TICIANA ZWARG

Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo, Brasil

TICIANA ZWARG

Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo, Brasil

Dissertação 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 Mestre em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de Concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientadora:

Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima

São Paulo
2010

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.2354
FMVZ

Zwarg, Ticiania

Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo, Brasil / Ticiania Zwarg. -- 2010.

134 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima.

1. Hematologia. 2. Hematoparasitos. 3. Colinesterases plasmáticas. 4. Rapinantes. 5. Toxicologia. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Patologia clínica e mensuração da atividade de colinesterase cerebral e colinesterases plasmáticas em falconiformes e strigiformes do Estado de São Paulo: correlação com dados biométricos, idade, sexo e condição corpórea", protocolado sob o nº1538/2008, utilizando número indefinido de aves, sob a responsabilidade da Profa Dra Eliana Reiko Matushima, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 17/06/09.

We certify that the Research "Clinical Pathology and determination of plasma and brain cholinesterase activities of Falconiformes and Strigiformes in São Paulo state: correlation with biometric measurements, age, sex and body condition scoring", protocol number 1538/2008, under the Profa Dra Eliana Reiko Matushima, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 06/17/09.

São Paulo, 17 de junho de 2009

Profa Dra Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15695-1	Data da Emissão: 30/10/2008 14:55	Data de Validade: 30/10/2009
Dados do titular		
Registro no Ibama: 2661184	Nome: Ticiane Martins Zwarg Simões Dias	CPF: 326.926.198-54
Título do Projeto: Patologia Clínica e mensuração da atividade de colinesterase cerebral e colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo: correlação com dados biométricos, idade, sexo e condição corpórea		
Nome da Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP		CNPJ: 63.025.530/0019-33

Observações, ressalvas e condicionantes

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exige o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br/cites . Em caso de material consignado, consulte www.ibama.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em Unidade de Conservação Federal, o pesquisador titular deverá contactar a administração dessa unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Outras ressalvas

1	Embora a pesquisadora afirme em seus objetivos que serão utilizados preferencialmente aves de vida livre, declara na metodologia que serão utilizados apenas animais mantidos em cativeiro. Assim, a licença restringe-se apenas à utilização de animais provenientes de cativeiro.
---	---

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	marina de oliveira cesar	Auxiliar de coleta e análise	338.255.268-01	256654104 ssp-SP	Brasileira
2	Eliana Reiko Matushima	Orientadora	074.600.228-96	6.578.222 SSP/SP-SP	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	SAO PAULO	SP	FMVZ/USP	Fora de UC

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Falconiformes, Strigiformes

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Sangue, Fragmento de tecido/órgão, Ectoparasita, Penas, Regurgitação/conteúdo estomacal, Animal morto ou partes (carcaça)/osso/pele
---	----------------------------	---

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

Código de autenticação: 65623444

Página 1/3

Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15695-1	Data da Emissão: 30/10/2008 14:55	Data de Validade: 30/10/2009
------------------------	--	-------------------------------------

Dados do titular

Registro no Ibama: 2661184	Nome: Ticiania Martins Zwarg Simões Dias	CPF: 326.926.198-54
Título do Projeto: Patologia Clínica e mensuração da atividade de colinesterase cerebral e colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo: correlação com dados biométricos, idade, sexo e condição corpórea		
Nome da Instituição : Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP		CNPJ: 63.025.530/0019-33

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP	FMVZ/USP

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

Código de autenticação: 65623444

Página 2/3

Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 15695-1	Data da Emissão: 30/10/2008 14:55	Data de Validade: 30/10/2009
Dados do titular		
Registro no Ibama: 2661184	Nome: Ticiane Martins Zwarg Simões Dias	CPF: 326.926.198-54
Título do Projeto: Patologia Clínica e mensuração da atividade de colinesterase cerebral e colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo: correlação com dados biométricos, idade, sexo e condição corpórea		
Nome da Instituição : Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP		CNPJ: 63.025.530/0019-33

Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa Ibama nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Nível	Táxon*	Qtde.	Amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico mais específico possível.

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

Código de autenticação: 65623444

Página 3/3

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: ZWARG, Ticiania

Título: Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo, Brasil

Dissertação 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 Mestre em Ciências

Data: 09 de Dezembro de 2010

Banca examinadora

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Julgamento:

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Julgamento:

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente ao meu avô, Ernesto Zwarg Júnior, que em todos os dias de sua vida lutou pela conservação da Mata Atlântica, no litoral sul de São Paulo. Devoto de São Francisco de Assis, assinava seus desenhos e manuscritos como o “Gnomo da Juréia” (*zwerg* significa gnomo, duende, em alemão, de onde vem o sobrenome), e foi um dos pioneiros na preocupação com o meio ambiente na região, impedindo a instalação de usinas nucleares na Juréia na década de 70 e sendo responsável em 1974 pela primeira Ação Pública em Meio Ambiente contra a construção de prédios em vias não dotadas de rede de esgoto na orla de Itanhaém, cidade do litoral sul de São Paulo, onde cresci e vivi até meus 18 anos. Ele talvez não saiba o grande orgulho que sinto de ser sua neta e a influência que exerceu sobre minha personalidade, sendo despretensiosamente um dos grandes motivos para meu engajamento na área de conservação e animais silvestres, na medicina veterinária. Também dedico este trabalho à minha mãe, Marati, que sempre me apoiou em todas as decisões, me deu forças em todos os momentos e é um exemplo de mulher por sua sabedoria, determinação e honestidade; por saber admirar de maneira única a natureza que nos é dada, e por se preocupar e lutar pela felicidade e realização de seus quatro filhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Eliana Reiko Matushima, que desde os tempos de Iniciação Científica me acolheu com o pulso firme de um mestre e braços acolhedores de uma mãe. Foi amiga, conselheira, orientadora em todas as horas, sendo a grande responsável pela minha caminhada até aqui. Devo a ela muito do que sei e do que vivi na área de animais silvestres; sempre digo que minha gratidão será eterna.

Agradeço ao Prof. Dr. Luiz Carlos Sá-Rocha, pela grande colaboração tanto na elaboração do Projeto, quanto em sua realização. Obrigada por ser a grande “ponte” entre mim e a Farmacologia.

Muito obrigada a todas as Instituições que foram parceiras na realização deste trabalho. Agradeço a Dra. Adriana Marques Joppert, médica-veterinária da Divisão de Medicina Veterinária e Manejo da Fauna Silvestre do Departamento de Parques e de Áreas Verdes (DEPAVE 3), a qual aceitou o meu projeto, junto com a diretora do Departamento, Dra. Vilma Clarice Geraldi, e desde então me auxiliou em todas as coletas, participou como minha orientadora na monografia do Curso de Pós-Graduação, revisou diversas vezes trabalhos meus, e foi assim também uma grande conselheira. Obrigada a todos do DEPAVE, meu conquistado e adorado local de trabalho, onde posso com muito orgulho exercer a profissão e a área pela qual optei.

Sou muito grata ao Dr. Rodrigo Teixeira, do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (PZMQB), grande incentivador de minhas coletas, sempre dando sugestões, revisando pôsteres, discutindo resultados, sempre com muita receptividade.

Agradeço aos veterinários do Parque Ecológico do Tietê (PET), Bruno Petri, Liliane Milanello e Melissa Alves, que aceitaram meu Projeto, auxiliaram em todas as coletas, atenderam minhas dúvidas e colaboraram muito com as amostras.

Muito obrigada ao Dr. Marcelo Gomes, médico-veterinário do Zoológico de São Bernardo do Campo, que participou ativamente da coleta das amostras sanguíneas dos animais mantidos nesta Instituição.

Agradeço também à médica-veterinária Samantha Bueno Martini, do Zoológico de Mogi-Mirim, e ao médico-veterinário Dr. Ivo Hellmeister Canal da Clínica Veterinária Polivet - Itapetininga, pela significativa colaboração com amostras sanguíneas.

Muito obrigada a todos que, mesmo não atuando como principal meio de contato com essas Instituições, me auxiliaram nas coletas do material, como estagiários, funcionários, outros médicos-veterinários e biólogos.

Devo muito ao farmacêutico Ricardo José dos Santos e ao técnico em química Erick Henrique de Almeida, ambos do Centro de Pesquisas em Meio ambiente (CEPEMA), em Cubatão-SP, que me ajudaram com a realização da mensuração de atividade de colinesterase. Foram eles que me ensinaram a utilizar o espectrofotômetro, me acompanharam nas primeiras tentativas frustradas, discutiram resultados e, até as últimas amostras, sempre foram muito receptivos. Obrigada também a todos do CEPEMA, aos coordenadores da Instituição, aos pesquisadores e aos funcionários que tornaram o ambiente muito agradável para o trabalho.

Serei eternamente grata àqueles que me auxiliaram na sexagem dos rapinantes, realizada no Instituto de Biociências da USP. Obrigada à Profa. Dra. Cristina Yumi Miyaki, que me recebeu em sua sala quando, tímida, solicitei sua ajuda. Um muito obrigada também ao Dr. Fábio Sarubbi Raposo do Amaral, que me ensinou a técnica e conversou comigo sobre as dificuldades que poderia enfrentar, sempre com muita simpatia. Muito obrigada, finalmente, ao hoje mestrando André Murilo Magro Freddi, que comigo realizou todas as sexagens dos animais, estando no laboratório dia após dia por algumas semanas para concluir esta etapa do meu projeto.

Obrigada ao pessoal do Laboratório de Farmacologia da FMVZ-USP, que me permitiu utilizar a centrífuga refrigerada de eppendorf, por muitas coletas.

Agradeço muito a minha amiga Fabíola Prioste, que me ajudou ativamente durante todas as coletas e no processamento das amostras. Além disso, foi minha incentivadora, companheira, amiga, conselheira, atuando de forma fundamental para a realização deste trabalho. Com ela, tudo teve mais cor e luz!

Agradeço à Thaís Caroline Sanches, amiga querida, que há alguns anos me ensinou grande parte do que sei sobre hematologia de répteis e aves, me possibilitando realizar este trabalho. Quem diria que estaríamos hoje trabalhando juntas?! Também devo muito à amiga e bióloga Silmara Rossi, que tanto me ajudou e ensinou nos tempos de Iniciação Científica com as tartarugas marinhas; trazia a tranquilidade necessária aos tempos corridos e me deu forças em todos os momentos que precisei.

Agradeço ao LAPCOM e a todos que fazem parte dele, principalmente ao Ralph Vanstreels, pela significativa ajuda e discussão no decorrer deste trabalho, com seu conhecimento sobre malária e outros parasitos sanguíneos. Devo a ele também toda a parte de delineamento estatístico deste projeto! Agradeço à Marina César e à Bruna Miranda, que além de colegas de profissão são grandes amigas e foram companheiras de apartamento nesse período, dividindo comigo as diversas experiências da pós-graduação e do mestrado e participando de diversas coletas, processamento de amostras, discussões de resultados, etc.

Obrigada ainda à Marina Galvão Bueno, pelas conversas e observação de lâminas de malária aviária. Sou muito grata também ao biólogo e amigo Patrick Inácio Pina, que sempre se mostrou muito interessado, participou de coletas e processamentos, sendo um grande companheiro. Obrigada às minhas grandes e eternas amigas Thieska, Gabi, Dri, Nat e Mica, que foram sempre meus momentos de “escape” quando tudo parecia pesado demais.

Sou extremamente grata à Dra. Cristina Fotin, que me deu considerável apoio no início deste projeto, me aceitou como monitora do curso de Pós-Graduação pela Anclivepa-SP e que, durante esses dois anos de convivência, foi grande amiga, conselheira, companheira e me transmitiu inúmeros ensinamentos.

Muito obrigada, mas muito obrigada mesmo, a todos os meus professores, do jardim de infância até o presente ano de vida acadêmica, que a mim privilegiaram com sua sabedoria, amor e dedicação e assim, me impulsionando a estar hoje aqui. Muito obrigada ainda a todos os professores que participaram deste processo e que sempre foram referência para mim na área de animais silvestres, como o Prof. Dr. Marcelo Guimarães, a Profa. Dra. Tânia de Feitas Raso e o Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias.

Agradeço ainda à Biblioteca da FMVZ pela normatização desta dissertação, principalmente à Sandra, que anotou cuidadosamente todas as correções. Meu grande agradecimento também ao biólogo Luiz Rodrigo Pisani Novaes, autor da linda foto do carcará que ilustra a capa.

Muito obrigada à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro a mim concedido fundamental para a realização deste e de meu projeto pessoal.

Agradecimentos especiais...

... ao meu pai, Miguel, que foi um excelente pai para nós enquanto pode, e que neste ano tão precocemente nos deixou. Saudades eternas.

... aos meus irmãos, Guilherme, Raul e Renan, que são a minha família e a base de tudo.

... ao Fabio, que é o meu porto-seguro e me passa apenas com o olhar toda a paz de que preciso. Obrigada por todo apoio, companheirismo, compreensão e amor.

... às aves de rapina, animais tão belos e impressionantes que participaram desse trabalho, mesmo que involuntariamente, contribuindo para esta pesquisa.

Prece

*REPARA: Olha estas praias, estes mares
A mata verde, o azul do monte
Com que beleza nestas tardes quentes
O sól mergulha e some no horizonte*

*AMA: não sente o perfume agreste
Que vem da mata, e vem do mar?
PERCEBES como é morna e acariciante
A brisa leve, que te vem beijar?*

*ESCUta: brame o mar, e docemente
Canta um sabiá sonoramente
VÊ a gaivota que num vôo passa.
PENSA: se Deus criou tanta beleza
Que sem pedir te deu na natureza
REZA: Ave Maria Cheia de Graça...*

Pedrinha (Cymodocéa Zwarg)

RESUMO

ZWARG, T. **Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo, Brasil.** [Hematology, survey for hemoparasites and measurement of plasmatic cholinesterases activity of Falconiformes and Strigiformes of São Paulo State, Brazil]. 2010. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Foram coletadas 137 amostras sanguíneas de 132 espécimes diferentes, pertencentes a sete espécies de Strigiformes (n=92) e onze espécies de Falconiformes (n=45), entre os meses de setembro de 2008 e julho de 2009. As amostras foram submetidas a hemograma completo, pesquisa de hemoparasitos através da avaliação do esfregaço sanguíneo, sexagem através da técnica de PCR e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas através do método de Ellman (1961). Apenas sete corujinhas-do-mato (*Megascops choliba*) apresentaram hemoparasitos (5,3 % do total de rapinantes). Houve diferença significativa conforme o estado de saúde da ave, sendo que a todos os animais clinicamente hígidos não estavam infectados, porém 20,4% dos animais com desordens clínicas apresentavam hemosporídeos. Quantitativamente, a parasitemia mediana dos animais infectados foi de 3,8 hemácias parasitadas por 10.000 hemácias, um índice de infecção relativamente baixo. A grande maioria dos parâmetros hematológicos não apresentou diferenças estatísticas em função da presença ou ausência de hemoparasitos, o que na maioria dos casos caracterizou uma infecção branda e pouco patogênica. A atividade de colinesterases plasmáticas apresentou uma distribuição normal, com uma média geométrica de 0,8333 micromoles/mL e desvio padrão geométrico de 1,7087 $\mu\text{mols/mL}$. A atividade de colinesterases plasmáticas apresentou diferenças estatísticas significativas entre Falconiformes ($0,5705 \pm 1,6497 \mu\text{mols/mL}$) e Strigiformes ($1,0070 \pm 1,5620 \mu\text{mols/mL}$). Não houve diferenças significativas entre machos ou fêmeas e adultos ou jovens dentre os Falconiformes ou Strigiformes. Falconiformes não hígidos apresentaram valores surpreendentemente mais baixos do que os clinicamente hígidos. Entre os Strigiformes, os espécimes de cativeiro apresentaram valores mais baixos de atividade de colinesterases plasmáticas do que os de vida livre. A atividade de colinesterases plasmáticas foi significativamente diferente entre os animais com hemoparasitos (mediana geométrica = $2,0132 \mu\text{mols/mL}$) e sem hemoparasitos (mediana geométrica = $0,8331 \mu\text{mols/mL}$). Este estudo contribui com informações relevantes sobre a ocorrência de hemosporídeos em aves de rapina do Estado de São Paulo, alertando as Instituições sobre a necessidade de monitoração destes protozoários sanguíneos. Além disso, contribui com dados inéditos sobre a atividade de colinesterases plasmáticas em rapinantes.

Palavras-chave: Hematologia, Hemoparasitos, Colinesterases plasmáticas, Rapinantes, Falconiformes, Strigiformes, Toxicologia.

ABSTRACT

ZWARG, T. **Hematology, survey for hemoparasites and measurement of plasmatic cholinesterases activity of Falconiformes and Strigiformes of São Paulo State, Brazil.**

[Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do Estado de São Paulo, Brasil]. 2010. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2010.

