São Paulo**. 2012. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,

University of São Paulo, São Paulo, 2012.

GUO, J.; COVALEDA, L.; HEATLEY, J.; BAROCH, J.; TIZARD, I.; PAYNE, S. Widespread avian bornavirus infection in mute swans in the Northeast United States. **Veterinary Medicine: Research and Reports**; v. 3, p. 49– 52, 2012.

GUY, J.S.; WEST, A.M.; FULLER, F.J. Physical and genomic characteristics identify chicken proventricular necrosis virus (R11/3 virus) as a novel birnavirus. **Avian Diseases**, v. 55, p. 2–7, 2011.

HA, H. J.; ALLEY, M. R.; CAHILL, J. I.; HOWE, L.; GARTRELL, B. D. The prevalence of psittacine beak and feather disease virus infection in native parrots in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 57, n. 1, p. 50–2, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19252543>>. Acesso em: 4 feb. 2014.

HALAMI, M.Y.; DORRESTEIN, G.M.; COUTEEL, P.; HECKEL, G.; MULLER, H.; JOHNE, R. Whole-genome characterization of a novel polyomavirus detected in fatally diseased canary birds. **Journal of General Virology**, v. 91, p. 3016-3022, 2010.

HALAMI, M.Y.; NIEPER, H.; MULLER, H.; JOHNE, R. Detections of a novel circovirus in mute swans (*Cygnus olor*) by using nested broad-spectrum PCR. **Virus Research**, n. 132, v. 4, p. 208-212, 2008.

HAMMER, S.; WATSON, R. The challenge of managing Spix Macaws (*Cyanopsitta spixii*) at Qatar - an eleven-year retrospection **Der Zoologische Garten** v. 81, n. 2-3, p. 81-95, 2012.

HAUSMANN, J.; BAUR, K.; ENGELHARDT, K.R.; FISCHER, T.; RZIHA, H.J.; STAEHEL, P. Vaccine-induced protection against Borna disease in wild-type and perforin-deficient mice. **Journal General Virology** v. 86, p. 399–403, 2005.

HEATH, L.; MARTIN, D. P.; WARBURTON, L.; PERRIN, M.; HORSFIELD, W.; KINGSLEY, C.; RYBICKI, E. P.; WILLIAMSON, A.L. Evidence of unique genotypes of

beak and feather disease virus in southern Africa. **Journal of Virology**, v. 78, n. 17, p. 9277-9284, 2004.

HEATLEY, J.; VILLALOBOS, A.R. Avian bornavirus in the urine of infected birds. **Veterinary Medicine: Research and Reports**. v. 3, p. 19–23, 2012.

HEFFELS-REDMANN, U.; ENDERLEIN, D.; HERZOG, S.; HERDEN, C.; PIEPENBRING, A.; NEUMANN, D.; MULLER, H.; CAPELL, S.; OBERHAUSER, K.; GERLACH, H.; KALETA, E. F.; LIERZ, M. Occurrence of avian bornavirus infection in captive psittacines in various European countries and its association with proventricular dilatation disease. **Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.**, v. 40, n. 4, p. 419–26, 2011.

HERDEN, C.; BRIESE, T.; LIPKIN, W.I.; RICHT, J.A. Bornaviridae. In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013: 1124-50.

HERZOG, S.; ENDERLEIN, D.; HEFFELS-REDMANN, U.; PIEPENBRING, A.; NEUMANN, D.; KALETA, E. F.; MÜLLER, H.; LIERZ, M.; HERDEN, C. Indirect immunofluorescence assay for intra vitam diagnosis of avian bornavirus infection in psittacine birds. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 2282–2284, 2010.

HILBE, M.; HERRSCHE, R.; KOŁODZIEJEK, J.; NOWOTNY, N.; ZLINSZKY, K.; EHRENSPERGER, F. Shrews as reservoir hosts of borna disease virus. **Emerging Infectious Disease**. v. 12, n. 4 p. 675–7, 2006.

HOFFMANN, B.; TAPPE, D.; HOPER, D.; HERDEN, C.; BOLDT, A.; MAWRIN, C.; NIEDRSTRABER, O.; MULLER, T.; JENCKEL, M.; VAN DER GRINTEN, E.; LUTTER, C.; ABENDROTH, B.; TEIFKE, J.; CADAR, D.; SCHIDT-CHANASIT, J.; ULRICH, R.G.; BEER, M. A variegated squirrel bornavirus associated with fatal human encephalitis. **The New England Journal of Medicine**, 2015.

HONDA, T.; KOZUE, S.; HIDENORI, M.; MASAYA, T.; IKUKO, M.; MASAKO, T.; KEIZO, T.; Laboratory and Epidemiological Communications - Detection of antibodies to Borna disease virus proteins in an autistic child and her mother. **Japanese Journal of**

Infectious Diseases, v. 70, n. 2, p. 225-227, 2016.