137 blood samples were collected from 132 different specimen, belonging to seven species of Strigiformes (n=92) and eleven species of Falconiformes (n=45), from September 2008 to July 2009. Samples were submitted to complete hemogram, survey for hemoparasites through evaluation of blood smears, sex identification by PCR and measurement of plasmatic cholinesterases by the method of Ellman (1961). Only seven black-capped-screch-owls (*Megascops choliba*) were positive for hemoparasites (5,3% of total raptors). There were significative difference according to avian health status; all the clinically higid animal were not infected, but 20,4% of animals with clinical disorders presented haemosporidians. Quantitatively, the average parasitemia was 3,8 parasited erythrocytes in 10.000 erythrocytes, a infection rate relatively low. The most of hematologic parameters did not present statistic differences in function of presence or absence of hemoparasites, what in most of the cases characterized a low and not much pathogenic infection. The plasmatic cholinesterase activity presented normal distribution, with geometric average of 0,8333 micromoles/mL and geometric standard deviation of 1,7087 $\mu\text{mol}/\text{mL}$. The plasmatic cholinesterase activity presented statistic differences between Falconiformes ($0,5705 \pm 1,6497 \mu\text{mol}/\text{mL}$) and Strigiformes ($1,0070 \pm 1,5620 \mu\text{mol}/\text{mL}$). There were not significative differences between males of females and adults or youngs between Falconiformes or Strigiformes. Non-higid Falconiformes presented surprisiling much low values than those clinically higid. Between Strigiformes, the captivity specimens' present much lower plasmatic cholinesterase activity values than free ranging animals. The plasmatic cholinesterase activity was signifactively different among animal with hemoparasites (geometric average = $2,0132 \mu\text{mol}/\text{mL}$) and without hemoparasites (geometric average = $0,8331 \mu\text{mol}/\text{mL}$). This research contributes with relevant information about the haemosporidian occurence in raptors of State of São Paulo, alerting the Institutions about the necessity of monitorizing haemoprotozoa. Besides that, contributes with unpublished data about the plasmatic cholinesterase activity in raptors.

Keywords: Hematology, Plasmatic cholinesterases, Raptors, Falconiformes, Strigiformes, Toxocology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exame físico dos rapinantes: mensuração de massa e temperatura corpórea. São Paulo - 2010	52
Figura 2. Coleta de sangue em veia jugular direita, em porção aptéria. São Paulo - 2010	53
Figura 3. Extensões sanguíneas não coradas. São Paulo - 2010.....	54
Figura 4. Ficha de coleta. São Paulo - 2010	60
Figura 5. Eletroforese em gel de agarose para sexagem de rapinantes. São Paulo - 2010	63
Figura 6. Sexagem de <i>Megascops choliba</i> (R69, R110, R111, R119 R 120, R125 e R112) através de PCR. Os sexos estão indicados, sendo que duas bandas representam as fêmeas e uma banda representa os machos. P= padrão. São Paulo - 2010	64
Figura 7. Sexagem de <i>Rupornis magnirostris</i> (R13, R16, R17, R42, R48, R96, R132 e R118) através de PCR. Os sexos estão indicados, sendo que duas bandas representam as fêmeas e uma banda representa os machos. São Paulo - 2010	64
Figura 8. Espectrofotômetro e aparelhagem adjacente situados no Laboratório de Química do CEPEMA, utilizados nas leituras das reações. São Paulo - 2010	68
Figura 9. Reação colorimétrica, de acordo com o método descrito por Ellman et al. (1961). O tubo de ensaio à esquerda representa o tubo branco, contendo apenas DTNB, acetiltiocolina e tampão. O tubo de ensaio à direita contém tudo o que contém o branco e a amostra, e a coloração amarelada é decorrente da formação de ânions amarelos resultantes da tiocolina (produto da degradação da acetiltiocolina pela colinesterase da amostra) com o DTNB. São Paulo - 2010	68
Figura 10. Parasitemia por hemosporídeos (Sporozoa:Haemosporidae) nas amostras R44, R49, R50 e R62 (<i>Megascops choliba</i>). Data de coleta x número de hemácias infectadas por 10.000 hemácias - São Paulo - 2010	90
Figura 11. Forma alongada, envolvendo o núcleo e deslocando-o discretamente para a lateral (seta azul). Forma elipsóide provocando maior deslocamento do núcleo (seta	

vermelha). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R20) - São Paulo - 2010.....	91
Figura 12. Macrogametócito (seta azul), e microgametócito (seta vermelha). Hemácias e quatro trombócitos. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R20) - São Paulo - 2010.....	91
Figura 13. Macrogametócito (seta vermelha), elipsóide e deslocando o núcleo para o pólo do eritrócito; e trofozoíto (seta azul). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R44, R49, R50 e R62) - São Paulo - 2010.....	92
Figura 14. Gametócitos em eritrócitos (setas azuis). Trombócito (seta vermelha). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R65) - São Paulo - 2010	92
Figura 15. Microgametócito em eritrócito (seta vermelha): ausência de deslocamento do núcleo, grânulos de hemozoína em quantidade moderada, coloração rosa-pálida. Linfócito (seta azul). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R65) - São Paulo - 2010.....	93
Figura 16. Macrogametócito (seta azul), e microgametócito (seta vermelha), em eritrócitos. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R66) - São Paulo - 2010.....	93
Figura 17. Macrogametócitos (setas azuis) e microgametócitos (setas vermelhas). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R67) - São Paulo - 2010	94
Figura 18. Macrogametócito. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R110) - São Paulo - 2010.....	94
Figura 19. Microgametócito. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. <i>Megascops choliba</i> (R111) - São Paulo - 2010.....	95
Figura 20. Histograma da atividade de colinesterases plasmáticas nos animais estudados - São Paulo - 2010	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sinais clínicos provocados por intoxicação por agentes anticolinesterásicos (ECOBHCON, 1997). São Paulo - 2010	31
Tabela 2. Datas de coleta, instituições de permanência, espécie e identificação dos rapinantes. São Paulo - 2010	73
Tabela 3. Sexo, idade, peso e clínica de Strigiformes. São Paulo - 2010.....	76
Tabela 4. Sexo, idade, peso e clínica de Falconiformes. * Dado não fornecido. São Paulo - 2010.....	78
Tabela 5. Perfil Hematológico de Strigiformes. São Paulo - 2010.....	80
Tabela 6. Contagem diferencial de leucócitos, em números absolutos (/mm ³), de Strigiformes. São Paulo - 2010	83
Tabela 7. Perfil hematológico de Falconiformes. São Paulo - 2010	85
Tabela 8. Contagem diferencial de leucócitos, em números absolutos (/mm ³), de Falconiformes. São Paulo - 2010	87
Tabela 9. Parasitemia por hemosporídeos (Sporozoa:Haemosporidae), expressa em número de hemácias infectadas por 10.000 hemácias. São Paulo - 2010.....	89
Tabela 10. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma de Rapinantes - São Paulo - 2010.....	95
Tabela 11. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a espécie - São Paulo - 2010.....	97
Tabela 12. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a Ordem - São Paulo - 2010.....	98
Tabela 13. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme o sexo - São Paulo - 2010 ...	98

Tabela 14. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μ mols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a idade - São Paulo - 2010 ..	98
Tabela 15. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μ mols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme o estado de saúde - São Paulo - 2010 ..	98
Tabela 16. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μ mols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a presença ou não de hemosporídeos no sangue - São Paulo - 2010.....	98
Tabela 17. Sumário dos espécimes estudados em função da espécie, gênero e massa corpórea - São Paulo - 2010 ..	99
Tabela 18. Sumário dos espécimes estudados em função da origem e condição de hígidez - São Paulo - 2010 ..	99
Tabela 19. Sumário dos resultados hematológicos - São Paulo - 2010.....	100

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

% - por cento	DNA - ácido desoxirribonucléico
ΔA - delta (diferença) de absorbância por minuto	DP – Desvio Padrão
μL – microlitro	DTNB - 5,5'-ditio-bis (2-nitrobenzoato)
AchE - acetilcolinesterase	E - coeficiente de extinção do ânion colorido
Alt. Abs. - alteração na absorbância	EDTA - Ácido Etileno Diamino Tetracético
Alt. Conc - alteração na concentração	Eos. - eosinófilos
Amos - volume da amostra em mL	EUA – Estados Unidos da América
ATch - acetiltiocolina	F – feminino
Bas.- basófilos	fL – fentolitros
Bu-ChE - butirilcolinesterase	FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
CEPEMA - Centro de Capacitação e Pesquisa em Meio Ambiente	g – grama
CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média	Hb - hemoglobina
ChE – colinesterase	HCM - hemoglobina corpuscular média
DDE -diclorodifenildicloroetano	He - contagem total de células vermelhas
DDT - diclorodifeniltricloroetano	Het.- heterófilos
DEPAVE – Departamento de Parques e Áreas Verdes	Ht - volume globular ou hematócrito
dL – decilitro	I – indeterminado
	IB - Instituto de Biociências

kg – quilogramas

L – litro

L - Comprimento da trajetória realizada pela luz (em cm)

LAPCOM - Laboratório de Patologia Comparada de Animais Silvestres

Leu - contagem de células brancas

Linf. - linfócitos

M – masculino

M – molar

min - minuto

mL– mililitro

mM – milimolar

mm³ - milímetro cúbico

Mon. - monócitos

n – número de indivíduos

nm – nanômetros

°C – graus Celsius

PCR - Reação em Cadeia pela Polimerase

PET – Parque Ecológico Tietê

pg – picogramas

PT - proteína plasmática total

PZMQB – Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros

RNA – ácido ribonucléico

RPM – rotações por minuto

SNC – Sistema Nervoso Central

Sol. R. - solução de reação (volume total, com os reagentes) em mL

T°C – temperatura

Tromb - trombócitos

USP – Univesidade de São Paulo

VCM - Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1 AVES DE RAPINA/ RAPINANTES	24
2.2 INTOXICAÇÕES POR PRAGUICIDAS.....	26
2.2.1 <i>Definição</i>	26
2.2.2 <i>Breve histórico.....</i>	27
2.2.3 <i>Mecanismos de ação de praguicidas anticolinesterásicos.....</i>	28
2.2.4 <i>Sinais clínicos.....</i>	30
2.2.5 <i>Impacto dos praguicidas sobre as populações de rapinantes.....</i>	32
2.2.6 <i>Diagnóstico de intoxicação por inseticidas anticolinesterásico na fauna silvestre.....</i>	36
2.3 HEMOPARASITOS.....	37
2.3.1 <i>Definição e importância</i>	37
2.3.2 <i>Hemoparasitos em aves</i>	38
2.3.3 <i>Classificação</i>	40
2.3.4 <i>Hemoparasitos em rapinantes</i>	41
2.3.5 <i>Ciclo de vida.....</i>	42
2.3.6 <i>Sinais clínicos e patologia.....</i>	44
2.3.7 <i>Patogenicidade em rapinantes</i>	46
2.3.8 <i>Diagnóstico.....</i>	46
2.3.9 <i>Controle e prevenção.....</i>	48
3 OBJETIVO.....	50
4 MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1 ÁREAS DE ESTUDO	51
4.2 ANIMAIS.....	51
4.3 COLETAS DE AMOSTRAS SANGUÍNEAS	52
4.3.1 <i>Avaliação do perfil hematológico.....</i>	54
4.3.2 <i>Análise bioquímica</i>	57
4.3.3 <i>Pesquisa de hemoparasitos</i>	58
4.3.4 <i>Sexagem.....</i>	61
4.3.5 <i>Mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas.....</i>	64

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	70
5 RESULTADOS	72
5.1 ANIMAIS.....	72
5.2 ANÁLISE LABORATORIAL	80
5.2.1 <i>Avaliação do perfil hematológico.....</i>	80
5.2.2 <i>Pesquisa de hemoparasitos</i>	88
5.2.3 <i>Mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas.....</i>	95
5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	99
6 DISCUSSÃO	104
6.1 HEMOPARASITOS.....	105
6.2 MENSURAÇÃO DA ATIVIDADE DE COLINESTERASES PLASMÁTICAS	114
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	118
REFERÊNCIAS.....	119

1 INTRODUÇÃO

As doenças de rapinantes de cativeiro são bem conhecidas e documentadas (COOPER, 1969; KEYMER, 1972; REDIG; ACKERMANN, 2000), porém são poucos os estudos sobre as causas de mortalidade e morbidade em rapinantes de vida livre. A maioria dos trabalhos se limita a uma única espécie ou a um reduzido número (CLAUSEN; GUNDMUNDSSON, 1981; WORK; HALE, 1996).

Entre as décadas de 60 e 70, os contaminantes ambientais (organoclorados) foram os principais responsáveis pela redução de populações de algumas espécies de rapinantes (PORTER, 1993). O desenvolvimento de resistência pelos vetores, a alta persistência ambiental e a tendência de bioacumulação fizeram com que, a partir da década de setenta, fossem tomadas medidas que restringissem a utilização de organoclorados e esses fossem gradualmente substituídos por outras classes de inseticidas (CHAMBERS; CARR, 1995; VIEIRA; TORRES; MALM, 2001). Os organoclorados foram substituídos por inseticidas organofosforados e carbamatos, considerados menos persistentes, menos bioacumulativos e por isso com menor risco de provocarem intoxicação secundária em rapinantes (ELLIOT et al., 1996; MINEAU et al., 1999). A exposição de organismos não-alvo a estes inseticidas é bastante comum, resultando em inúmeros casos de intoxicação aguda em amostras significantes da população silvestre, particularmente em aves (JOHNSTON, 2001; SCOLLON et al., 2001). Desta forma, muitos estudos ainda mostram a elevada incidência de intoxicação - principalmente secundária - em rapinantes pelo uso indevido de agentes anti-colinesterásicos.

Pesquisas quanto ao papel dos agentes tóxicos como causas de morbidade e mortalidade em rapinantes são necessárias (JOPPERT, 2007). Apesar de ainda não relatados no Brasil, casos de intoxicação por pesticidas devem ser tão comuns quanto as casuísticas apresentadas em países do hemisfério Norte (PEREIRA, 2006). A falta de relatos científicos nessa área pode decorrer da negligência dos médicos veterinários pela toxicologia (SÁ-ROCHA, 2006). É interessante notar como o estado de saúde de aves de vida livre é freqüentemente ignorado como um sensível indicador da degradação e poluição ambiental provocadas pelo homem (DUMONCEAUX; HARRISON, 1994). As aves de rapina de vida livre são excelentes monitores ambientais da degradação ambiental por poluentes e produtos tóxicos (COOPER; FORBES, 1986).

Com a intenção de estabelecer uma forma rápida e eficiente de monitoramento da contaminação de aves por praguicidas anticolinesterásicos, a dosagem da atividade de colinesterases plasmáticas pelo método de espectrofotometria de Ellman (ELLMAN et al., 1961) tem se mostrado bastante eficiente. Contudo, quando se trata de espécies silvestres, o diagnóstico em geral torna-se complicado pelo desconhecimento de valores fisiológicos de referência (VALDES, 2001). Acredita-se que, com este estudo, os dados hematológicos e a mensuração de colinesterases plasmáticas contribuirão para um maior entendimento clínico das intoxicações, fornecendo valores de referência e auxiliando a conservação e o manejo de populações cativas e de vida livre. No intuito de se fazer o melhor aproveitamento do material biológico, a pesquisa de hemoparasitos também é também se faz de grande importância, uma vez que muitos estudos realizados já demonstraram elevadas frequências de ocorrências em aves de rapina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aves de rapina/ Rapinantes

Os rapinantes são aves predadoras que se caracterizam por apresentar poderosos pés dotados de garras curvas e afiadas, apropriados para a captura de suas presas, e fortes bicos em forma de gancho. Essas características anatômicas, somadas a uma visão desenvolvida adaptada para a procura e visualização das presas, conferem a este grupo de aves uma grande capacidade de caça (BROWN, 1997). Assim, o termo aves de rapina é usualmente aplicado por ornitologistas para distinguir falcões, gaviões e corujas dos demais grupos de aves predatórias (WEIDENSAUL, 1996; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Apesar da expressão “aves de rapina” ter sido amplamente utilizada para caracterizar as aves carnívoras diurnas e noturnas que apresentam garras e bicos fortes, esse grupo aparentemente não forma um táxon monofilético, pois agrupa aves pertencentes a linhagens distintas. Com base nos dados existentes, as corujas (Strigiformes, famílias Tytonidae e Strigidae, 185 espécies) não são diretamente relacionadas aos gaviões, águias, abutres do Velho Mundo e falcões (Falconiformes, famílias Pandionidae, Accipitridae, Falconidae e Sagittariidae, 301 espécies) (BRASÍLIA, 2008). As semelhanças encontradas entre Falconiformes e Strigiformes se devem a uma evolução convergente (FEDUCCIA, 1996).

As aves de rapina habitam quase todos os continentes e as regiões do globo, com exceções da Antártica e algumas ilhas oceânicas. Os quatro países com maior diversidade de rapinantes são a Colômbia (76 espécies), o Equador (70 espécies), Peru e Brasil (69 espécies cada). Uma grande variedade de espécies de rapinantes habita a extensão da cadeia dos Andes. Os três países com a menor biodiversidade de rapinantes são o Paraguai (51 espécies), Uruguai (28 espécies) e Chile (21 espécies). No Chile, a baixa variedade de habitats e um território relativamente pequeno resultam na pequena diversidade. O Uruguai é ainda menor, mas possui espécies subtropicais devido às florestas que possui. O Paraguai possui a maior diversidade graças ao clima subtropical (CHEBEZ; AGUILAR, 2001).