HONKAVUORI, K. S.; SHIVAPRASAD, H. L.; WILLIAMS, B. L.; QUAN, P.; HORNIG, M.; STREET, C.; PALACIOS, G.; HUTCHISON, S. K.; FRANCA, M.; EGHOLM, M.; BRIESE, T.; LIPKIN, W. I. Novel borna virus in psittacine birds with proventricular dilatation disease. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. 1883–1886, 2008. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/eid/content/14/12/1883.htm>>. Acesso em: 2 abr. 2012.

HORIE, M.; UEDA, K.; UEDA, A.; HONDA, T.; TOMONAGA, K. Detection of avian bornavirus 5 RNA in *Eclectus roratus* with feather picking disorder. **Microbiology and Immunology**, v. 56, n. 5, p. 346–9, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22309239>>. Acesso em: 8 nov. 2013.

HORNIG, M.; BRIESE, T.; LICINIO, J.; KHABBAZ, R.F.; ALTSHULER, L.L., et al. Absence of evidence for bornavirus infection in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. **Molecular Psychiatry**. V. 17, p. 486–93, 2012.

HOPPEs, S.; GRAY, P.L.; PAYNE, S.; SHIVAPRASAD, H. L.; TIZARD, I. The isolation, pathogenesis, diagnosis, trans- mission, and control of avian bornavirus and proventricular dilatation disease. **Veterinary Clinical North America Exotic Animal Practice** v.13, n. 3, p.495–508, 2010.

HOPPEs, S. M.; TIZARD, I.; SHIVAPRASAD, H. L. Avian bornavirus and proventricular dilatation disease: diagnostics, pathology, prevalence, and control. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 16, n. 2, p. 339–55, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23642866>>. Acesso em: 29 jan. 2014.

HUFF, G.R.; ZHENG, Q.; NEWBERRY, L.A.; HUFF, W.E.; BALOG, J.M.; RATH, N.C.; KIM, K.S.; MARTIN, E.M.; GOEKE, S.C.; SKEELES, J.K. Viral and bacterial agents associated with experimental transmission of infectious proventriculitis of broiler chickens. **Avian Diseases**, v. 45, p. 828–843, 2001.

JOHNE, R.; BUCK, C. B.; ALLANDER, T.; ATWOOD, W. J.; GARCEA, R. L.; IMPERIALE, M. J.; MAJOR, E. O.; RAMQVIST, T.; NORKIN, L. C. Taxonomical developments in the family Polyomaviridae. **Archives of Virology**, v. 156, n. 9, 2011.

JOHNE, R.; MULLER, H. Polyomaviruses of birds: etiologic agents of inflammatory diseases in a tumor virus family. **Journal Virology** v. 81, p. 11554–11559, 2007.

JONES, R.C. Avian reovirus infections. **Revue Scientifique et Technique**, n. 19, p. 614–625, 2000.

KERSKI, A.; De KLOET, A. H.; De KLOET, S. R.; A. S. R. D. K. Vertical Transmission of avian bornavirus in psittaciformes: avian bornavirus rna and anti- avian bornavirus antibodies in eggs, embryos, and hatchlings obtained from infected sun conures (*Aratinga solstitialis*). **Avian Diseases**, v. 56, n. 3, p. 471–478, 2012.

KIM, H.R.; YOON, S.J.; LEE, H.S.; KWON, Y.K. Identification of a picornavirus from chickens with trans- missible viral proventriculitis using metagenomic analysis. **Archives of Virology**, n. 160, p. 701–709, 2015.

KINNUNEN, P.M.; PALVA, A.; VAHERI, A.; VAPALAHTI, O. Epidemiology and Host Spectrum of Borna Disease Virus Infections. **Journal of General Virology**, v. 94, p. 247-262, 2013.

KISTLER, A. L.; GANCZ, A.; CLUBB, S.; SKEWES-COX, P.; FISCHER, K.; SORBER, K.; CHIU, C. Y.; LUBLIN, A.; MECHANI, S.; FARNOUSHI, Y.; GRENINGER, A.; WEN, C. C.; KARLENE, S. B.; GANEM, D.; DERISI, J. L. Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of proventricular dilatation disease: identification of a candidate etiologic agent. **Virology Journal**, v. 5, p. 88, 2008. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2546392&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 8 nov. 2013.

KISTLER, A. L.; SMITH, J. M.; GRENINGER, A. L.; DERISI, J. L.; GANEM, D.

Analysis of naturally occurring avian bornavirus infection and transmission during an outbreak of proventricular dilatation disease among captive psittacine birds. **Journal of Virology**, v. 84, n. 4, p. 2176–9, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2812378&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 2 abr. 2012.

KLOET, E.; KLOET, S. R. Analysis of the beak and feather disease viral genome indicates the existence of several genotypes which have a complex psittacine host specificity. **Archives of Virology**, v. 149, n. 12, p. 2393–412, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15290360>>. Acesso em: 26 fev. 2014.

KOU, ZHENG; ZHANG, ZHONG; CHEN, SHENGLIANG; FAN, ZHAOJUN TANG, SHUANG; ZHAO, LIN; ZHANG, A. B. ZHONG; CHEN, B. SHENGLIANG; FAN, B. ZHAOJUN; TANG, B. SHUANG; ZHAO, B. LIN; BC, TIANXIAN LI. Molecular characterizations of avian Polyomavirus isolated from budgerigar in china. **Avian Diseases**, v. 52, n. 3, p. 451–454, 2008. Disponível em: <<http://www.bioone.org/doi/full/10.1637/8223-012408-Reg.1>>. Acesso em: 5 fev. 2013.

KOUWENHOVEN, B.; DAVELAAR, F.G.; VAN WALSUM, J. Infectious proventriculitis causing runting in broilers. **Avian Pathology**, v. 7, p. 183–187, 1978.

LATIMER, K. S.; NIAGRO, F. D.; CAMPAGNOLI, R. P.; RITCHIE, R. P.; PESTI, D. A.; STEFFENS, W. L. Diagnosis of concurrent avian polyomavirus and psittacine beak and feather disease virus infections using DNA probes. **Journal of the Association of Avian Veterinarians**, v. 7, n. 3, p. 141–146, 1993.

LATIMER, K. S.; NIAGRO, F. D.; STEFFENS, W. L.; RITCHIE, B. W.; CAMPAGNOLI, R. P. Polyomavirus encephalopathy in a ducorps cockatoo (*cacatua ducorpsii*) with psittacine beak and feather disease. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, n.3, p. 291–295, 1996.

LATIMER, K. S.; RAKICH, P. M.; KIRCHER, I. M.; RITCHIE, B. W.; NIAGRO, F. D.; STEFFENS, W. L.; LUKERT, P. D. Extracutaneous viral inclusions in psittacine beak and feather disease. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 2, n. 3, p. 204–207, 1990. Disponível em: <<http://vdi.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/104063879000200309>>. Acesso em: 3 fev. 2014.

LIERZ, M.; HAFEZ, H. M.; HONKAVOURI, K. S.; Gruber AD, Olias P, Abdelwhab EM, KOHLS, A.; LIPKIN, W. I.; BRIESE, T.; HAUCK, R. Anatomical distribution of avian borna-virus in parrots, its occurrence in clinically healthy birds and ABV- antibody detection. **Avian Pathology**, v. 38, p. 491–6, 2009.

LIERZ, M.; PIEPENBRING, A.; HERDEN, C.; OBERHAUSER, K.; HEFFELS-REDMANN, U.; EDERLEIN, D. Vertical transmission of avian bornavirus in psittacines. **Emerging Infectious Disease**, v. 17, n. 12, p. 2390–2391, 2011. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2884495&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 2 abr. 2012.

LIMA, A. L. C.; MANHÃES, M. A. Hábitos alimentares de *Basileuterus culicivorus* (Aves: Parulidae) em uma área de Mata Atlântica secundária, sudeste do Brasil. **Biota Neotropical**, v. 9, n. 3, 137-143, 2009.

LIPKIN, W. I.; BRIESE, T.; HORNIG, M. Borna Disease Virus—Fact and Fantasy. **Virus Research**, v. 162, p. 162-172, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2011.09.036>

LOARY, S.; UEDA, K. *Serinus canaria*, 2017. Disponível em: <<http://www.inaturalist.org/taxa/121532-Serinus-canaria-domestica>> Acesso: 2 de fev. de 2017.

LUDLOW, M.; KORTEKAAS, J.; HERDEN, C.; HOFFMANN, B.; TAPPE, D.; TREBST, C.; GRIFFIN, D. E.; BRINDLE, H. E.; SOLOMON, T.; BROWN, A. S.; VAN RIEL, D.; WOLTERS, K. C.; PAJKRT, D.; WOHLSEIN, P.; MARTINA, B. E. E. Neurotropic virus infections as the cause of immediate and delayed neuropathology. **Acta Neuropathologica**, v. 131, n. 2, p. 159 – 184, 2016.

LUDWIG, H.; BECHT, H.; GROH, L. Borna disease (BD), a slow virus infection biological properties of the virus. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 158, n. 4, p. 275–289, 1973.

MANNL, A.; GERLACH, H.; LEIPOLD, R. Neuropathic gastric dilatation in psittaciformes. **Pet Bird Medicine**: case report, v. 31, n. 1, p. 214–221, 1986.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; TRONCARELLI, M. Z.; SEQUEIRA, J. L.; FILHO, R. L. A. F. Proventricular dilatation disease (PDD) and megaesophagus in a blue-fronted amazon parrot (*Amazona aestiva*) - Case report. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 1, p. 69–73, 2009.

MASSARO, M.; ORTIZ-CATEDRAL, L.; JULIAN, L.; GALBRAITH, J. A.; KURENBACH, B.; KEARVELL, J.; KEMP, J.; VAN HAL, J.; ELKINGTON, S.; TAYLOR, G.; GREENE, T.; VAN DE WETERING, J.; VAN DE WETERING, M.; PRYDE, M.; DILKS, P.; HEBER, S.; STEEVES, T. E.; WALTERS, M.; SHAW, S.; POTTER, J.; FARRANT, M.; BRUNTON, D. H.; HAUBER, M.; JACKSON, B.; BELL, P.; MOORHOUSE, R.; MCINNES, K.; VARSANI, A. Molecular characterisation of beak and feather disease virus (BFDV) in New Zealand and its implications for managing an infectious disease. **Archives of Virology**, v. 157, n. 9, p. 1651-63, 2012.