A América do Sul é refúgio de aproximadamente 92 espécies de aves de rapina que ocupam uma grande variedade de nichos ecológicos. Muito ainda permanece desconhecido sobre essas aves, tornando sua conservação e manejo apropriado um desafio (CHEBEZ; AGUILAR, 2001). No Brasil, são descritas 44 espécies da família Accipitridae, 16 da família

Falconidae, uma da família Tytonidae e 19 da família Strigidae. A águia pescadora (*Pandion haliaetus*) ocorre na América do Sul apenas como ave de arribação, sendo observada isoladamente em quase todas as regiões do Brasil (SICK, 1997). No município de São Paulo (46°38'W, 23°33'S), foram relatadas 30 espécies de aves de rapina no último levantamento de fauna. Destas, treze espécies pertencem à família Accipitridae, oito à família Falconidae, uma à família Pandionidae, uma à família Tytonidae e sete pertencem à família Strigidae (SÃO PAULO, 2010).

As aves de rapina compreendem as ordens Falconiformes e Strigiformes.

A ordem Falconiformes inclui as famílias: Accipitridae (gaviões, águias, abutres, açores, milhafres, etc.); Falconidae (falcões, caracará, acauã, esmerilhão, etc.); Pandionidae (águia pescadora) e Sagittariidae (ave secretária). A única família da ordem Falconiformes que não possui representantes nas Américas é a Sagittariidae (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). De acordo com del Hoyo e Elliott (1994), existem cerca de 307 espécies desta ordem em todo o mundo, das quais 61 são encontradas no Brasil e 23,8% estão mundialmente ameaçadas de extinção (*World Conservation Union* - IUCN, 2009). No Brasil, os Falconiformes apresentam grande diversidade morfológica e de massa corpórea, variando desde o pequeno gaviãozinho (*Gampsonyx swainsonii*) de pouco mais de vinte centímetros até o gavião-real (*Harpia harpyja*) e abutres do velho mundo, que apresentam envergadura de asa de dois metros ou mais (BRASÍLIA, 2008).

A ordem Strigiformes inclui as famílias Tytonidae e a Strigidae (WHITE, 1986). Entre as espécies da ordem Strigiformes, a família Tytonidae possui apenas uma representante na América do Sul, a suindara (*Tyto alba*), que se caracteriza por um escudo facial em forma de coração, estrutura delgada e coloração ventral branca (SICK, 1997). Paralelamente, a família Strigidae compreende 49 espécies no continente, das quais 19 encontram-se em território brasileiro (SICK, 1997). A ordem Strigiformes é composta por espécies predominantemente noturnas. Diversas adaptações morfológicas dessas aves são similares às dos Falconiformes, mas com algumas adicionais para forrageamento na ausência de luz. Os olhos das corujas, assim como de outros animais noturnos, possuem uma camada de células atrás da retina chamada *tapetum*, que reflete a luz sobre os bastonetes, imprimindo uma segunda vez a mesma imagem e possibilitando melhor captação de luz. Da mesma forma que a visão, a audição também é bem desenvolvida nas corujas, permitindo melhor detecção de presas em locais com deficiência de luz (BRASÍLIA, 2008).

As principais ameaças às aves de rapina são (BRASÍLIA, 2008):

- Perda, fragmentação e degradação dos habitats;

- Caça;
- Tráfico,
- Superstição;
- Colisões com estruturas antrópicas (linhas com cerol, gerador eólico, vidraça, eletrocussão, intercepção de arames farpados, atropelamento);
- Contaminação ambiental por pesticidas e outros poluentes.

2.2 Intoxicações por praguicidas

2.2.1 Definição

Praguicidas são substâncias destinadas a destruir, repelir ou mitigar qualquer peste, representada por um animal, um vegetal ou um microorganismo (JOHNSTON, 2001). O termo praguicida é muitas vezes utilizado erroneamente para se referir a um inseticida, porém ele inclui também outras categorias, como fungicidas, rodenticidas, acaricidas, herbicidas, nematocidas e helmintocidas (CHAMBERS; CARR, 1995). São substâncias ou produtos químicos quaisquer, destinados à prevenção, destruição ou ao controle de pragas, usados sobretudo na agricultura e na pecuária (CROCE; ROCHA, 2007). Dentre eles, os inseticidas são de grande importância na toxicologia ambiental, já que neste grupo é muito comum a associação entre alta toxicidade e alto risco de exposição da população não alvo. Além disso, devido a diversas similaridades fisiológicas entre os sistemas nervosos de insetos e de vertebrados, que são o tecido alvo da maior parte dos inseticidas, estas substâncias podem intoxicar vertebrados pelos mesmos mecanismos que intoxicam insetos (CHAMBERS; CARR, 1995).

Os praguicidas inibidores da colinesterase pertencem a duas classes químicas: organofosforados e carbamatos.

Os organofosforados são ésteres amido ou tiol-derivados dos ácidos fosfórico, fosfônico, fosfonotóico. São hidrolisados de maneira rápida, tanto no meio ambiente como em meios biológicos, e altamente lipossolúveis. Os organofosforados compreendem uma grande variedade de compostos orgânicos cujo uso principal é o controle de pragas de plantas e de

animais de importância humana e para a saúde. Apesar de suas características fungicidas e herbicidas serem conhecidas, os organofosforados são mais utilizados como inseticidas, acaricidas, nematocidas e helminticidas. Sua letalidade é atribuída, primariamente, se não inteiramente, à sua capacidade de inibir a acetilcolinesterase (AChE), uma enzima vital para a função nervosa (CHAMBERS, 1992). Os nomes comerciais dos organofosforados mais utilizados como praguicidas são o Neguvon®, Cynthion®, Thiophos®, Citram®, entre outros (CROCE; ROCHA, 2007).

A família dos carbamatos é bem menor do que a dos compostos organofosforados. No mercado, existem cerca de 200 compostos de organofosforados, enquanto existem apenas 25-30 carbamatos disponíveis (ECOBICHON, 1997). O grupo dos carbamatos é formado por derivados do ácido N-metil-carbâmico e dos ácidos tocarbamatos e ditiocarbamatos. Os principais representantes comerciais dos carbamatos são: Temik®, Furadan®, Baygon® e Sevin®, entre outros (CROCE; ROCHA, 2007). Os carbamatos também atuam através da inibição das colinesterases, levando a uma hiperestimulação colinérgica pós-sináptica, atuando também nas junções neuromusculares e gânglios; no entanto essa inibição é lábil e com efeitos menos duradouros quando comparados por aqueles provocados pelos organofosforados (CORREA, 2003). Por causa de sua estrutura química, os carbamatos têm dificuldade de atravessar a barreira hematoencefálica, restringindo a ação preferencialmente ao sistema nervoso periférico. Os carbamatos, de maneira geral, possuem um intervalo muito pequeno entre a dose tóxica mínima e a dose letal, tornando o uso desses praguicidas muito perigosos (BARON, 1991).

2.2.2 Breve histórico

Os organoclorados foram os primeiros inseticidas largamente utilizados, iniciando-se com a utilização do DDT (diclorodifeniltricloroetano) em 1940. O DDE (diclorodifenildicloroetano), produto de degradação do DDD, é o produto mais resistente à degradação na natureza, sendo responsável pela diminuição da espessura da casca dos ovos e falhas reprodutivas em uma grande variedade de espécies de aves, incluindo a águia pescadora (*Pandion haliaetus*), falcão peregrino (*Falco peregrinus*) e águia americana (*Haliaeetus leucocephalus*) (PORTER, 1993). O desenvolvimento de resistência pelos insetos, a alta persistência ambiental, a tendência à bioacumulação e problemas relacionados à

carcinogenicidade fizeram com que, a partir da década de setenta, fossem tomadas medidas que restringissem a utilização de organoclorados para determinados fins em diversos países (CHAMBERS; CARR, 1995). O uso do DDT, que atua mantendo abertos os canais de sódio dos neurônios (CHAMBERS; CARR, 1995), foi severamente proibido a partir de 1972 e as populações de águias pescadoras e águias americanas começaram a aumentar a partir de então (GRIER, 1982). Estudos realizados na América do Norte demonstraram que os rapinantes ainda continham organoclorados em seu organismo mesmo após um longo período (GRIER, 1982; WIEMEYER; BUNCK; STAFFORD, 1987).

Após a proibição, os organoclorados foram substituídos pelos organofosforados e carbamatos. Os anticolinesterásicos foram utilizados durante a Segunda Guerra Mundial, como gases de guerra (*Tabum* e *Sarim*) (FILHO; ROMANO, 2001). Estes pesticidas neurotóxicos inativam a enzima acetilcolinesterase que é responsável pela degradação da acetilcolina, um neurotransmissor das terminações nervosas colinérgicas e junções mioneurais. A inibição desta enzima provoca uma elevação da acetilcolina, resultando em estímulo continuado e fadiga de terminações colinérgicas nos órgãos e nos músculos (MEERDINK, 1989). A morte ocorre, geralmente, por falência respiratória. Estes compostos não são tão persistentes no ambiente como os organoclorados, mas provocam intoxicações agudas em mamíferos e aves (PORTER, 1993). Atualmente, os organofosforados são a causa mais comum de intoxicação e são muitas vezes encontrados em áreas agrícolas. As aves são encontradas mortas, geralmente perto da fonte de intoxicação (FORBES, 2003).

2.2.3 Mecanismos de ação de praguicidas anticolinesterásicos

Os inseticidas anticolinesterásicos ou seus metabólitos têm seus efeitos tóxicos relacionados à inibição da acetilcolinesterase no sistema nervoso, levando ao acúmulo do neurotransmissor acetilcolina em gânglios simpáticos e parassimpáticos, em sinapses nervosas parassimpáticas, na junção neuromuscular, e no sistema nervoso central (JEYARATNAM; MARONI, 1994; MACHEMER; PICKEL, 1994; GLASER, 1999), o que resulta em hiperexcitabilidade no sistema nervoso (CHAMBERS; CARR, 1995). Os impulsos elétricos percorrem uma fibra nervosa quando ocorre suficiente despolarização do potencial de membrana até alcançarem a junção entre dois neurônios. No sistema nervoso colinérgico, o sinal é transmitido na junção ou sinapse através da liberação de acetilcolina do neurônio

anterior e seguinte ligação nos receptores no neurônio posterior. A acetilcolina é então degradada pela enzima colinesterase para que interrompa a transmissão de sinal e permita que o neurônio fique pronto para uma nova sinapse, se necessário. Se a produção ou atividade de acetilcolinesterase estiver reduzida, a acetilcolina persiste na junção sináptica, resultando em constante estímulo no neurônio posterior. Frequentemente, esse estímulo ininterrupto leva a paralisia de músculos respiratórios e morte por sufocamento (FAIRBROTHER, 1996).

Há diferentes tipos de colinesterases no organismo, que diferem quanto à localização em tecidos, afinidade pelo substrato e função fisiológica. As principais são a acetilcolinesterase e a butirilcolinesterase. A acetilcolinesterase (AChE), também conhecida como colinesterase específica, está presente no sistema nervoso e nos eritrócitos de mamíferos, sendo sintetizada na eritropoiese, com renovação de 90 a 120 dias nesses animais. Já a butirilcolinesterase (Bu-ChE), também conhecida como colinesterase plasmática ou pseudocolinesterase, está presente em células gliais, pâncreas, mucosa intestinal, plasma e fígado, local onde se dá sua síntese, com renovação de 30 a 60 dias (JEYARATNAM; MARONI, 1994; KLASEEN, 2001).

A acetilcolina é o mediador químico na transmissão dos impulsos nervosos dos neurônios pré-ganglionares para os pós-ganglionares tanto do sistema nervoso parassimpático quanto do simpático, fibras parassimpáticas pós-ganglionares para os órgãos, fibras pós-ganglionares simpáticas para glândulas salivares, neurônios motores para músculo esquelético, e algumas terminações nervosas no sistema nervoso central. Os sinais clínicos do envenenamento resultam da disfunção da transmissão de impulsos desses nervos (FAIRBROTHER, 1996). Os compostos organofosforados e carbamatos inibem a ação da colinesterase competindo com a acetilcolina pelos sítios de ligação na enzima (FAIRBROTHER et al., 1991).

As colinesterases possuem dois pólos de ligação em seu sítio ativo, um aniônico e outro esterásico, aos quais se liga a acetilcolina quando de sua hidrólise fisiológica. No caso de organofosforados e carbamatos, ocorrerá ligação do átomo de fósforo ou de carbono, respectivamente, ao sítio esterásico da colinesterase (GALLO; LAWRYK, 1991). A ligação do fósforo é bastante estável, podendo levar de horas a semanas para haver o desligamento, dependendo da molécula de organofosforado (GALLO; LAWRYK, 1991), por isso sendo chamados de inibidores irreversíveis das colinesterases. Já a ligação dos carbamatos é reversível em curto prazo de tempo, havendo reativação relativamente rápida e completa das enzimas inibidas por este tipo de inseticida anticolinesterásico (MACHEMER; PICKEL, 1994).

Os organofosforados e carbamatos não são lipofílicos e possuem meia-vida curta tanto no organismo quanto no ambiente (duram apenas dias a meses) e, geralmente, a degradação do composto químico é acelerada com maiores temperaturas e/ou pH mais elevados (GLASER, 1999; BLUS, 1996).

2.2.4 Sinais clínicos

A sintomatologia específica após a exposição à organofosforado varia com a espécie, duração da exposição, via de exposição (oral, tópica, inalatória) e o composto químico envolvido (CHAMBERS, 1992; FAIRBROTHER, 1996). Nem todas as aves expostas a anti-colinesterásicos se intoxicam e nem todas as aves intoxicadas vão a óbito (BLUS, 1996). Diferenças observadas são resultantes da complexidade do sistema nervoso, e não de ações significativamente diferentes dos anti-colinesterásicos, que não a inibição da AChE (CHAMBERS, 1992). As manifestações clínicas geralmente aparecem quando 50% ou mais do *pool* de AChE é inibido (FILHO; ROMANO, 2001). O envenenamento por agentes anti-colinesterásicos leva a uma persistência anormal e acúmulo do neurotransmissor acetilcolina nas sinapses colinérgicas e junções neuromusculares. O resultado, assim, é uma hiperexcitabilidade associada a essas junções, levando a múltiplos impulsos pós-sinápticos gerados por um único estímulo pré-sináptico (CHAMBERS, 1992; FAIRBROTHER, 1996; FILHO; ROMANO, 2001). Os sinais de intoxicação geralmente se iniciam dentro de minutos após a exposição a uma dose altamente tóxica ou dentro de poucas horas a dias se a exposição for mais moderada (FAIRBROTHER, 1996). No sistema nervoso somático, isto é, aquele que controla a musculatura esquelética voluntária, a hiperestimulação produz tremores musculares isolados, convulsões tônicas e/ou clônicas, e ocasionalmente paralisia tetânica. No sistema autônomo, tanto o ramo simpático quanto o parassimpático são colinérgicos nas suas sinapses gangliônicas. Nos locais de inervação, no entanto, eles por vezes exercem efeitos opostos dependendo do tecido que recebe o estímulo. A frequência cardíaca, por exemplo, é aumentada por estimulação simpática e diminuída por estimulação parassimpática. Dependendo dos efeitos relativos dos dois ramos, os organofosforados podem levar a taquicardia, bradicardia, fibrilação ou arritmia cardíaca (CHAMBERS, 1992).

Na tabela 1, são listados os sinais e os sintomas de uma intoxicação por agente anticolinesterásico (ECOBICHON, 1997):

Tabela 1. Sinais clínicos provocados por intoxicação por agentes anticolinesterásicos (ECOBICHON, 1997). São Paulo - 2010

<i>Tecido nervoso e receptores afetados</i>	<i>Sítios de ação</i>	<i>Manifestações</i>
<i>Fibras nervosas pós-ganglionares do Sistema Nervoso Autônomo Parassimpático (receptores muscarínicos)</i>	Glândulas exócrinas	Sialorréia, lacrimejamento e sudorese
	Olhos	Miose não reativa, ptose, “visão borrada”, “lágrimas de sangue”
	Trato gastrointestinal	Náusea, êmese, movimentos bruscos, diarreia, tenesmo, incontinência fecal
	Trato respiratório	Secreções brônquicas excessivas, edema, broncoespasmos, tosse, ruídos respiratórios, bradipnéia, dispnéia
	Sistema Cardiovascular	Bradicardia, diminuição da pressão cardíaca
	Vesícula urinária	Incontinência urinária e aumento da frequência de micção
<i>Fibras autonômicas parassimpáticas e simpáticas (receptores nicotínicos)</i>	Sistema cardiovascular	Taquicardia, palidez, aumento na pressão sanguínea
<i>Fibras nervosas somáticas (receptores nicotínicos)</i>	Musculatura esquelética	Fasciculações musculares (pálpebra, músculos faciais), câimbras, diminuição de reflexos tendíneos, fadiga muscular generalizada, paralisia, tônus muscular flácido ou rígido. Reação exagerada a estímulos sonoros, tremores, ataxia.
<i>Cérebro (receptores colinérgicos)</i>	Sistema Nervoso Central	Letargia, fadiga, confusão mental, cefaléia, fraqueza generalizada. Coma com ausência de reflexos, tremores, dispnéia, convulsões, depressão de centros respiratórios, cianose.