MAKINO, A.; HORIE, M.; HONDA, T.; TOMONAGA, K. Sequence determination of a new parrot bornavirus-5 strain in Japan: implications of clade-specific sequence diversity in the regions interacting with host factors **Microbioical Immunology**, v. 60, p. 437–441, 2016.

MARINI, M. A.; CAVALCANTI, R. B. Habitat and foraging substrate use of three *Basileuterus warblers* from central Brazil. **Ornitologia Neotropical**, v. 4, n. 2, p. 69-76, 1993.

MARINI, M. A.; GARCIA, F. I. Conservação de aves no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, 2005.

MARTINS, C. **Pula-pula**. Wikiaves, 2006. Disponível em:
<[http://www.wikiaves.com/pula-pula?s\[\]=basileuterus&s\[\]=culicivorus](http://www.wikiaves.com/pula-pula?s[]=basileuterus&s[]=culicivorus)> Acesso em: 20 jan. 2017.

MATSUMOTO, Y.; HAYASHI, Y.; OMORI, H.; et al. Bornavirus closely associates and segregates with host chromosomes to ensure persistent intranuclear infection. **Cell Host Microbe**, v. 11, p. 492–503, 2012.

McNULTY, M.S.; CORMOR, T.J.; McNEILLY, F. A survey of specific pathogen-free chicken flocks for antibodies to chicken anemia agent, avian nephritis virus and group A rotavirus. **Avian Pathology**, v. 18, n. 2, p. 215-220, 1989.

MIRHOSSEINI, N.; GRAY, P. L.; HOPPE, S.; TIZARD, I.; SHIVAPRASAD, H. L.; PAYNE, S. Proventricular dilatation disease in cockatiels (*nymphicus hollandicus*) after infection with a genotype 2 avian bornavirus. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 25, n. 3, p. 199–204, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1647/2010-030.1> URL>. Acesso em: 8 ago. 2015.

MIRHOSSEINI, N.; GRAY, P. L.; TIZARD, I.; PAYNE, S. Complete genome sequence of avian bornavirus genotype 1 from a Macaw with proventricular dilatation disease. **Journal of Virology**, v. 86, n. 12, p. 7023, 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3393589&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 8 nov. 2013.

MONACO, E.; HOPPE, S.; GUO, J.; TIZARD, I. The detection of avian bornavirus within psittacine eggs. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 26, n. 3, p. 144–8, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23156976>>. Acesso em: 2 nov. 2016.

MURPHY, F. A.; GIBBS, E. P. J.; HORZINEK, M. C.; STUDDERT, M. J. **Veterinary Virology**. Londres: Academic Press, 1999.

MUSSER, J.M.B.; HEATLEY, J.J.; KOINIS, A.V.; SUCHODOLSKI, P.F.; GUO, J.; ESCANDON, P.; TIZARD, I.R. Ribavirin Inhibits Parrot Bornavirus 4 Replication in Cell Culture. **Plos One**, v. 10, n. 7, p: e0134080, 2015. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0134080&type=printable>>. Acesso em 28 jun 2017.

NATURESERVE. 2016. **InfoNatura**: birds, mammals, and amphibians of Latin American, Arlington, Virginia. Disponível em: <<http://www.natureserve.org/infonatura>> Acesso em: 13 dez. 2016.

NOIVA, R.; GUY, J. S.; HAUCK, R.; SHIVAPRASAD, H. L. Runting stunting syndrome associated with transmissible viral proventriculitis in broiler chickens. **Avian Diseases**, 59, 384–387, 2015.

NOWOTNY, N.; KOLODZIEJEK, J.; JEHLE, C.O.; SUCHY, A.; STAEHELI, P.; SCHWEMMLE, M. Isolation and characterization of a new subtype of Borna disease virus. **Journal of Virology**, v. 74, p. 5655–5658, 2000.

NOSKE, K.; BILZER, T.; PLANZ, O.; STITZ, L. Virus-specific CD4+ T cells eliminate borna disease virus from the brain via induction of cytotoxic CD8+ T cells. **Journal of Virology**, v. 72, p. 4387–4395, 1998.

OGAWA, H.; KATOH, H.; SANADA, N.; SANADA, Y.; OHYA, K.; YAMAGUCHI, T.; FUKUSHI, H. A novel genotype of beak and feather disease virus in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). **Virus Genes**, v. 41, n. 2, p. 231–5, 2010.

OLBERT, M.A.R.; HERDEN, C.; MALBERG, S.; RUNGE, S.; STAEHELI, P. RUBBENSTROTH, D. Viral vector vaccines expressing nucleoprotein and phosphoprotein genes of avian bornaviruses ameliorate homologous challenge infections in cockatiels and common canaries. **Scientific Reports**, n. 6, 2016. Disponível em : <<https://www.nature.com/articles/srep36840>>. Acesso 28 jun 2017.

OUYANG, N.; STORTS, R.; TIAN, Y.; WIGLE, W.; VILLANUEVA, I.; MIRHOSSEINI, N.; PAYNE, S.; GRAY, P.; TIZARD, I. Histopathology and the detection of avian bornavirus in the nervous system of birds diagnosed with proventricular dilatation disease. **Avian Pathology**, v. 38, n. 5, p. 393–401, 2009.

PASS, D. A.; PERRY, R. A. The pathology of psittacine beak and feather disease. **Australian Veterinary Journal**, v. 61, n. 3, p. 69–74, 1984.

PAYNE, S.; COVALEDA, L.; JIANHUA, G.; SWAFFORD, S.; BAROCH, J.; FERRO, PAMELA J.; LUPIANI, B.; HEATLEY, J.; TIZARD, I. Detection and characterization of a distinct bornavirus lineage from healthy Canada geese (*Branta canadensis*). **Journal of Virology**, v. 85, n. 22, p. 12053–6, 2011a. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3209299&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 11 abr. 2012.

PAYNE, S.; SHIVAPRASAD, H. L.; MIRHOSSEINI, N.; GRAY, P.; HOPPES, S.; WEISSENBOCK, H.; TIZARD, I. Unusual and severe lesions of proventricular dilatation disease in cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) acting as healthy carriers of avian bornavirus (ABV) and subsequently infected with a virulent strain of ABV. **Avian Pathology**, v. 40, n. 1, p. 15–22, 2011b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21331944>>. Acesso em: 11 mai. 2015.

PHALEN, D. N. Avian polyomavirus: my thoughts. **American Federation Of Aviculture Watchbird**, v. 25, p. 28–39, 1998.

PHALEN, D. N. Implications of viruses in clinical disorders. In: HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. L. **Clinical Avian Medicine**. [s.l.: s.n.], Florida:Spix Publishing, 2005. p. 721-746.

PHALEN, D. N. Papillomavirus and polyomavirus in: THOMAS N. J., HUNTER, D. B., ATKINSON, C. T. **Infectious Disease Wild Birds**, Blackwell publishing, 2007, IOWA, USA, p. 208-213.

PHALEN, D. N.; RADABAUGH, C. S.; DAHLHAUSEN, R. D.; STYLES, D. K. Viremia, virus shedding, and antibody response during natural avian Polyomavirus infection in parrots. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 1, p. 32–6, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10909443>>. Acesso em 25 ago. 2013.

PHILADELPHO, N.A.; GUIMARÃES, M.B.; FERREIRA, A.J.P. A Case Report of Avian Polyomavirus Infection in a Blue Fronted Parrot (*Amazona aestiva*) Associated with Anemia. **Case Reports in Veterinary Medicine**, 2015.

PHILADELPHO, N.A.; RUBBENSTROTH, D.; GUIMARAES, M.B.; PIANTINO, F.A.J. Survey of bornaviruses in pet psittacines in Brazil reveals a novel parrot bornavirus. **Veterinary Microbiology**, v. 174, n. 3–4, p.584–90, 2014.

PIEPENBRING, A.K.; ENDERLEIN, D.; HERZOG, S.; KALETA, E.F.; HEFFELS-REDMANN, U.; RESSMEYER, S.; HERDEN, C.; LIERZ, M. Pathogenesis of avian bornavirus in experimentally infected cockatiels. **Emerging Infectious Disease**, v. 18, p. 234–241, 2012.

PIEPENBRING, A.K.; ENDERLEIN, D.; HERZOG, S.; AL-IBADI, B.; HEFFELS-REDMANN, U.; HECKMANN, J.; LANGE-HERBST, H.; HERDEN, C.; LIERZ, M. Parrot Bornavirus (PaBV)-2 isolate causes different disease patterns in cockatiels than PaBV-4, **Avian Pathology**, 45:2, 156-168, 2016.

POLLOCK, C.; CARPENTER, J.; ANTINOFF, N. Aves. In: CARPENTER, J. W. **Formulário de Animais Exóticos**. 3. ed: China: Elsevier, 2010. p. 177-187.

POTTI, J.; BLANCO, G.; LEMUS, J. Á.; CANAL, D. Infectious offspring: how birds acquire and transmit an avian Polyomavirus in the wild. **Plos One**, v. 2, n. 12, p. 5, 2007. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2093992&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 25 ago. 2013.

RAGHAV, R.; TAYLOR, M.; DELAY, J.; OJKIC, D.; PEARL, D.L.; KISTLER, A.L.; DERISI, J.L.; GANEM, D.; SMITH, D.A. Avian bornavirus is present in many tissues of psittacine birds with histopathologic evidence of proventricular dilatation disease. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, p. 495–508, 2010.

RAIDAL, S.R.; CROSS, G.M.; TOMASZEWSKI, E.; GRAHAM, D.L.; PHALEN, D.N. A serological survey for avian polyomavirus and Pacheco's disease virus in Australian cockatoos. **Avian Pathology**, v. 27, n. 3, p. 263-268, 1998.