As primeiras manifestações geralmente são muscarínicas: miose, sudorese, sialorréia, lacrimejamento, náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia e bradicardia. A seguir, surgem as manifestações nicotínicas: fasciculações, câimbras, hipertensão arterial, taquicardia, arritmias cardíacas e insuficiência respiratória. Associadas a este quadro, podem ocorrer manifestações decorrentes de comprometimento do SNC: cefaléia, ansiedade, tremores, convulsões, depressão do centro respiratório e coma (FILHO; ROMANO, 2001).

Exposições crônicas a pesticidas podem provocar sinais subclínicos mais difíceis de atribuir a exposição à toxina (DUMONCEAUX; HARRISON, 1994; FAIRBROTHER, 1996). Essas exposições podem causar imunossupressão e maior susceptibilidade a doenças e desordens reprodutivas (DUMONCEAUX; HARRISON, 1994). A supressão da resposta imune por inseticidas pode aumentar a susceptibilidade do animal à doença e também provocar a ativação de infecções virais latentes (FRIEND; TRAINER, 1970). Além disso, as

exposições subletais podem contribuir para outras causas de mortalidade em aves, como o trauma. Em algumas circunstâncias, quando a ave foi a óbito devido a impacto com veículo, edificação ou predação, foi evidenciado uma diminuição nos valores de ChE cerebral, o que indica exposição a pesticida. A dose subletal de pesticida atuando sobre o sistema nervoso altera o comportamento do animal, tornando-o mais vulnerável a causas traumáticas de óbito (GLASER, 1999).

2.2.5 Impacto dos praguicidas sobre as populações de rapinantes

As mortes que ocorrem na vida selvagem devido à anti-colinesterásicos geralmente são acidentais, agudas e podem envolver poucas a centenas de aves (FAIRBROTHER, 1996).

As aves são os animais selvagens mais sensíveis aos efeitos tóxicos agudos dos organofosforados e carbamatos e, por isso, os mais atingidos (GLASER, 1999; SÁ-ROCHA, 2006). Baseado em informações limitadas, as aves de rapina parecem ser mais sensíveis que outras espécies de aves aos pesticidas organofosforados e carbamatos (MINEAU et al., 1999). Os rapinantes, no geral, são as aves mais afetadas pelo uso indiscriminado de pesticidas na maioria das áreas geográficas porque ocupam um lugar predominante na cadeia alimentar (SAMOUR, 2006).

As toxicoses são importante causa de morte de rapinantes de vida livre, sendo a maioria delas causada por pesticidas (PEAKALL, 2002). Dentre os pesticidas, os inseticidas são os mais frequentemente envolvidos nas intoxicações de rapinantes (PORTER, 1993). Devido ao fato de muitos organofosforados e carbamatos serem utilizados como inseticidas, o consumo de insetos contaminados é um importante fator de risco para muitas espécies insetívoras (MINEAU et al., 1999). Os inseticidas usados na agricultura são pulverizados ou depositados na forma de grânulos no ambiente. Os rapinantes são predadores localizados no topo de cadeia alimentar e correm o risco de entrar em contato com esses produtos, seja por pulverização direta ou por se alimentarem de presas contaminadas como insetos e pequenos vertebrados (PORTER, 1993). Os rapinantes são especialmente propensos ao envenenamento por inseticidas devido ao seu hábito alimentar carnívoro e a insetivoria (COOPER, 1969). Dos 237 acipitrídeos reconhecidos mundialmente, 56 (24%) são exclusivamente insetívoros. enquanto 100 espécies (42%) são ocasionalmente insetívoras (DEL HOYO; ELLIOTT, 1994). A frequência desses acidentes é maior em países com intensa atividade agrícola. A utilização

incorreta de praguicidas em atividade agrícola pode trazer riscos ao meio ambiente, e os inseticidas são os que mais se destacam nesse quesito, pois são amplamente utilizados e promovem alto risco de exposição a organismos não-alvo (CHAMBERS; CARR, 1995).

Além da insetivoria, as aves predadoras são mais vulneráveis porque a caça torna-se facilitada quando a presa está doente (intoxicada) e por isso menos ágil na fuga do que uma ave alerta e saudável (FRIEND; TRAINER, 1970; GLASER, 1999). Casos de controle de população de aves com iscas contendo 11% de fention são comuns na América do Norte. O uso dessas iscas é permitido para o controle de pombos e pardais; essas aves tornam-se presas fáceis para aves de rapina, quando contaminadas. Pelo menos 21 casos de envenenamentos por iscas avícolas foram relatados no período de 1984-1994 nos EUA (MINEAU et al., 1999).

Dessa forma, os fatores de risco mais significantes que resultam em intoxicação de rapinantes são: insetivoria e vermivoria, alimentação oportunista de presa debilitada, alimentação de carcaças (principalmente se o trato gastrointestinal for consumido), ocorrência das aves de rapina em áreas agrícolas, interpretação dessas aves como pragas por certos grupos e agregamento ou comportamento gregário em alguma parte de seu ciclo de vida (MINEAU et al., 1999). Deve-se sempre considerar o envenenamento letal ou subletal, mesmo quando outras causas de morte forem aparentes, como eletrocussão, colisões contra edifícios ou carros, etc. (MINEAU et al., 1999).

Até hoje, os pesticidas mais comumente envolvidos em mortes de rapinantes nos Estados Unidos foram o carbofuran (406 de 734 mortes); no Canadá o pesticida que mais causou problemas foi o forato (34 de 122) e carbofuran (28 casos). No Reino Unido, os pesticidas principais foram o mevinfós (56 de 136), seguido pelo fention (36), e o carbofuran em terceiro lugar, com 20 casos (PEAKALL, 2002).

Felton et al. (1981) verificaram a morte de aves em seguida ao uso de famfur para eliminação de ectoparasitos em gado. A atividade da acetilcolinesterase (AChE) no cérebro foi mensurada e apresentava-se diminuída, atestando o envolvimento de um agente anticolinesterásico. Através de cromatografia gasosa combinada com espectrometria de massa, identificou-se famfur no conteúdo gástrico das aves, confirmando a intoxicação.

Franson, Kolbe e Carpenter (1985) examinaram uma águia (*Haliaeetus leucocephalus*) com sinais nervosos aparentemente devido à intoxicação. Realizaram um tratamento de emergência, porém sem sucesso. Após a morte, verificaram penas e ossos no estômago da ave e 85% de inibição da colinesterase cerebral. O conteúdo estomacal foi analisado quanto à presença de componentes anti-colinesterásicos através de cromatografia gasosa identificando-se o famfur. Este foi um caso de envenenamento secundário.

Henny et al. (1987) relataram a morte de águias (*Haliaeetus leucocephalus*) e gaviões (*Buteo jamaicensis*) por intoxicação secundária após a pulverização de organofosforados (famfur e fention) em animais de criação. As águias se intoxicaram ao consumirem as carcaças de porcos e gados cujos pêlos continham resíduos de inseticidas e as corujas e gaviões se intoxicaram ao consumir outras aves. Alguns incidentes ocorreram meses após a aplicação do produto.

White, Hayes e Bush (1989) relataram cinco casos envolvendo aves de diferentes espécies, incluindo rapinantes, mortas intencionalmente com famfur.

Elliott et al. (1996) descreveram casos de intoxicação por carbofuran e fensulfotion em águias (*Haliaeetus leucocephalus*) e gaviões (*Buteo jamaicensis*) que consumiram patos de uma região agrícola onde estes produtos foram aplicados como inseticidas, em forma de grânulo. Apesar de determinarem o sexo e a idade dos animais, não fizeram análises comparativas.

Elliot et al. (1996) analisaram animais com sintomas de exposição a agente anticolinesterásico: falha na coordenação, contração pupilar e distensão de estômago. A exposição a altas concentrações de pesticidas pode provocar sintomas não-específicos de envenenamento como tremores, fraqueza, dispnéia ou morte súbita.

Allen et al. (1996) descreveram um caso de uso ilegal de uma formulação líquida de carbofuran. O produto foi colocado em carcaças de ovelhas (*Ovis aries*) com a intenção de matar coiotes (*Canis lantrans*), porém ocasionou também a morte de aves de rapina. Das quatro aves encontradas mortas, apenas uma não tinha material de ovelha no trato gastrointestinal, o que foi considerado então um caso de intoxicação secundária. Eles também atentaram para a longa duração do pesticida: as mortes ocorreram até dois meses após o composto ter sido colocado nas carcaças de ovelhas.

Deem, Terell e Forrester (1998) realizaram um estudo retrospectivo sobre a causa de morte de 390 rapinantes admitidos no Hospital Veterinário da Universidade da Flórida. Dos 390 animais, vinte espécies foram examinadas e o diagnóstico foi determinado para 340 deles, sendo que 279 (82%) apresentavam injúrias traumáticas. Dos 61 restantes, a morte de 21 deles estava relacionada à intoxicação. Os exames *ante-mortem* incluíram análises de metal pesado e acetilcolinesterase no sangue; os achados *post-mortem* incluíram análises de tecido ou de conteúdo gastrointestinal para metais pesados e/ou pesticidas. A suspeita de intoxicação por agente anticolinesterásico foi baseada nos sinais clínicos (isto é, ataxia, tremores musculares, garras fortemente cerradas); seis desses casos foram confirmados pela diminuição dos níveis de colinesterase no plasma.

Goldstein, Lacher e Woodbridge (1999) relataram a utilização de monocrotofos para o controle da população de gafanhotos nos pampas argentinos, provocando a morte massiva de gaviões (*Buteo swainsoni*). Dezenove incidentes foram investigados durante o verão dos anos 1995-1996 e um total de 5.095 gaviões foram encontrados mortos.

Um estudo compilou dados de mortalidade de rapinantes resultantes de pesticidas anti-colinesterásicos do Canadá, dos Estados Unidos e do Reino Unido no período de 1985 a 1995, compreendendo 520 incidentes. A maior proporção ocorreu no Reino Unido, pelo uso abuso de pesticidas. O carbofuran foi o composto mais presente devido a sua disponibilidade no mercado e às diversas formulações disponíveis. Só o carbofuran participou de 75% de todos os casos de abuso de anti-colinesterásicos nos EUA e no Canadá. No Reino Unido, o mevinfós e o fention participaram de mais de 80% dos casos de abuso no mesmo período (MINEAU et al., 1999).

Wobeser et al. (2004) revisaram casos entre 1993 e 2002 no Canadá que sugeriam envenenamento por agentes anti-colinesterásicos. Nesse período, 54 eventos suspeitos envolvendo 80 águias foram identificados. Um diagnóstico presuntivo foi estabelecido em 33 casos devido à redução da atividade de AChE no cérebro; 13 incidentes foram considerados suspeitos devido às evidências circunstanciais da morte das águias em associação com outras espécies e redução limitada da atividade de AChE. Em 85% dos casos, outra espécie silvestre foi encontrada morta, o que caracterizou um quadro de intoxicação secundária.

Kwon, Wee e Kim (2004) descreveram casos de intoxicação em aves selvagens por pesticidas na Coreia, de 1998 a 2002. De um total de 2.264 mortes no período, 759 (33,52%) foram atribuídas a pesticidas; seis organofosforados e um carbamato foram identificados como causas do envenenamento. Algumas aves ainda eram examinadas vivas, apresentando sinais neurológicos como convulsões, letargia e paralisia, indo a óbito pouco depois. No estômago das aves predadoras, foram encontradas partes de outros animais.

Lanzarot et al. (2001 e 2005) realizaram estudos hematológicos, eletroforese de proteína, bioquímica e dosagem de colinesterase em filhotes de falcões peregrinos (*Falco peregrinus*) e de cegonhas negras (*Ciconia nigra*) de vida livre, respectivamente, na Espanha. Os animais foram sexados através da técnica de PCR. Nas cegonhas negras, os resultados mostraram diferenças estatísticas em alguns parâmetros entre animais de sexo e idade distintos. Dentre eles, a atividade de butirilcolinesterase no sangue aumentou com a idade. Nos falcões peregrinos, os resultados não mostraram diferenças entre machos e fêmeas.

Outros trabalhos na literatura relatam casos de intoxicações por organofosforados em outras espécies (HANSON; HOWELL, 1981), o que demonstra o grande impacto desses compostos em diversos nichos ecológicos.

2.2.6 Diagnóstico de intoxicação por inseticidas anticolinesterásico na fauna silvestre

Em vida livre, a intoxicação por agentes anticolinesterásicos deve ser considerada como parte de uma lista de diagnósticos diferenciais sempre que o animal for encontrado morto em bom estado corporal, isto é, com depósito de tecido adiposo, presença de conteúdo alimentar no trato gastrointestinal, índice normal de infecção por parasitos, e ausência de lesões macroscópicas. Sinais mais evidentes, como diarreia, sialorréia, e fluidos brônquicos podem estar presentes, mas não são específicos de intoxicação por agentes anticolinesterásicos. O exame macroscópico e o histopatológico não revelam alterações específicas (FAIRBROTHER, 1996; GLASER, 1999).

A medida da atividade das colinesterases plasmáticas é uma alternativa simples e barata (FAIRBROTHER, 1996; VALDES, 2001). A inibição dessas colinesterases, presentes no plasma dos animais, mantém correlação positiva com a inibição da acetilcolinesterase. A butirilcolinesterase plasmática tem sido utilizada como monitoramento da exposição de animais silvestres a inibidores de colinesterase (MAYACK; MARTIN, 2003). No Brasil, estudos determinaram a inibição das colinesterases plasmáticas cerebrais de codornas machos (*Coturnix coturnix japonica*) e de outras aves silvestres por organofosforados e carbamatos através de ensaios *in vivo* e *in vitro* (CORREA, 2003; CORREA et al., 2004; CORREA et al., 2004b; CORREA; SÁ-ROCHA, 2004). Roy et al. (2005) determinaram a atividade de colinesterases plasmáticas em 729 animais na Europa, representando 20 espécies de rapinantes, e encontraram diferenças dos valores normais entre sexo e idade.

O método de Ellman et al. (1961) é o mais utilizado com essa finalidade, sendo adaptado por alguns autores. É um método colorimétrico que mensura a taxa de conversão de um substrato a um produto final colorido na presença da enzima colinesterase. A atividade de colinesterase é relatada como o número de micromoles de substrato convertido a um produto final por minuto por grama de tecido ou mililitro de soro (FAIRBROTHER, 1996). Se possível, amostras de indivíduos sabidamente normais devem ser submetidas

concomitantemente a amostras de animais doentes para a obtenção de valores de controle para comparação (FAIRBROTHER, 1996). A inibição de 20% da atividade de acetilcolinesterase (isto é, a atividade está até 80% do seu normal) é considerada diagnóstico de intoxicação subletal e aves mortas com mais de 50% da redução da atividade geralmente podem ser diagnosticadas como uma intoxicação por agentes anticolinesterásicos (HILL; FLEMING, 1982; GLASER, 1999). No entanto, a atividade de colinesterase plasmática deve ser avaliada cautelosamente quando há outras condições concomitantes que também podem causar sua diminuição, como hepatite, cirrose, uremia, câncer, alergias, gravidez e policitemias (FAIRBROTHER, 1996; FILHO; ROMANO, 2001).

A cromatografia gasosa e a cromatografia de camada delgada podem ser utilizadas para detectar esses agentes em amostras de sangue, urina e lavado gástrico, nos casos onde haja dificuldade diagnóstica. Geralmente, porém, essas técnicas não são necessárias, uma vez que o diagnóstico pode ser feito com base na sintomatologia, histórico, visualização do composto tóxico no trato gastrintestinal e dosagem de AChE (GLASER, 1999; FILHO; ROMANO, 2001).

2.3 Hemoparasitos

A literatura estrangeira possui muitos trabalhos sobre a presença de hemoparasitos no sangue de aves de rapina. As pesquisas hematológicas são o primeiro passo para avaliar se as prevalências de hospedeiro-parasita observadas na América do Norte e na Europa ocorrem em outros lugares também (LEPPERT et al., 2004).

2.3.1 Definição e importância

Os hemoparasitos são parasitos do sangue, e podem incluir os protozoários, filárias, bactérias, dentre outros. Por outro lado, os protozoários que parasitam o sangue são denominados hemoprotozoários, hematozoários ou mesmo hemosporídeos. Os hemosporídeos (Sporozoa: Haemosporida) são um grupo peculiar e filogeneticamente distinto dentro dos hemoprotozoários, heteroxenos obrigatórios, que parasitam anfíbios, répteis, aves e

mamíferos e utilizam insetos hematófagos (Insecta: Diptera) como vetores (VALKIUNAS, 2005). A palavra “hemosporídeo” vem do grego *haîma*, que significa ‘sangue’, e *spora*, que significa ‘serpente’. Os hemosporídeos são os únicos protozoários capazes de invadir as hemácias de vertebrados; muitas espécies, se não todas, possuem múltiplas fases no sistema retículo-endotelial. Os hemosporídeos são um dos grupos mais bem conhecidos e estudados de protozoários porque eles incluem os agentes da malária (gênero *Plasmodium*), os quais permanecem como uma das doenças humanas mais comuns em países tropicais, provocando casos importados em todo o mundo (VALKIUNAS, 2005). Os outros grupos de hemosporídeos, primariamente representados pelos gêneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* são estudados com menor intensidade. Nos anos recentes, o conhecimento de hemosporídeos tem se tornado cada vez mais polarizado devido à necessidade de informações sobre espécies de importância médica e sobre aquelas espécies utilizadas como modelos experimentais no estudo da malária. Os plasmódios aviários são parasitos de grande importância também por serem utilizados extensivamente como modelos ecológicos de sistemas hospedeiro/parasito (BENNETT, 1987; ATKINSON, 2008).