RAHAUS, M.; WOLFF, M. H. A survey to detect subclinical polyomavirus infections of

captive psittacine birds in Germany. **Veterinary Microbiology**, v. 105, n. 1, p. 73–6, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15607086>>. Acesso em: 14 Jun. 2012.

RAMIS, A.; LATIMER, K. S.; GIBERT, X.; CAMPAGNOLI, R. A concurrent outbreak of psittacine beak and feather disease virus, and avian polyomavirus infection in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). **Avian Pathology: journal of the W.V.P.A.**, v. 27, n. 1, p. 43–50, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18483964>>. Acesso em: 3 fev. 2013.

RAMPIN, T.; MANAROLLA, G.; RECORDATI, C.; SIRONI, G. Circovirus inclusion bodies in intestinal muscle cells of a canary. **Avian Pathology**, v. 35, n. 4, 2006.

REED, K.D.; MEECE, J.K.; HENKEL, J.S.; SHUKLA, S.K. Birds, Migration and Emerging Zoonoses: West Nile Virus, Lyme Disease, Influenza A and Enteropathogens. **Clinical Medicine & Research**, v. 1, n. 1, p. 5 – 12, 2003.

REMSEN, J.V. True winter range of the Veery (*Catharus fuscescens*): lessons for determining winter ranges of species that winter in the tropics. **The Auk**, v. 118, n. 4; p. 838-848, 2001.

REUTER, A.; ACKERMANN, A.; KOTHLOW, S.; RINDER, M.; KASPERS, B.; STAEHEL, P. Avian bornaviruses escape recognition by the innate immune system. **Viruses** v. 2, n. 4, p. 927–938, 2010.

RICHMAN, L.K.; MONTALI, R.J.; GARBER, R.L.; KENNEDY, M.A.; LEHNHARDT, J.; HILDEBRANDT, T.; SCHMITT, D.; HARDY, D.; ALCENDOR, D.J.; HAYWARD, G.S. Novel Endotheliotropic Herpesviruses Fatal for Asian and African Elephants. **Science**, v. 283, n. 5405, p. 1171-1176, 1999.

RICHT, J.A.; SCHMEEL, A.; FRESE, K.; CARBONE, K.M.; NARAYAN, O.; ROTT, R. Borna disease virus-specific T cells protect against or cause immunopathological Borna disease. **Journal of Experimental Medicine**, n. 179, p. 1467–1473, 1994.

RINDER, M.; ACKERMANN, A.; KEMPF, H.; KASPERS, B.; KORBEL, R.; STAEHELI. Broad tissue and cell tropismo of avian bornavirus in parrots with proventricular dilatation disease. **Journal of Virology**, v. 83, p. 5401–5407, 2009.

RITCHIE, B. W. **Avian Viruses: function and control**. Florida: Wingers Publishing, 1995.

ROSEMBERGER, J.K.; CLOUD, S.S. Chicken Anemia Virus. **Poultry Science**, v. 77, n. 7, p. 1190-1192, 1998.

ROSSI, G.; TACCINI, E.; TARANTINO, C. Outbreak of Avian Polyomavirus Infection with High Mortality in Recently Captured Crimson's Seedcrackers (*Pyrenestes sanguineus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 1, p. 236-240, 2005.

ROTT, O.; KRÖGER, M.; MÜLLER, H.; HOBOM, G. The genome of budgerigar fledgling disease virus, an avian polyomavirus. **Virology**, v. 165, n. 1, p. 74–86, 1988. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2838972>>. Acesso em: 23 jul. 2012.

RUBBENSTROTH, D.; BROSINSKI, K.; RINDER, M.; OLBERT, M.; KASPERS, B.; KORBEL, R.; STAEHELI, O. No contact transmission of avian bornavirus in experimentally infected cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) and domestic canaries (*Serinus canaria* forma *domestica*). **Veterinary Microbiology**, v. 172, p. 146–156, 2014a.

RUBBENSTROTH, D.; RINDER, M.; STEIN, M.; HÖPER, D.; KASPERS, B.; BROSINSKI, K.; HORIE, M.; SCHMIDT, V.; LEGLER, M.; KORBEL, R.; STAEHELI, P. Avian bornaviruses are widely distributed in canary birds (*Serinus canaria* f. *domestica*). **Veterinary Microbiology**, v. 165, n. 3-4, p. 287–95, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23631925>>. Acesso em: 29 jan. 2014.

RUBBENSTROTH, D.; RINDER, M.; KASPERS, B.; STAEHELI, P. Efficient isolation of avian bornaviruses (ABV) from naturally infected psittacine birds and identification of a new ABV genotype from a salmon-crested cockatoo (*Cacatua moluccensis*). **Veterinary**

Microbiology, v. 161, n. 36–42, 2012.

RUBBENSTROTH, D.; SCHMIDT, V.; RINDER, M.; LEGLER, M.; CORMAN, V. M.; STAEHELI, P. Discovery of a new avian bornavirus genotype in estrildid finches (Estrildidae) in Germany. **Veterinary Microbiology**, v. 168, n. 2–4, p. 318–23, 2014b.