A importância dos hemosporídeos aviários é obviamente subestimada na prática. Antes de tudo, deve-se enfatizar que o grupo considerado inclui muitos agentes de doenças de aves domésticas. Esses parasitos provocam uma diminuição em sua produtividade e até se tornam uma causa de elevada mortalidade (VALKIUNAS, 2005). Os hemoparasitos podem causar extinções de espécies de aves (FELDMAN; FEED; CANN, 1995), além de afetar a seleção sexual, a coloração da plumagem e o estado reprodutivo (KIRKPATRICK; RYAN, 1991; DEVICHE; GREINER; MANTECA, 2001). Indivíduos apresentando elevada parasitemia podem ser mais susceptíveis ao ataque de predadores e menos hábeis para estabelecer territórios (ANDERSON; MAY, 1979).

2.3.2 Hemoparasitos em aves

Os hemoparasitos são comumente observados no sangue de aves recentemente capturadas ou aves de vida livre e ocasionalmente em aves alojadas em aviários fechados (HEYDEN, 1996). Há muitos anos, muitos estudos têm sido feitos em diversas regiões do mundo sobre a ocorrência e a prevalência de hemoparasitos em aves (MANWELL; HERMAN, 1935; OGAKI, 1949; FLEISHMAN et al., 1968; BENNETT; BORRERO, 1976;

STABLER; BRAUN; BECK, 1977; GREINER; BLACK; IVERSON, 1981; GUTIÉRREZ, 1989; CASTLE; CHRISTENSEN, 1990; STACEY et al., 1990; PHALEN et al., 1995; BLANCO et al., 1998; BOAL et al., 1998; DEVICHE; GREINER; MANTECA, 2001; RODRÍGUEZ; MATTA, 2001; SHURULINKOV; GOLEMANSKY, 2003; DEVICHE; MCGRAW; GREINER, 2005; VALKIUNAS et al., 2005; ARUCH et al., 2007; ISHTIAQ et al., 2007; HILLE; NASH; KRONE, 2007; KRONE, et al., 2008; MARTINSEN et al., 2008). Aproximadamente 4.000 espécies de aves já foram avaliadas quanto à presença de hemoparasitos (aproximadamente 50% das espécies conhecidas). Já foram descritas cerca de 200 espécies de *Haemoproteus*, 96 espécies e variedades de *Leucocytozoon*, 75 espécies e variedades de *Plasmodium* (BENNETT, 1987). Não foram observados hemosporídeos apenas nas seguintes ordens de aves: Casuariiformes, Apterygiformes, Phoenicopteriformes e Eurypygiformes (VALKIUNAS, 2005).

As pesquisas hematológicas são o primeiro passo para avaliar se as prevalências de hospedeiro-parasito observadas na América do Norte e na Europa ocorrem em outros lugares também (LEPPERT et al., 2004). Porém, no Brasil os estudos são escassos e contemplam poucas regiões e espécies. O diagnóstico de parasitos em extensões sanguíneas de aves por meio da microscopia ótica foi realizado no estado do Pará por Lainson, Shaw e Humphrey (1970); no Estado de São Paulo, por Bennett e Souza (1980), Woodworth-Lynas, Caines e Bennett (1989) e Adriano e Cordeiro (2001), os quais avaliaram a prevalência e a intensidade de *Haemoproteus columbae* em três espécies de pombos selvagens. Em Minas Gerais, Sebaio (2002) determinou a prevalência de hemoparasitos em espécies de Mata Atlântica, e Belo (2007) determinou a ocorrência de *Plasmodium* spp em psitacídeos mantidos em cativeiro nos estados de Minas Gerais e Ceará. Ainda em Minas Gerais, um estudo em galinhas determinou a variação de prevalência de formas eritrocíticas de *Plasmodium* (*Novyella*) *juxtannucleare* (SANTOS-PREZOTO; D'AGOSTO; DAEMON, 2004); outro estudo investigou a ocorrência de hemoparasitos no CETAS do IBAMA de Belo Horizonte - MG (HORTA et al., 2008). No Estado de São Paulo, um estudo que compreendeu 102 indivíduos de 15 espécies diferentes (6 espécimes eram aves de rapina) avaliou a ocorrência de hemoparasitos no Zoológico de Araçatuba (BONELLO; AZEVEDO; POLETO, 2005).

2.3.3 Classificação

Os hemosporídeos são protozoários do Filo Sporozoa ou Apicomplexa, Classe Coccidea, subclasse Coccidia, Ordem Haemosporida. Compreendem as seguintes Famílias e gêneros (VALKIUNAS, 2005):

- Família Haemoproteidae

- Gênero *Haemoproteus*: parasitos de aves e répteis; gametócitos em eritrócitos, com pigmentos granulares, forma de halter quando formados completamente. Esquizogonia em células endoteliais de vertebrados, ausência de esquizogonia eritrocítica.

- Subgênero *Parahaemoproteus* (126 espécies em aves)

- Subgênero *Haemoproteus* (6 espécies em aves)

- Família Plasmodiidae

- Gênero *Plasmodium*: parasitos de mamíferos, aves e lagartos. Esquizogonia exo-eritrocítica; reprodução sexual em insetos hematófagos.

- Subgênero *Haemamoeba* (10 espécies em aves)

- Subgênero *Giovannolaia* (15 espécies em aves)

- Subgênero *Novyella* (9 espécies em aves)

- Subgênero *Bennettinia* (1 espécie em aves)

- Subgênero *Huffia* (3 espécies em aves)

- Família Garniidae

- Gênero *Fallisia*: há poucos estudos sobre esse gênero, sendo a maioria das espécies com desenvolvimento apenas em répteis (apenas uma espécie encontrada em aves).

- Subgênero *Plasmodioides* (1 espécie em aves)

- Família Leucocytozoidae

- Gênero *Leucocytozoon*: parasitos de aves; esquizogonia em vísceras e células endoteliais de vertebrados; gametócitos em células brancas sanguíneas.

- Subgênero *Leucocytozoon* (34 espécies em aves)

- Subgênero *Akiba* (1 espécie em aves)

2.3.4 Hemoparasitos em rapinantes

A literatura estrangeira possui muitos trabalhos sobre a presença de hemoparasitos no sangue de aves de rapina. Geralmente, os hemoparasitos são facilmente encontrados nessas aves, e em algumas regiões são diagnosticados elevados índices de parasitemia.

De acordo com a revisão feita por Valkiunas (2005), as corujas são sabidamente acometidas por duas espécies de *Haemoproteus*, cinco espécies de *Plasmodium* e uma espécie de *Leucocytozoon*, totalizando oito espécies. Abaixo estão relacionadas essas espécies, estando entre parênteses as Famílias nas quais a espécie é mais frequentemente encontrada.

- *Haemoproteus noctuae* (Strigidae)
- *H. syrnii* (Strigidae)

- *Plasmodium subpraecox* (Strigidae)
- *P. fallax* (Strigidae)
- *P. gundersi* (Strigidae)
- *P. hexamerium* (Turdidae)
- *P. elongatum* (Passeridae)

- *Leucocytozoon danilewskyi* (Strigidae)

Já os Falconiformes são acometidos por seis espécies de *Haemoproteus*, cinco espécies de *Plasmodium* e uma espécie de *Leucocytozoon*, totalizando doze espécies:

- *Haemoproteus tinnunculi* (Falconidae)
- *H. elani* (Accipitridae)
- *H. buteonis* (Accipitridae)
- *H. janovyi* (Accipitridae)
- *H. nisi* (Accipitridae)
- *H. brachiatus* (Falconidae)

- *Plasmodium relictum* (Passeridae)
- *P. fallax* (Strigidae)
- *P. circumflexum* (Turdidae)

- *P. polare* (Hirundinidae)
- *P. elongatum* (Passeridae)

- *Leucocytozoon toddi* (Accipitridae)

Kirkpatrick e Lauer (1985) realizaram extensões sanguíneas de 259 rapinantes, representando quatro famílias de Falconiformes e verificaram que 59,1% das aves estavam infectadas por um ou mais de um hemoparasito, dentre os gêneros: *Leucocytozoon* (43,2%), *Haemoproteus* (21,6%), *Plasmodium* (1,2%) e *Trypanosoma* (1,2%). Hunter, Rohner e Currie (1997) descreveram casos de leucocitozoonose em corujas que foram a óbito no Canadá devido à grande infecção por esse parasita e infestação por seu transmissor, um artrópode. Cooper e Forbes (1986) descreveram *Leucocytozoon* em um rapinante (*Falco columbarius*). Leppert et al. (2004) verificaram que 13 de 113 aves de rapina (11,5%) de três espécies estudadas na região do Cazaquistão estavam infectadas por hemoparasitos. Olsen e Gaunt (1985) relataram que *Haemoproteus* spp e/ou *Leucocytozoon* spp foram encontrados em 30 (55%) dos 55 rapinantes e os dois protozoários foram encontrados em 4 (7%) dos animais estudados. Um outro estudo com duas espécies verificou que dos 78 rapinantes estudados, 61 (78,2%) estavam infectados com *Leucocytozoon toddi* e 40 (51,28%), com *Haemoproteus* spp (PHALEN et al., 1995). Stuht, Bowerman e Best (1999) avaliaram que 13 dos 21 filhotes de águias (*Haliaeetus leucocephalus*) estudados estavam infectados com *Leucocytozoon toddi*. Stabler e Holt (1965) relataram uma taxa de parasitemia de 48% (90 Falconiformes de 186 estudados) e de 69% (25 de 36 Strigiformes).

2.3.5 Ciclo de vida

Os ciclos de vida dos hemosporídeos serão aqui expostos como descritos por Valkiunas (2005). Os ciclos de vida dos hemosporídeos são obrigatoriamente heteroxenos. Durante o seu desenvolvimento, há variação quanto ao hospedeiro, vias de reprodução, e formas do ponto de vista morfofuncional. O esquema geral do desenvolvimento dos hemosporídeos aviários é bem conhecido. No caso dos hemosporídeos de aves, os parasitos se desenvolvem em dois grupos de hospedeiros: as aves e os vetores (dípteros sugadores de sangue, Insecta: Diptera). O processo sexual ocorre no vetor, e assim as aves são os

hospedeiros intermediários (nos quais há o desenvolvimento assexuado) e os vetores são os hospedeiros definitivos (finais). Enquanto se alimentam, os vetores inoculam os esporozoítos nas aves, iniciando os estágios agâmicos, os quais sofrem divisão assexuada nas células de determinados tecidos do hospedeiro. Estes estágios são denominados merontes exoeritrocíticos ou esquizontes. Como resultado de múltiplas divisões (merogonia ou esquizogonia) nos merontes, merozoítos uninucleares são formados, os quais são estágios assexuados de distribuição no organismo do hospedeiro. Geralmente há diversas gerações de desenvolvimento exoeritrocítico, durante o qual o parasito gradualmente se adapta ao hospedeiro. Como resultado da merogonia, há um aumento pronunciado da fonte inicial de infecção. Os merozoítos exoeritrocíticos induzem um novo ciclo de merogonia e (ou) desenvolvimento de estágios sexuais nas células sanguíneas (gametócitos ou gamontes). Os gametócitos possuem a capacidade sexuada (eles produzem gametas). As células que produzem macrogametas são conhecidas como macrogametócitos, o que as diferencia dos microgametócitos, os quais produzem microgametas. Os macrogametócitos são, em geral, facilmente distinguíveis dos microgametócitos devido a suas características sexuais dimórficas. Nos macrogametócitos, o citoplasma possui uma coloração mais intensa e o núcleo é mais compacto, com um claro contorno, e possui um nucléolo, o qual não é presente nos microgametócitos. No entanto, o nucléolo não é facilmente visto em todos os grupos de hemosporídeos sob a microscopia de luz. Além disso, as espécies das famílias Haemoproteidae e Plasmodiidae possuem grânulos pigmentares (hemozoína), os quais possuem a tendência de se aglomerarem nos pólos dos microgametócitos alongados, o que geralmente não é característica dos macrogametócitos (há exceções). Os gametócitos são as formas infectantes para os vetores.

A infecção em aves inclui os seguintes períodos principais: 1 – pré-patente, quando o parasito se desenvolve em outros locais que não o sangue; 2 - agudo, caracterizado pelo aparecimento dos parasitos no sangue e por um acentuado aumento da parasitemia; 3 - crise, quando a parasitemia alcança o seu pico; 4 - crônico, e 5 - latente, quando a parasitemia diminui nitidamente e mais tarde é eliminada pela resposta imune do hospedeiro (VALKIUNAS, 2005).

A ave uma vez infectada geralmente mantém os parasitos por muitos anos ou até mesmo pela vida toda, servindo então como fonte de infecção para vetores. Um relapso de parasitemia ocorre na maioria das espécies de hemosporídeos durante o período reprodutivo do hospedeiro vertebrado, o que facilita a infecção de vetores e a transferência da infecção para os filhotes (VALKIUNAS, 2005).

Logo após o repasto sanguíneo na ave infectada, os gametócitos iniciam a gametogênese no intestino do vetor, resultando no processo sexuado do tipo oogâmico. Um dos principais estímulos para o início da gametogênese é a alteração da concentração de oxigênio e dióxido de carbono, quando o sangue é transferido do hospedeiro vertebrado para o vetor. Um macrogametócito produz um macrogameta arredondado, enquanto um microgametócito sofre exflagelação, e como resultado oito microgametas móveis e lineares são formados. A fertilização ocorre extracelularmente. O zigoto é transformado em um oocineto móvel alongado, que penetra na camada epitelial do intestino. O oocineto move para a lâmina basal e se desenvolve em um oocisto, o qual é envolto por uma parede composta por material do hospedeiro. Durante o processo de desenvolvimento do oocisto (esporogonia), são formados corpos alongados numerosos e uninucleares (esporozoítos). Após a maturação do oocisto, os esporozoítos movem-se até a hemolinfa e então penetram nas glândulas salivares do vetor. Os esporozoítos são as formas infectantes para as aves. A transmissão ocorre quando os esporozoítos são injetados pelo vetor no hospedeiro vertebrado através da secreção da glândula salivar durante o repasto sanguíneo (VALKIUNAS, 2005).

2.3.6 Sinais clínicos e patologia

Os sinais clínicos são mais comuns em aves infectadas recentemente pelo *Plasmodium*, e são caracterizados por anorexia, depressão, êmese e dispnéia por algumas horas ou dias antes da morte (GREINER; RITCHIE, 1994). As aves podem apresentar penas arrepiadas e sofrer morte súbita (CAMPBELL, 2007; MITCHELL; JOHNS, 2008; ATKINSON, 2008). Atkinson et al. (2000) afirmam que a causa primária de morte de animais com infecções não complicadas por *Plasmodium* se deve a anemia provocada pela presença do parasito na célula eritrocitária. Fix et al. (1988) descreveram infecção de pinguins por *Plasmodium relictum*, nas quais os animais infectados apresentaram-se debilitados, dispnéicos, com mucosas pálidas e regurgitação. A contagem de leucócitos revelou uma leucocitose por linfocitose em diversos espécimes. Os achados necroscópicos incluíram esplenomegalia, hepatomegalia e edema pulmonar severo. Algumas aves apresentaram ainda efusão pericárdica.

Aparentemente, a maioria das espécies de *Haemoproteus* é bem adaptada a seus hospedeiros, já que poucos sinais ou lesões são relatados (SPRINGER, 1984). No entanto,

infecções agudas e severas podem ocorrer em aves jovens parasitadas recentemente, resultando em anemia e hepatomegalia (HEYDEN, 1996; SPRINGER, 1984). Olsen (1984) descreve a infecção e destruição de mais da metade dos eritrócitos, resultando em anemia e anorexia. O fígado hipertrofia, se tornando congesto, e o baço torna-se escuro com pigmentos e aumenta de volume. O desenvolvimento de esquizontes destrói células endoteliais nos pulmões e bloqueia capilares, gerando acúmulo de fluido que resulta em pneumonia.

A infecção por *Leucocytozoon* pode causar severa doença, resultando em elevada mortalidade em aves susceptíveis. Esse parasito é ocasionalmente patogênico em rapinantes jovens, perus e aves aquáticas, nas quais pode resultar em anemia hemolítica e hemoglobinúria (HEYDEN, 1996). Os sintomas mais comumente descritos são prostração, anorexia, sonolência, descarga ocular aquosa, dispnéia, anemia, debilidade, diarreia e severas convulsões antes da morte (BENNETT, 1987; VALKIUNAS, 2005). Caracteristicamente, a sintomatologia da leucocitozoonose tem aparecimento súbito, com as aves aparentemente normais em um dia e morrendo dentro de 24 a 48 horas. Ocorrem anemia e intensa diminuição do hematócrito e da hemoglobina; muitos parasitos são vistos na extensão sanguínea (BENNETT, 1987). A letalidade em jovens com menos de um mês de idade pode alcançar 50 a 100%, enquanto diminui significativamente com o decorrer da idade (VALKIUNAS, 2005). A morte resulta de anemia grave devido à destruição de hemácias, alterações hepáticas resultantes de necrose, anemia e bloqueio de capilares, aumento de volume do baço e dificuldade respiratória devido à congestão pulmonar provocada pelos linfócitos e gametócitos (OLSEN, 1984).

A anemia severa encontrada na maioria das infecções por hemosporídeos pode ser atribuída diretamente a um aumento na destruição de hemácias. O mecanismo de destruição dos eritrócitos ocorre através de hemólise intravascular ou fagocitose. Os eritrócitos parasitados são mais susceptíveis à hemólise, tornando-se frágeis pelo crescimento intracelular do parasito, principalmente durante os últimos estágios esquizogônicos (SEED; MANWELL, 1977). As alterações hematológicas incluem anemia regenerativa e hemolítica associada com uma diminuição na contagem de células vermelhas, sendo estas substituídas por eritrócitos imaturos; e diminuição na concentração de hemoglobina que se acentua em períodos mais críticos (ATKINSON, 2008). A hemólise tanto de eritrócitos infectados quanto não infectados e o catabolismo da hemoglobina leva a produção de excesso de biliverdina, a qual é excretada nas fezes. Há uma diarreia mucóide, brilhante e esverdeada, que persiste nas aves que sobrevivem à infecção. As aves que estão se recuperando apresentam excrementos

com coloração esverdeada de intensidade intermediária. Os excrementos perdem essa coloração esverdeada quando a parasitemia se torna indetectável (WILLIAMS, 2005).

2.3.7 Patogenicidade em rapinantes

Em termos gerais, acredita-se que a patogenicidade da maioria dos hemoparasitos em rapinantes seja relativamente baixa. No entanto, as infecções por hematozoários têm sido relacionadas diretamente com doenças clínicas graves e até a morte de animais (SAMOUR, 2006). Um aumento no número de parasitos no sangue pode estar associado ao estresse durante a época reprodutiva, ao período migratório ou à debilidade devido ao emaciamento, ou doenças concomitantes (KRONE; COOPER, 2002). Olsen e Gaunt (1985) avaliaram rapinantes infectados por hemoparasitos, e verificaram que o tempo até a reabilitação (isto é, o tempo entre a admissão e a soltura) foi significativamente maior para animais infectados do que para animais não livres de hemoparasitos. Também constataram que a taxa de mortalidade foi maior no grupo de animais parasitados (OLSEN; GAUNT, 1985).

2.3.8 Diagnóstico

Os hematozoários de aves podem ser identificados com determinadas preparações sanguíneas coradas (BENNETT, 1987; CAMPBELL, 1988; CAMPBELL, 1994). As extensões sanguíneas podem ser realizadas com sangue da veia braquial, jugular ou metatársica. A confecção de esfregaços por meio do corte de unha não é recomendada porque muitos contaminantes podem levar a um erro no diagnóstico (BENNETT, 1987). Os parasitos da malária são estudados em extensões sanguíneas coradas pelo método de coloração de Romanowski, Giemsa ou Wright. A coloração de Leishman também pode ser utilizada (SEED; MANWELL, 1977). O método busca quantificar os hemoparasitos através da observação de um determinado número de campos microscópicos e/ou período de tempo do exame fornecendo uma estimativa do número de parasitos (VAN RIPER III et al., 1986).

A análise de esfregaços sanguíneos para se estimar o número de eritrócitos infectados pode ser feita através da leitura do esfregaço em objetiva de imersão por um período de 30 minutos (LEPPERT et al., 2004). Ou então, pelo menos 200 campos devem ser lidos na objetiva de imersão se houver apenas uma lâmina, enquanto 100 campos devem ser

investigados se forem lidas lâminas seriadas (BARNES, 1986). Porém, o período preestabelecido de tempo para o exame dos esfregaços pode não ser uma estimativa confiável do número total de eritrócitos examinados (GODFREY; FEDYNICH; PENCE, 1987). Por se tratar de um método muito trabalhoso, requer técnicos treinados capazes de examinar um número elevado de esfregaços por dia (BARKER et al., 1992). O limite mínimo de detecção por inspeção visual é cerca de um parasito por 10^4 eritrócitos. Uma maior sensibilidade só pode ser alcançada aumentando o tempo de observação da extensão sanguínea (FALLON; RICKLEFS, 2008). A detecção direta de parasitos em esfregaços sanguíneos não é uma tarefa fácil durante as fases crônicas ou latentes, que correspondem à situação da maioria das aves infectadas (ATKINSON; VAN RIPER III, 1991).

Apesar das desvantagens apresentadas pelo método, ele ainda é considerado essencial para a detecção do parasito na ave, sendo utilizado extensivamente como método de diagnóstico padrão (ATKINSON, 2008). Gering e Atkinson (2004) desenvolveram um método automático, digital e rápido para quantificação de hemoparasitos em extensões sanguíneas, posteriormente aprimorado por DeGroote e Rodewald (2008).

Outra técnica utilizada para o diagnóstico de hemosporídeos é a sorologia. No entanto, possui a desvantagem de reconhecer os anticorpos contra o parasito, e não o parasito em si. Assim, o uso desta técnica para interpretar resultados positivos como infectados depende de assumir que essas aves vão carrear a doença por um grande período (FALLON et al., 2003). Dessa forma, se as aves eliminarem a infecção, a efetividade do diagnóstico sorológico pode ser comprometida. As infecções concorrentes, sejam elas latentes ou presentes no sangue periférico, não podem ser diferenciadas de infecções já eliminadas das quais os anticorpos permanecem na circulação. A microscopia e o PCR de DNA extraído do sangue detectam apenas infecções ativas (FALLON et al., 2003).

Com o advento da biologia molecular, foi desenvolvida a técnica de PCR para diagnóstico de hemoprotozoários. As técnicas moleculares permitem o processamento de um número elevado de amostras por dia, por um único técnico treinado, tornando tais métodos adequados para estudos epidemiológicos e para diagnósticos de rotina (BARKER et al., 1992). A região RNA do genoma mitocondrial de parasitos da malária aviária é altamente conservada, tornando-a um excelente local para o desenvolvimento de *primers* para o diagnóstico de infecções (FALLON et al., 2003). A técnica de PCR é pelo menos 10 vezes mais sensível em caso de infecções por parasitos do apicomplexo *Haemoproteus* e *Plasmodium*, em comparação à microscopia (FALLON et al., 2003). Hellgren, Waldenström e Bensch (2004) desenvolveram um protocolo de PRC classificado como fácil, rápido e preciso,

que detecta simultaneamente três hemoprotozoários aviários, sendo eles o *Leucocytozoon*, o *Plasmodium* e o *Haemoproteus*.

Em um estudo recentemente publicado, a detecção direta de parasitos em esfregaços sanguíneos falhou em detectar a maioria das infecções por *Plasmodium* detectada pela técnica de PCR (54 a 91%) (FALLON; RICKLEFS, 2008). Freed e Cann (2003) fizeram uma análise crítica do uso da técnica de PCR na estimativa de prevalência de malária em aves, mostrando o conflito provocado entre resultados de diversos estudos. Valkiunas et al. (2006) comparou a técnica de PCR e a microscopia de luz na detecção de hemoparasitos. Nesse trabalho, o autor relatou que os dois métodos subestimaram a ocorrência de parasitos sanguíneos de modo pouco significativo, e que os dois métodos foram igualmente sensíveis no diagnóstico de hemoparasitos. Assim, afirmou que a microscopia é uma ferramenta adequada para a pesquisa de hematozoários. Da mesma forma, um recente estudo realizado por Krone et al. (2008) avaliou a prevalência de hematozoários em aves de rapina na Europa através de análises morfológicas e genéticas e os dois métodos diagnósticos apresentaram sensibilidade semelhante na detecção dos hemoparasitos (19,8% através da microscopia e 21,8% através da PCR). Alternativamente, a prevalência de *Plasmodium* em sangue de psitacídeos de cativeiro mantidos em Goiás e Minas Gerais apresentou diferenças nas contagens em microscopia (24,4%) e através da técnica de PCR (36,9%), em um total de 127 animais. Desse estudo, concluiu-se que a associação da microscopia óptica e a técnica de PCR garantem maior precisão na detecção de infecções por *Plasmodium* (BELO, 2007).

2.3.9 Controle e Prevenção

Como tem sido demonstrada pela malária humana, a redução nas populações de vetores (mosquitos) pode reduzir a transmissão dos hemosporídeos, mas este método não é utilizado com muita frequência para o controle de infecções em aves mantidas em cativeiro ou de vida livre. As medidas que possuem o maior custo-benefício para aves de cativeiro ou domésticas incluem a proteção do recinto contra a entrada de mosquitos, ou a manutenção desses animais em áreas isoladas de hospedeiros silvestres reservatórios (ATKINSON, 2008).

A prevenção é baseada no isolamento das aves dos vetores, cujo período de atividade é associado às estações quentes do ano. Durante o período favorável à infecção, pequenos grupos de aves e espécies de grande valor econômico devem ser mantidas em lugares

fechados ou alojados em gaiolas ou aviários protegidos com telas ou redes de malha pequena para impedir que os dípteros hematófagos alcancem a ave (VALKIUNAS, 2005).

As aves que permanecem em aviários ou territórios endêmicos devem ser regularmente examinadas quanto à presença de hemoparasitos. Os indivíduos infectados devem ser isolados e tratados, se possível. Espécimes novos introduzidos também devem sofrer os mesmos procedimentos, assim como aves que retornem de exposições, cruzamentos, etc. (VALKIUNAS, 2005).

3 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, através de amostras sanguíneas, a atividade de colinesterases plasmáticas de rapinantes do Estado de São Paulo, buscando relações desses valores com idade, sexo e condição corpórea. Além disso, utilizando-se das mesmas amostras sanguíneas, obter os valores hematológicos e pesquisar hemoparasitos nesses animais, a fim de determinar a frequência de ocorrência de protozoários sanguíneos em Falconiformes e Strigiformes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Áreas de estudo

Os animais utilizados nas análises sanguíneas foram provenientes de diferentes regiões do Estado de São Paulo. Foram coletadas 137 amostras sanguíneas de 132 rapinantes diferentes. No total, seis Instituições participaram na amostragem, sendo elas:

- Departamento de Parques e Áreas Verdes – Manejo de Fauna (DEPAVE 31) – São Paulo, SP ($n = 48$);
- Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros – PZMQB – Sorocaba, SP ($n = 47$);
- Parque Ecológico Tietê – PET – São Paulo, SP ($n = 28$);
- Zoológico de São Bernardo do Campo – São Bernardo do Campo, SP ($n = 12$);
- POLIVET Clínica Veterinária – Itapetininga, SP ($n = 1$);
- Zoológico de Mogi Mirim – Mogi Mirim, SP ($n = 1$).

Os animais mantidos nessas instituições, na maioria, apresentavam lesões e estavam em processo de recuperação. Alguns animais mostravam-se hígidos no momento da coleta.

4.2 Animais

Os animais foram provenientes das Instituições supracitadas e pertenciam às ordens Strigiformes e Falconiformes.

Classificação

As aves foram classificadas quanto à idade como jovens ou adultas, por meio da sequência de mudas determinada por McCollough (1989). As aves foram classificadas quanto ao sexo (macho ou fêmea), conforme sexagem realizada através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR). Os nomes científicos das espécies foram determinados conforme estabelecido pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (Lista de Aves do Brasil - CBRO, 2009).

Exame físico

Todas as aves foram examinadas no momento da coleta de material. O exame físico foi realizado imediatamente após a contenção da ave com luvas de raspa de couro, e consistiu em: verificação do empenamento, peso, avaliação do estado nutricional e inspeção de cavidade oral e orifícios naturais para determinação do estado geral do animal (Figura 1). A condição corpórea de cada ave foi determinada conforme os índices utilizados por Joppert (2007).

Figura 1. Exame físico dos rapinantes: mensuração de massa e temperatura corpórea. São Paulo - 2010

4.3 Coletas de amostras sanguíneas

Foram coletadas 137 amostras sanguíneas de 132 rapinantes. Quatro amostras sanguíneas foram obtidas de um mesmo animal, e quatro também foram provenientes de outros dois animais, em momentos diferentes. Grande parte das aves foi encontrada na região metropolitana de São Paulo, sendo encaminhadas aos Centros de Triagem geralmente por municípios ou pela Polícia Ambiental, e no momento da coleta encontrava-se em processo de recuperação e /ou adaptação. Outras aves foram encaminhadas há alguns anos a Zoológicos, encontrando-se em condição de cativeiro há mais tempo. Poucos espécimes eram nascidos em cativeiro.

As amostras sanguíneas foram obtidas entre os meses de setembro de 2008 e julho de 2009. A punção venosa foi realizada após assepsia do local com algodão embebido em álcool, com agulhas e seringas estéreis. Um volume sanguíneo de aproximadamente um a dois mL foi coletado, não excedendo a quantidade máxima de 1% do peso corporal da ave

(CAMPBELL, 1994). O local preferencial de coleta foi a veia jugular direita, mais calibrosa (Figura 2).

Figura 2. Coleta de sangue em veia jugular direita, em porção aptéria. São Paulo - 2010

As extensões sanguíneas foram realizadas imediatamente após a coleta do sangue, em lâminas de vidro pré-tratadas, sem adição de anticoagulante (Figura 3).

O procedimento para limpeza das lâminas consistiu em colocá-las em uma solução de água com detergente neutro por pelo menos 24 horas ou mais, com o objetivo de retirar os vestígios de gordura. Após esse período, as lâminas foram lavadas em água corrente e colocadas em uma solução 1:1 de éter e álcool absoluto. Depois de pelo menos 24 horas nessa solução de éter e álcool, as lâminas foram retiradas cuidadosamente, uma por uma, e secas com gaze ou lenço de papel, estando prontas para a utilização.

Preferencialmente no mesmo dia, procedeu-se a coloração das extensões sanguíneas com coloração de May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld adaptada (1947). As lâminas foram dispostas em aparos, e foi colocado 1 mL do corante sobre cada lâmina, deixando agir por 3 minutos. Decorrido esse tempo, foram adicionados 2 mL de água destilada sobre cada lâmina (sem remover o corante), deixando agir por mais 13 minutos. Por fim, as lâminas foram lavadas cuidadosamente com água destilada e colocadas para secar em temperatura ambiente.

Figura 3. Extensões sanguíneas não coradas. São Paulo - 2010

4.3.1 Avaliação do perfil hematológico

Foi realizada no Laboratório de Patologia Comparada de Animais Silvestres (LAPCOM) do Departamento de Patologia da FMVZ/USP. A avaliação do perfil hematológico foi realizada pelas seguintes análises:

Determinação do Volume Globular ou Hematócrito (Ht)

O volume globular consiste no volume de hemácias da amostra sanguínea, ou seja, é o volume ocupado pelas hemácias em determinada quantidade de sangue.

Cerca de dois terços de um tubo capilar foram preenchidos com a amostra; o tubo capilar foi vedado com massa própria e colocado em uma centrífuga de microhematócrito (Fanem®, modelo 241). Após a centrifugação a 10.000 RPM por 5 minutos, foi realizada a leitura do resultado com auxílio de um cartão de hematócrito.

Contagem Total de Células Vermelhas (He)

Esse procedimento foi realizado na câmara de Neubauer. Para tal, foram colocados 4 mL de diluente isotônico Natt e Herrick (1952) em um tubo de ensaio, cuja fórmula encontra-se a seguir. Solução de Natt e Herrick (para 1 litro de água destilada):

NaCl	3,88g	KH ₂ PO ₄	0,25g
Na ₂ SO ₄	2.50g	Formalina (37%)	7,50mL
Na ₂ HPO ₄	2,91g	Metil Violeta 2B	0,10g

Logo após, foi adicionada a amostra de sangue com EDTA (Ácido Etileno Diamino Tetracético) na quantidade de 20 μ L, utilizando-se uma pipeta automática. A solução foi então homogeneizada no homogeneizador de sangue (Phoenix®, modelo AP22) e a câmara de Neubauer preenchida para que fosse realizada a contagem, em microscópio ótico, em aumento de 400 vezes.

O cálculo utilizado para obtenção do número de hemácias por milímetro cúbico foi realizado de acordo com a seguinte fórmula, levando-se em conta que a diluição utilizada foi 1:200:

$\text{n}^\circ \text{ de hemácias contadas} \times 200 \times 10 \times 5,$ <p>sendo o fator 200 referente à diluição, o fator 10 referente à altura da câmara e o fator 5, à divisão das 5 regiões contadas.</p>
--

Hemoglobina (Hb)

A concentração de hemoglobina sangüínea foi realizada pelo método da cianometahemoglobina, que constitui uma forma de avaliação do carregamento do oxigênio pelo organismo e também de seu aproveitamento pelos vários tecidos.

Para realizar a determinação da hemoglobina, foi utilizado um kit comercial da empresa LABQUEST® Reagentes.

Em um tubo de ensaio, foram adicionados 5 mL do reagente de cor preparado anteriormente e 20 μ L da amostra de sangue com EDTA com o auxílio de uma pipeta automática. A solução foi homogeneizada e centrifugada (Fanem®, Excelsa Baby II, modelo 206-R) a 3.000 RPM por 10 minutos, com o intuito de provocar a lise das hemácias, retirando seus núcleos da mistura de sangue com o reagente de cianometahemoglobina. No momento da análise no Labtest, a fração utilizada foi o sobrenadante, não deixando que os núcleos depositados interferissem no resultado, fornecendo assim, um valor mais apurado da concentração de hemoglobina.