RUBBENSTROTH, D.; SCHMIDT, V.; RINDER, M.; LEGLER, M.; TWIETMEYER, S.; SCHWEMMER, P.; CORMAN, V.N. Phylogenetic Analysis Supports Horizontal Transmission as a Driving Force of the Spread of Avian Bornaviruses. **Plos One**, v. 11, n. 8, 2016.

SASSA, Y.; HORIE, M.; FUJINO, K.; NISHIURA, N.; OKAZAKI, S.; FURUYA, T.; NAGAI, M.; OMATSU, T.; KOJIMA, A.; MIZUGAMI, M.; UEDA, K.; IKI, H.; EBISAWA, K.; TOMONAGA, K.; MIZUTANI, T. Molecular epidemiology of avian bornavirus from pet birds in Japan. **Virus Genes**, v. 47, n. 1, p. 173–7, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23609929>>. Acesso em: 8 nov. 2013.

SCHAT, K.A.; VAN SANTEN, V.L., Chicken Infectious Anemia In: SAIF, Y.M.; FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.; MCDOUGALD, L.R.; NOLAN; SWAYNE, D.E. **Diseases of poultry**. 2 blackwell publishing, 2008 ,12th edition p. 11-229.

SCHOEMAKER, N. J.; DORRESTEIN, G. M.; LATIMER, K. S.; LUMEIJ, J. T.; KIK, M. J. L.; VAN DER HAGE, M. H.; CAMPAGNOLI, R. P. Severe leukopenia and liver necrosis in young african grey parrots (*Psittacus erithacus erithacus*) Infected with Psittacine Circovirus. **Avian Diseases**, v. 44, n. 2, p. 470–478, 2000.

SOLBRIG, M.V. Animals Models of CNS Viral Disease: Examples from Borna Disease Virus Models. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2010, p. 709–791, 2010.

STAEHELI, P.; RINDER, M.; KASPERS, B. Avian bornavirus associated with fatal disease in psittacine birds. **Journal of Virology**, v. 84, n. 13, p. 6269–75, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2903261&tool=pmcentrez&r>

endertype=abstract>. Acesso em: 2 abr. 2012.

STAEHELI, P.; SAUDER, C.; HAUSMANN, J.; EHRENSPERGER, F.; SCHWEMMLE, M. Epidemiology of Borna disease virus. **Journal of Genetical Virology**, v. 81, p. 2123–35, 2000.

SOIKE, D.; ALBRECHT, K.; HATTERMANN, K.; SCHMITT, C.; MANKERTZ, A. novel circovirus in mulard ducks with developmental feathering disorders. **The Veterinary Record**, v. 154, p. 792–793, 2004.

SOIKE, D.; KOHLER, B.; ALBRECHT, K. A circovirus-like infection of geese related to a runtting syndrome. **Avian Pathology**, v. 28, p. 199–202, 1999.

STITZ, L.; SOEDER, D.; DESCHL, U.; FRESE, K.; ROTT, R. Inhibition of immune-mediated encephalitis in persistently Borna disease virus-infected rats. **Journal of Immunology**, v. 143, n 12, p. 4250–4256, 1989.

SZWEDA, M.; ODZIEJSKA, A. K. O.; SZAREK, J.; BABIŃSKA, I. Avian polyomavirus infections in Amazon parrots. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 67, n. 3, p. 147–150, 2011.

TODD, D.; WESTON, J.; BALL, M.W.; BORGHMANS, B.J.; SMYTH, J.A.; GELMINI, L.; LAVAZZA, A. Nucleotide sequence-based identification of a novel circovirus of canaries. **Avian Pathology**, v. 30, n. 4, p. 321–325, 2001.

TODD, D. Avian circovirus diseases: lessons for the study of PMWS. **Veterinary Microbiology**, n. 98, n. 2, p. 169–174, 2004.

TODD, D.; SCOTT, A.N.J.; FRINGUELLI, E.; SHIVRAPRASAD, H.L.; GAVIER-WIDEN, D.; SMYTH, J.A. Molecular characterization of novel circoviruses from finch and gull. **Avian Pathology**, 36, n. 1, p. 75–81, 2007.

TORRES-CASTRO, M.; NOH-PECH, H.; GUTIÉRREZ-RUIZ, E.; GARCÍA-REJÓN, J.; MACHAIN-WILLIAMS, C.; ZAVALA- CASTRO, J.; PUERTO, F.I. First Serological Evidence of Borna Disease Virus in Healthy Horses from Yucatan, Mexico. **Advances in Microbiology**, v. 6, n. 7, p. 489-494, 2016.

VON BULOW, V.; SCHAT, K. A. Chicken Infectious Anemia. In: SAIF, Y.M.; FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.; MCDUGALD, L.R.; NOLAN; SWAYNE, D.E **Diseases of Poultry**. Ed. 8, Iowa, Iowa State University Press; 1997, cap. 30, p. 739–756.