As leituras foram realizadas no analisador LABQUEST, da empresa LABTEST® Diagnóstica Ltda., utilizando-se como branco a água destilada. O analisador foi ajustado a 100% de transmissão, em 540 nm. Além da absorbância, também foi fornecido pelo aparelho o valor de hemoglobina em g/dL.

Avaliação Morfológica dos Eritrócitos

Preferivelmente no mesmo dia da coleta, as extensões foram coradas (coloração de Rosenfeld) para a posterior observação da morfologia celular. As hemácias foram analisadas quanto à forma, tamanho, coloração, morfologia nuclear, presença de eritrócitos imaturos e presença de hemoparasitos.

VCM, HCM e CHCM (Volume Corpuscular Médio, Hemoglobina Corpuscular Média e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média)

Esses valores foram calculados a partir dos valores obtidos para hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb) e contagem total de células vermelhas (He):

Volume Corpuscular Médio (VCM): $Ht \times 10 / He$

Hemoglobina Corpuscular Média (HCM): $Hb \times 10 / He$

Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM): $Hb \times 100 / Ht$

Contagem de Células Brancas (Leu)

Foi realizada juntamente com a contagem de células vermelhas, através do método manual, na Câmara de Neubauer. A diluição utilizada e o diluidor para a contagem de hemácias foram os mesmos utilizados para a contagem de hemácias, ou seja, com solução de Natt e Herrick (1952), em diluição de 1:200. A área de contagem é diferente, portanto, o cálculo para estabelecimento do número de leucócitos por milímetro cúbico também foi alterado, estando representado a seguir:

$$n^{\circ} \text{ de leucócitos} \times 200 \times 10 \times \frac{1}{4},$$

sendo o fator 200 referente à diluição, o fator 10 referente à altura da câmara e o fator $\frac{1}{4}$, à divisão das quatro regiões contadas.

Contagem Diferencial de Leucócitos

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada através das extensões sanguíneas coradas. A coloração das extensões foi May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld (1947), com algumas modificações. A leitura das lâminas de extensão coradas foi realizada em microscópio ótico, em objetiva de imersão (aumento de 1000x). Por meio dessa contagem, foram avaliadas as seguintes células: heterófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos e basófilos.

Trombócitos (Tromb)

As aves não possuem fragmentos citoplasmáticos como as plaquetas dos mamíferos, mas sim, trombócitos nucleados com participação na coagulação sanguínea. Nas extensões sanguíneas, os trombócitos são geralmente encontrados agregados, mas também podem ser encontrados livres. A contagem dessas células foi realizada através das extensões sanguíneas coradas com o corante Rosenfeld, em microscópio ótico em objetiva de imersão (aumento de 1000x, a mesma utilizada para a contagem diferencial de leucócitos). A técnica utilizada para contagem deste tipo celular foi realizada a partir da contagem do número de trombócitos em cada mil hemácias contadas. O cálculo final está demonstrado a seguir:

$\frac{\text{n}^\circ \text{ de trombócitos} \times \text{He}}{1000}$

4.3.2 Análise bioquímica

Foi realizada no Laboratório de Patologia Comparada de Animais Silvestres (LAPCOM) do Departamento de Patologia da FMVZ/USP e consistiu apenas da avaliação da proteína plasmática.

Proteína plasmática total (PT)

A proteína plasmática total foi obtida através do plasma contido no tubo capilar. Este procedimento foi realizado através da quebra cuidadosa do capilar, após este ter sido submetido à centrifugação para obtenção do hematócrito, com a finalidade de separar o volume de hemácias e o de leucócitos do plasma, sendo este último colocado sobre a lâmina de um refratômetro, previamente calibrado com água destilada. A proteína plasmática foi lida na coluna da esquerda deste aparelho, sendo o valor obtido na unidade de g/dL.

4.3.3 Pesquisa de hemoparasitos

A pesquisa de hemosporídeos foi realizada por meio da leitura individual de cada esfregaço sanguíneo em microscópio ótico, em objetiva de imersão (1000x). Realizou-se análise minuciosa de todos os eritrócitos presentes em cada campo, até completar a leitura de 200 campos. Fez-se a contagem do número de hemácias em cinco campos diferentes no esfregaço, de modo aleatório, e obteve-se a média do número de hemácias por campo. Esse número variava de acordo com o tamanho das células e a confecção do esfregaço sanguíneo. Através da contagem de quantas hemácias estavam infectadas em cada campo, e da estimativa da quantidade de hemácias por campo, fez-se um cálculo para a determinação da parasitemia, sendo este valor expresso em número de hemácias infectadas por 10.000 hemácias.

Os dados de histórico e exame clínico foram arquivados em uma ficha individual para cada animal. O modelo da ficha utilizada encontra-se na figura 4, a seguir.

PROJETO RAPINANTES – Ticiana Zwarg – FMVZ/USP

Data:	Hora:	Local:
-------	-------	--------

Nome comum:	Nº DE REGISTRO:
Nome científico:	
Ordem/Família:	
Anilha/ microchip:	
Origem:	
	Peso:
	Sexo: ()F ()M ()I
	Idade: ()Jovem ()Adulto

MANEJO	observações
Instalações:	
No local desde:	
Alimentação:	

HISTÓRICO CLÍNICO OU DE ORIGEM

EXAME FÍSICO
Estado corporal: ()caquético () magro () regular () bom () obeso Estado mental: () inconsciente () prostrado e não reativo () prostrado, mas reativo () alerta Estado geral:
Ectoparasitos: () Não () Sim. Obs.:
T°C:
Outras observações:

HEMATOLOGIA

Data da coleta:
Vaso de acesso:

Volume coletado:
Tempo até o processamento:

Ht (%):	Prot. Total (g/dl):	Hb (g/dl):
He (/mm ³):	Leucócitos (/mm ³):	Tromb.:

Índices hematimétricos

VCM (fl):	HCM (pg):	CHCM (%):
-----------	-----------	-----------

Diferencial de leucócitos (%)

Heterófilos:	Linfócitos:	Monócitos:	Eosinófilos:	Basófilos:
Razão Het/Linf :				

Diferencial de leucócitos (n° absoluto)

Het.:	Linf.:	Mon.:	Eos.:	Bas.:
-------	--------	-------	-------	-------

Morfologia celular

<i>Hemácias</i>	Anisocitose:	Policromasia:
Hipocromasia:	Pecilocitose:	Eritroplastídeos:

Leucócitos:

Outras observações:

Hematozoários: () Não () Sim – Identificação:

H:	L:	P:	T:	Hep:	M:
----	----	----	----	------	----

H: Haemoproteus; L: Leucocytozoon; P: Plasmodium; T: Trypanosoma; Hep: Hepatozoon; M: Microfilaria

Outras observações:

Centrifugação do sangue

Data:	Hora:
Método:	
Quantidade de sangue obtido:	

Quantidade de plasma obtido:

Armazenamento:

ATIVIDADE DE COLINESTERASE

Tipo de armazenamento:

Tempo de armazenamento:

Método de análise: Ellman et al. (1961)

Data:

ATIVIDADE DE COLINESTERASE

(em micromoles de acetilcolina hidrolisada/ minuto/ grama de tecido ou mL de plasma a 25°C)

--

Figura 4. Ficha de coleta. São Paulo - 2010

4.3.4 Sexagem

A sexagem dos animais foi realizada através do método descrito por Ito et al. (2003), com algumas modificações. Águias imperiais também foram sexadas com um método semelhante (CRAIG et al., 2009).

O DNA genômico utilizado para a identificação do sexo foi a papa de hemácias resultante da centrifugação do sangue total, do qual se extraiu o plasma. A papa de hemácias foi mantida em tubos plásticos identificados e preenchidos com álcool 70° até o momento da análise. A sexagem dos rapinantes foi realizada no laboratório do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP).

Extração

Para extração do DNA, foi preparada uma solução de NaOH a 50 mM, a partir de NaOH 1,0M (Merck®). Para isto, diluíram-se 4g de NaOH em 100 mL de água destilada, obtendo-se uma solução a 100 mM, que posteriormente foi diluída para 50 mM. Para cada extração, foram pipetados 40 µL de NaOH em tubos plásticos de 1,5 mL com cerca de 3 µL de amostra de sangue, depositada na parede do tubo com auxílio de uma ponteira. Em seguida, os tubos previamente identificados foram incubados em banho seco a 90°C (Multi-block heater - Labline®), por 10 minutos. Os tubos foram então centrifugados por 30 segundos a 12.000 RPM (Sorvall MC12®) e foram adicionados 300 µL de água MilliQ e 50 µL de Tris-HCL 1M, pH 8,0. O material extraído foi armazenado a 4°C e utilizado no dia seguinte.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A preparação dos reagentes para PCR foi realizada em uma área exclusiva para manipulação de DNA genômico (pré-PCR). Foram identificados tubos de 0,2 mL. Preparou-se então a solução-mãe, onde foram colocados todos os reagentes, sendo a quantidade individual para cada amostra representada da seguinte forma:

- 5,1 MilliQ
- 1 µL DNTp
- 1 µL Buffer 10x

- 0,2 μ L Primer P2 a 10 μ M
- 0,8 μ L Primer NP a 10 μ M
- 0,8 μ L Primer MP a 10 μ M
- 0,1 μ L Taq polimerase

Todos os reagentes foram mantidos em isopor com gelo triturado até sua utilização para evitar que a reação iniciasse antes de ser aplicada no termociclador. Ao final, obteve-se um volume total de 9 μ L para cada amostra, que foram distribuídos com uma pipeta automática (Pipetman®) nos tubos plásticos de 0,2 mL. Preparou-se ainda um tubo identificado como “branco”, que serviu como controle negativo, no qual não foi adicionado DNA.

As amostras extraídas no dia anterior foram aquecidas por 10 minutos em banho-seco a 90°C e centrifugadas rapidamente (*spin*) a 12.000 RPM apenas para precipitação de debris celulares. Em seguida, com auxílio de uma pipeta automática, acrescentou-se 1 μ L das amostras extraídas nos tubos de 0,2 mL com a solução-mãe de PCR.

Em seguida, as reações foram realizadas no Termociclador GeneAmpPCR System 9600 (Perkin Elmer ®), conforme o seguinte programa:

- 94°C – 1 minuto e 30 segundos
- 48°C – 45 segundos
- 72°C – 45 segundos } 35 ciclos
- 94°C – 30 segundos
- 48°C – 1 minuto
- 72°C – 5 minutos

Eletroforese

Para preparo do gel, calculou-se o volume necessário e procedeu-se em um erlenmeyer a mistura de Tris – EDTA - Ácido Bórico (TBE) 0,5x com a quantidade adequada de agarose para atingir a concentração 3%. Em seguida, o erlenmeyer contendo a solução foi coberto com papel filme, e pequenos furos foram realizados com auxílio de uma agulha. O frasco foi colocado em aparelho de microondas, sendo aquecido por 10 segundos na potência máxima. A solução foi misturada novamente, e o aquecimento foi repetido até a solução ficar translúcida e homogênea, não deixando a mistura ferver. O frasco foi então resfriado com auxílio de gelo triturado e a solução foi depositada no molde, com o pente ideal para

formação dos poços onde as amostras seriam aplicadas, e aguardou-se a solidificação do gel. Após a solidificação, que levou cerca de 20 minutos, o pente foi retirado com cuidado.

Para o preparo da solução para eletroforese, foram utilizadas pequenas placas, nas quais, para cada amostra, adicionou-se:

- 3 μ L de *gel red*
- 10 μ L de solução (amostra)

Em um recipiente, foram misturados 2 μ L de *gel red* e 1 μ L de 1kb plus DNA *ladder*, material genético contendo bandas crescentes com acréscimo de 100 pares de bases por banda.

Com auxílio de uma pipeta automática, a mistura acima foi cuidadosamente depositada nos poços formados pelo pente no gel de agarose, mergulhado em TBE. As cubas de eletroforese (RunOne Electrophoreses Cell – Embitec®) foram então ligadas a 50V, por cerca de 30 a 40 minutos (Figura 5).

Figura 5. Eletroforese em gel de agarose para sexagem de rapinantes. São Paulo - 2010

A leitura do gel foi realizada em sala escura apropriada. O gel foi posicionado sobre o transiluminador, e a leitura foi efetuada com auxílio de óculos protetores, sendo em seguida realizada a documentação fotográfica da imagem. O resultado pode ser visualizado nas Figuras 6 e 7.

Figura 6. Sexagem de *Megascops choliba* (R69, R110, R111, R119 R 120, R125 e R112) através de PCR. Os sexos estão indicados, sendo que duas bandas representam as fêmeas e uma banda representa os machos. P= padrão. São Paulo - 2010

Figura 7. Sexagem de *Rupornis magnirostris* (R13, R16, R17, R42, R48, R96, R132 e R118) através de PCR. Os sexos estão indicados, sendo que duas bandas representam as fêmeas e uma banda representa os machos. São Paulo - 2010

4.3.5 Mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas

Sob a denominação de colinesterases estão compreendidos dois tipos de enzimas do grupo das hidrolases (esterases) que decompõem os ésteres da colina. Foram isolados dois tipos de colinesterases:

Acetilcolinesterase (colinesterase verdadeira, colinesterase dos glóbulos vermelhos ou acetilcolinacetilhidrolase): encontrada nos tecidos nervosos de todos os animais e nos glóbulos vermelhos da maior parte deles. Apresenta atividade máxima sobre a acetilcolina.

Pseudocolinesterases (colinesterase, butirilcolinesterase, acilcolinacilhidrolase): encontram-se nos tecidos nervosos, pâncreas, paredes do intestino e principalmente no soro de quase todos os animais.

O único substrato comum e natural conhecido para essas enzimas é a acetilcolina. Esta é sintetizada a partir da colina, acetil coenzima A e em presença da colinacetilase. Após a biosíntese, a acetilcolina interage com o receptor, produzindo sua ação, e é prontamente degradada pelas colinesterases (MÍDIO e SILVA, 1995). As colinesterases presentes no sangue (plasmática e eritrocitária) são ambas inibidas pelos compostos organofosforados, sendo que os carbamatos inibem apenas as enzimas eritrocitárias (MÍDIO e SILVA, 1995).

O material utilizado neste trabalho foi o plasma. As amostras sanguíneas foram coletadas com EDTA como anticoagulante e centrifugadas o mais rápido possível, a 11000 RPM, por 10 minutos, em centrífuga refrigerada a 4-8°C. A colinesterase é uma proteína sensível ao calor e é rapidamente degradada se exposta à ambientes quentes (FAIRBROTHER, 1996). Assim, é importante que a amostra seja apropriadamente manejada durante a coleta, armazenamento e transporte para análise (FAIRBROTHER et al., 1996). Após a centrifugação, os plasmas foram então transferidos para eppendorfs identificados e mantidos congelados em -80°C até a mensuração da atividade de colinesterase. As amostras armazenadas a -80°C podem ser mantidas sob essa condição até seis meses antes da análise (FAIRBROTHER et al., 1996).

A mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas foi realizada conforme preconizado por Ellman et al. (1961), os quais determinaram um método colorimétrico que mede a taxa de conversão de um substrato para um produto final colorido na presença da enzima colinesterase. O falso substrato é um sal de acetiltiocolina, que é degradado pela enzima presente na amostra em acetato e tiocolina. A tiocolina produzida reage então com o 5,5'-ditio-bis (2-nitrobenzoato), ou DTNB, um cromógeno adicionado ao ensaio. Esta reação produz o íon 5-tio-2-nitrobenzoato, de cor amarelada (Figura 9). A velocidade de mudança de cor, que equivale à velocidade de degradação do falso substrato pelas colinesterases teciduais, é determinada em espectrofotômetro (VALDES, 2001), no comprimento de onda variando entre 405 e 420 nm, sendo o comprimento ideal 412 nm e o mais realizado nos laboratórios de toxicologia ambiental o de 405 nm (CORREA, 2003).

A reação enzimática que representa o método utilizado é:

A determinação da atividade de colinesterases plasmáticas foi realizada no Laboratório de Química do Centro de Capacitação e Pesquisa em Meio Ambiente – CEPMA-USP,

localizado na cidade de Cubatão-SP. As amostras foram retiradas de uma temperatura a -80°C e transportadas em isopores com gelo, em uma temperatura de 4°C . Toda a reação foi realizada em uma sala com temperatura controlada mantida entre 20 e 25°C por meio de ar condicionado, conforme instruído por Sá-Rocha (1990).

Reagentes para as dosagens de atividade enzimática

- Acetilcolina, iodeto (Fluka®)
- Bicarbonato de sódio (Synth®)
- DTNB (Sigma-Aldrich®)
- Sulfato de sódio dodecahidratado (Synth®)
- Sulfato de sódio monohidratado (Carlo Erba®)

Para o preparo das soluções tampões utilizadas nas dosagens de atividade colinesterásica plasmática foi necessário o preparo prévio de duas soluções (solução A e solução B). Em diferentes quantidades, essas soluções foram utilizadas para a obtenção de duas soluções-tampão com diferentes pHs, cada qual utilizada em uma determinada fase do método. Assim, as soluções consistiram:

Solução A (0,23M): 38,14 g fosfato sódico dodecahidratado ($\text{HNa}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) diluídos em 500 mL de água destilada aquecida.