WEISSENBOCK, H.; BAKONYI, T.; SEKULIN, K.; EHRENSPERGER, F.; DONELEY, R.J.T.; DURWAL, R.; HOOP, R.; ERDELYI, K.; GAL, J.; KOLODZIEJEK, J.; NOWOTNY, N. Avian bornaviruses in psittacine birds from Europe and Australia with proventricular dilatation disease. **Emerging Infectious Disease**, v. 15, n. 9, p. 1453–1459, 2009a,

WEISSENBOCK, H.; SEKULIN, K.; BAKONYI, T.; HOGLER, S.; NOWOTNY, N. Novel Avian Bornavirus in a Nonpsittacine Species (Canary; *Serinus canaria*) with Enteric Ganglioneuritis and Encephalitis. **Journal of Virology**, v. 83, n. 21, p. 11367–11371, 2009b.

WERTHER, K.; RASO, T. F.; DURIGON, E. L.; LATIMER, K. S.; CAMPAGNOLI, R. P. Psittacine beak and feather disease in Brazil: case report. **Brazilian Journal of Poultry science**, v. 1, n. 1, p. 85–88, 1999.

WILLIAMS, H.O.; GRANTE, V.T. **Illegal Trade in Wildlife**. Ed. 1, UK, Nova Science Publishers, 2009, p. 7.

WYLIE, S. L.; PASS, D. A. Experimental reproduction of psittacine beak and feather disease/French Molt. **Avian Pathology**: journal of the W.V.P.A, v. 16, n. 2, p. 269– 81, 1987. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18766613>>. Acesso em: 26 Fev. 2014.

WYSS F., DEB A., WATSON R, HAMMER S. Radiographic measurements for PDD diagnosis in Spix's macaws (*Cyanopsitta spixii*) at Al Wabra Wildlife Preservation

(AWWP). In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON DISEASES OF ZOO AND WILD ANIMALS, 2009, Qatar. **Proceedings...** Páginas 349-354.

WOODS, L.; LATIMER, K. S. Circovirus infection of pigeons and other avian species. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. **Disease of poultry**. 12. ed. Singapura: Blackwell, 2008. p. 236–249.

WOODS, L. W.; LATIMER, K. S.; BARR, B. C.; NIAGRO, F. D.; CAMPAGNOLI, R. P.; NORDHAUSEN, R. W.; CASTRO, A. E. Circovirus-like infection in a Pigeon. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, n. 4, p. 609–612, 1993. Disponível em: <<http://vdi.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/104063879300500417>>. Acesso em: 1 fev. 2014.

WOODS, L. W.; LATIMER, K. S.; NIAGRO, F. D.; RIDDELL, C.; CROWLEY, A. M.; ANDERSON, M. L.; DAFT, B. M.; MOORE, J. D.; CAMPAGNOLI, R. P.; NORDHAUSEN, R. W. A Retrospective study of circovirus infection in pigeons: nine cases (1986-1993). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, n. 2, p. 156–164, 1994. Disponível em: <<http://vdi.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/104063879400600205>>. Acesso em: 14 Jun. 2012.

WOODS, L. W.; LATIMER, K. S. Circovirus infection of nonpsittacine birds. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 14, n. 3, p. 154–163, 2000.

WOODROFFE, R.; GINSBERG, J.R.; MACDONALD, D.W. **The African wild dog: Status survey and conservation action plan**, IUCN gland, p. 58-74, 1997. Disponível em: <<https://www.iucn.org/content/african-wild-dog-status-survey-and-conservation-action-plan>> acesso em 25 jun 2017.

WOODROFFE, R. Managing disease threats to wild mammals. **Animal Conservation**, v. 2, n. 3, p. 185-193, 1999.

WOLFF, T.; HEINS, G.; PAULI, G.; BURGER, R.; KURTH, R. Failure to detect Borna

disease virus antigen and RNA in human blood. **Journal of Clinical Virology**, v. 36, n. 4, p. 309-11, 2006.

YUASSA, N.; TANIGUCHI, T.; YOSHIDA, I.: Isolation and some characteristics of an agent-inducing anemia in chicks. **Avian Diseases**, v. 23, n. 2, p. 366-385, 1979.

YU, L.; JIANG, Y.; LOW, S.; WANG, Z.; NAM, S.J.; LIU, W.; KWANGAC, J. Characterization of three infectious bronchitis virus isolates from China associated with proventriculus in vaccinated chickens. **Avian Diseases**, v. 45, n. 2, p. 416-424, 2001.

ZIMMERMANN, V.; RINDER, M.; KASPERS, B.; STAEHELI, P.; RUBBENSTROTH, D. Impact of antigenic diversity on laboratory diagnosis of Avian bornavirus infections in birds. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 26, n. 6, p. 769-777, 2014.

ZHUANG, QINGYE; CHEN, JIMING; MUSHTAQ, MUHAMMAD HASSAN; CHEN, JIE; LIU, SHUO; HOU, GUANGYU; LI, JINPING; HUANG, BAOXU; JIANG, WENMING. Prevalence and genetic characterization of avian polyomavirus and psittacine beak and feather disease virus isolated from budgerigars in Mainland China. **Archives of Virology**, v. 157, n. 1, p. 53-61, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22002652>>. Acesso em: 8 Nov. 2013.