Solução B (0,22M): 7,9 g de fosfato sódico monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) diluídos em 250 mL de água destilada aquecida.

Em seguida, com estas soluções procedeu-se o preparo dos tampões utilizados na reação:

Tampão 7,4 (0,1M): 202,5 mL da solução A + 47,5 mL da solução B + 225 mL de água destilada. A solução foi avolumada para 500 mL com água destilada com auxílio de um balão volumétrico. O pH foi então ajustado para 7,4 utilizando-se hidróxido de sódio (NaOH – 0,05M) ou ácido clorídrico (HCl – 0,25M), com auxílio do pHmetro digital (Tecnal® – modelo Tec-3MP).

Tampão 7,0 (0,1M): 15,25 mL da solução A + 9,75 mL da solução B + 18,75 mL de água destilada. O pH foi ajustado para 7,0 utilizando-se hidróxido de sódio (NaOH) ou ácido clorídrico (HCl), com auxílio do pHmetro digital (Tecnal® – modelo Tec-3MP), e então a solução foi avolumada para 50 mL com água destilada.

O cromógeno e o falso substrato foram preparados a seguir:

DTNB 0,01M – cromógeno: 59,4 mg de DTNB + 22,5 mg de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). Em um balão volumétrico devidamente identificado, avolumou-se para 15 mL com solução-tampão pH 7,0, fazendo-se a diluição completa com auxílio de pastilha magnética e agitador magnético com aquecimento (Biomixer® - modelo 78 hw-1), uma vez que o reagente em pó não é facilmente solubilizado. Em seguida, o reagente foi armazenado em frasco identificado, em temperatura de 4°C.

Brometo de Acetilcolina (0,075M) – falso substrato: 182 mg de brometo de acetilcolina. Em um balão volumétrico devidamente identificado, avolumou-se para 10 mL com água destilada, fazendo-se a diluição completa com auxílio de pastilha magnética e agitador magnético com aquecimento (Biomixer® - modelo 78 hw-1) apenas por alguns minutos, uma vez que o reagente é muito solúvel. Em seguida, a mistura foi armazenada em frasco identificado, em temperatura de 4°C.

Para realização do método de Ellman, foi preparado um tubo branco, isto é, um tubo que continha todos os reagentes empregados para análise, exceto a amostra em questão, para que o valor normal de leitura fosse descontado do valor das amostras.

Branco -> 3 mL de tampão fosfato pH 7,4 + 100 µL de DTNB e 50 µL do falso substrato (ATCh)

Amostra -> 3 mL de tampão fosfato pH 7,4 + 100 µL de DTNB e 20 µL de plasma, e finalmente no momento da leitura 50 µL do falso substrato (ATCh).

Após a mistura dos reagentes, a solução adquiriu uma coloração amarelada (Figura 8), cujo comprimento de onda foi mensurado no espectrofotômetro. Realizaram-se três leituras no espectrofotômetro (Varian® – modelo Cary 50Bio – Figura 8), em 405 nm, sendo a primeira após um minuto de reação, com intervalo de 1 minuto entre as seguintes leituras.

Figura 8. Espectrofotômetro e aparelhagem adjacente situados no Laboratório de Química do CEPEMA, utilizados nas leituras das reações. São Paulo - 2010

Figura 9. Reação colorimétrica, de acordo com o método descrito por Ellman et al. (1961). O tubo de ensaio à esquerda representa o tubo branco, contendo apenas DTNB, acetiltiocolina e tampão. O tubo de ensaio à direita contém tudo o que contém o branco e a amostra, e a coloração amarelada é decorrente da formação de ânions amarelos resultantes da tiocolina (produto da degradação da acetiltiocolina pela colinesterase da amostra) com o DTNB. São Paulo - 2010

Cálculo para transformação das unidades

Para o cálculo da taxa de atividade da enzima, foi necessário submeter os valores em absorbância fornecidos pelo espectrofotômetro a uma fórmula que converte essa unidade em micromoles de acetiltiocolina degradada por minuto por mililitro de plasma. O procedimento para o cálculo é descrito por Ellman et al. (1961), porém é encontrado de forma mais detalhada em Fairbrother et al. (1991), como descrito a seguir:

A determinação da atividade de colinesterase através da mudança de absorbância é dependente da lei de Beer-Lambert, a qual pode ser simplificada resumida como:

$$(1) \text{ Alt. Abs. / min} = E \times L \times \text{Alt. Conc. / min}$$

Onde:

Alt. Abs. = Alteração na absorbância

min = minuto

E = Coeficiente de extinção do ânion colorido

L = Comprimento da trajetória realizada pela luz (em cm)

Alt. Conc = Alteração na concentração

O coeficiente de extinção, uma medida da luz absorvida por uma substância em uma solução, para o ânion colorido 5,5'-ditio-bis (2-nitrobenzoato) é $1,36 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (onde M = moles/litro ou mmoles/mL). Rearranjando a equação:

$$(2) \quad \text{Alt. Conc. / min} = \text{Alt. Abs. / min} \times E^{-1} \times L^{-1}$$

e

$$(3) \quad E^{-1} = \frac{\text{mmoles} \times \text{cm}}{13600 \times \text{mL}}$$

Agora, combinando as equações (2) e (3):

$$(4) \quad \text{Alt. Conc. / min} = \frac{\text{Alt. Abs.} \times \text{mmoles} \times \text{cm}}{\text{min} \times 13600 \times \text{mL} \times L}$$

Uma cuveta típica, assim como a utilizada neste estudo, possui um comprimento de trajetória da luz de um centímetro, o que reduz a equação (4) a:

$$(5) \quad \text{Alt. Conc. / min} = \frac{\text{Alt. Abs.} \times \text{mmoles}}{\text{min} \times 13600 \times \text{mL}}$$

Assim, é possível utilizar o valor obtido em “alteração na absorbância/ minuto” e transformá-lo em um valor de atividade enzimática que pode ser expresso em “mmoles de substrato hidrolisado por mL da solução de reação”. Para converter este dado em μmols por mL de amostra:

$$(6) \quad \frac{\text{Alt. Abs.} \times \text{mmoles}}{13600 \times \text{min}} \times \frac{\mu\text{moles} \times 1000}{\text{mmoles}} \times \frac{1}{(\text{Amos. / Sol.R.}) \text{ mL}}$$

Onde:

Amos = Volume da amostra em mL

Sol. R. = Solução de reação (volume total, com os reagentes) em mL

Cancelando as unidades, temos:

$$(7) \text{ Alt. (Conc./min)} = \frac{\text{Ch. Abs.} \times \mu\text{moles} \times \text{Sol.R.}}{\text{min} \times 13,6 \times \text{Amos.} \times \text{mL}}$$

Pode-se ainda resumir a fórmula para:

$$(8) \text{ Atividade enzimática} = \frac{\Delta A \times \text{Sol.R.}}{13,6 \times \text{Amos.}} \mu\text{mols/ mL}$$

Onde:

ΔA = Delta (diferença) de absorbância por minuto

Sabendo-se que a Solução de reação é composta por 3 mL de tampão fosfato, 100 μ L de cromógeno DTNB e 50 μ L do falso substrato (ATch), a solução total possui 3,15 mL. O volume da amostra corresponde a apenas 20 μ L, ou, 0,02 mL. Dessa forma, a fórmula final a qual se deve aplicar o delta de absorbância obtido no espectrofotômetro, a partir da metodologia aqui aplicada, para obter a unidade de micromoles do substrato convertido para o produto final por minuto por mililitro de plasma é:

$$(9) \text{ Atividade enzimática} = \frac{\Delta A \times 157,5}{13,6} \mu\text{mols/ mL}$$

4.4 Análise Estatística

Variáveis quantitativas tiveram sua normalidade testada pelo teste de Anderson-Darling. Para fins descritivos, a mediana (méd) foi adotada como indicador de tendência central para variáveis com distribuição não-normal e, quando pertinente, o primeiro e o terceiro quartil (Q1 e Q3) foram utilizados como indicadores de dispersão. Para variáveis com distribuição normal, a média (méd) e o desvio-padrão (DP) foram adotados como indicadores de tendência central e dispersão. Mínimo (mín) e máximo (máx) também foram utilizados como indicadores de distribuição dos dados quando apropriado. Os resultados de atividade plasmática de colinesterase foram transformados em seu logaritmo natural para os testes de hipóteses, sendo feita transformação inversa para a apresentação dos valores de média e desvio-padrão geométricos.

Comparações de variáveis quantitativas com distribuição normal foram feitas através do teste t de Student (comparação entre duas categorias) ou teste ANOVA (comparação entre três ou mais categorias). Comparações de variáveis quantitativas com distribuição não-normal foram feitas através do teste de Mann-Whitney (comparação entre duas categorias) ou teste de Kruskal-Wallis (comparação entre três ou mais categorias). Comparações entre variáveis qualitativas foram feitas através da construção de tabelas de contingência e aplicação do teste Qui-Quadrado, ou do teste exato de Fisher quando os pré-requisitos do teste Qui-quadrado não foram preenchidos. A análise de regressão linear foi utilizada para detectar a existência de correlação entre duas ou mais variáveis, sendo consideradas relevantes apenas as regressões com $r^2 > 0.60$. O nível de significância (alfa) foi 0.05 para todos os testes; testes com valor de P entre 0.05 e 0.08 foram considerados marginalmente significativos.

5 RESULTADOS

5.1 Animais

Classificação

Participaram da amostragem animais das ordens Strigiforme e Falconiforme. Da ordem Strigiforme, foram coletadas 92 amostras sanguíneas de 89 animais, pertencentes a sete espécies diferentes, sendo:

- Sete espécimes de coruja-buraqueira (*Athene cunicularia*);
- 21 espécimes de corujinha-do-mato (*Megascops choliba*), com 24 amostras sanguíneas (quatro amostras provenientes de um mesmo animal);
- 27 espécimes de coruja-orelhuda (*Asio clamator*), com 28 amostras sanguíneas (duas amostras provenientes de um mesmo animal);
- Dois espécimes de murucututu-de-barriga-amarela (*Pulsatrix koeniswaldiana*);
- Três espécimes de murucututu (*Pulsatrix persipillata*);
- Cinco espécimes de coruja-do-mato (*Strix virgata*);
- 23 espécimes de suindara ou coruja-da-igreja (*Tyto alba*).

Da ordem Falconiforme, foram coletadas 45 amostras sanguíneas de 44 animais, de 11 espécies diferentes, sendo:

- 2 espécimes de gavião-de-rabo-branco (*Buteo albicaudatus*);
- 1 espécimes de gavião-de-cauda-curta (*Buteo brachyurus*);
- 12 espécimes de caracará (*Caracara plancus*);
- Dois espécimes de gavião-peneira (*Elanus leucurus*);
- Três espécimes de falcão-de-coleira (*Falco femoralis*);
- Um espécime de falcão-peregrino (*Falco peregrinus*);
- Dois espécimes de quiriquirei (*Falco sparverius*);
- Um espécime de sovi (*Ictnea plumbea*);
- Três espécimes de gavião-de-cabeça-cinza (*Leptodon cayanensis*);
- Quatro espécimes de gavião-carrapateiro (*Mivalgo chimachima*);
- 13 espécimes de gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*), com 14 amostras sanguíneas (duas amostras provenientes de um mesmo animal).

Instituição, Procedência e Data de Coleta

Foram investigados 132 espécimes provenientes de diferentes instituições do Estado de São Paulo. Os dados quanto às datas de coleta, instituições de permanência, espécie e identificação encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Datas de coleta, instituições de permanência, espécie e identificação dos rapinantes. São Paulo - 2010

Animal	Data	Local	Espécie	Identificação
(continua)				
R1	03-09-08	PET	<i>Falco femoralis</i>	PET 11630
R2	03-09-08	PET	<i>Athene cunicularia</i>	PET 11650
R3	03-09-08	PET	<i>Athene cunicularia</i>	PET 11651
R4	03-09-08	PET	<i>Tyto alba</i>	PET 17739
R5	03-09-08	PET	<i>Tyto alba</i>	PET 17740
R6	03-09-08	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 17783
R7	03-09-08	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 14118
R8	05-09-08	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	34617
R9	05-09-08	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	34671
R10	05-09-08	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	32758
R11	05-09-08	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	34682
R12	05-09-08	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	34596
R13	05-09-08	DEPAVE	<i>Rupornis magnirostris</i>	34591
R14	30-09-08	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	34532
R15	30-09-08	DEPAVE	<i>Athene cunicularia</i>	34252
R16	30-09-08	DEPAVE	<i>Rupornis magnirostris</i>	34591
R17	30-09-08	DEPAVE	<i>Rupornis magnirostris</i>	34830
R18	16-10-08	DEPAVE	<i>Caracara plancus</i>	35040
R19	16-10-08	DEPAVE	<i>Falco peregrinus</i>	33074
R20	16-10-08	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	35022
R21	16-10-08	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	35014
R22	16-10-08	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	34961
R23	10-11-08	ZOOSBC	<i>Buteo albicaudatus</i>	1681 e 1151
R24	10-11-08	ZOOSBC	<i>Buteo albicaudatus</i>	270923
R25	10-11-08	ZOOSBC	<i>Caracara plancus</i>	842
R26	10-11-08	ZOOSBC	<i>Caracara plancus</i>	835
R27	10-11-08	ZOOSBC	<i>Caracara plancus</i>	1126
R28	10-11-08	ZOOSBC	<i>Caracara plancus</i>	1777
R29	10-11-08	ZOOSBC	<i>Caracara plancus</i>	297759
R30	10-11-08	ZOOSBC	<i>Mivalgo chimachima</i>	262
R31	10-11-08	ZOOSBC	<i>Buteo brachyurus</i>	377
R32	10-11-08	ZOOSBC	<i>Rupornis magnirostris</i>	1048
R33	10-11-08	ZOOSBC	<i>Rupornis magnirostris</i>	259043
R34	10-11-08	ZOOSBC	<i>Rupornis magnirostris</i>	282978
R35	23-11-08	POLIVET	<i>Caracara plancus</i>	S/ ID
R36	04-02-09	PET	<i>Falco sparverius</i>	PET 13926
R37	04-02-09	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 17826
R38	04-02-09	PET	<i>Falco femoralis</i>	PET 22099
R39	04-02-09	PET	<i>Caracara plancus</i>	PET 7564
R40	04-02-09	PET	<i>Leptodon cayanensis</i>	PET 5482
R41	04-02-09	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 17827
R42	04-02-09	PET	<i>Rupornis magnirostris</i>	PET 20103

Animal	Data	Local	Espécie	Identificação
(continua)				
R43	04-02-09	PET	<i>Elanus leucurus</i>	PET 22100
R44	05-03-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36410
R45	05-03-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36444
R46	05-03-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36420
R47	05-03-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	36419
R48	05-03-09	DEPAVE	<i>Rupornis magnirostris</i>	36449
R49	12-03-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36410
R50	23-03-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36410
R51	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	T1383
R52	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	PZMQB 406
R53	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	PZMQB 404
R54	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	PZMQB 405
R55	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	PZMQB 407
R56	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	PZMQB 408
R57	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	PZMQB 411
R58	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	T590
R59	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	T1367
R60	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	T1389
R61	01-04-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	PZMQB 409
R62	24-04-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36410
R63	24-04-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36874
R64	30-04-09	Zoo Mogi Mirim	<i>Megascops choliba</i>	S/ ID
R65	04-05-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	31025
R66	04-05-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	30967
R67	04-05-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	34445
R68	04-05-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36925
R69	04-05-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	36926
R70	04-05-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	36927
R71	04-05-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	36734
R72	04-05-09	DEPAVE	<i>Rupornis magnirostris</i>	36897
R73	04-05-09	DEPAVE	<i>Athene cunicularia</i>	36889
R74	04-05-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	36910
R75	04-05-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	36879
R76	04-05-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	36419
R77	04-05-09	DEPAVE	<i>Caracara plancus</i>	36911
R78	14-05-09	PZMQB	<i>Asio clamator</i>	V 446
R79	14-05-09	PZMQB	<i>Asio clamator</i>	V 370
R80	14-05-09	PZMQB	<i>Asio clamator</i>	U 1419
R81	14-05-09	PZMQB	<i>Asio clamator</i>	V 2647
R82	14-05-09	PZMQB	<i>Strix virgata</i>	V 2638
R83	14-05-09	PZMQB	<i>Strix virgata</i>	V 2639
R84	14-05-09	PZMQB	<i>Strix virgata</i>	V 2641
R85	14-05-09	PZMQB	<i>Strix virgata</i>	PZMQB 479
R86	14-05-09	PZMQB	<i>Strix virgata</i>	T 1378
R87	14-05-09	PZMQB	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	X 1713
R88	14-05-09	PZMQB	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	X 297
R89	14-05-09	PZMQB	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	X 298
R90	14-05-09	PZMQB	<i>Pulsatrix koenigswaldiana</i>	PZMQB 7545
R91	14-05-09	PZMQB	<i>Pulsatrix koenigswaldiana</i>	PET 17868
R92	14-05-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	S/ ID
R93	14-05-09	PZMQB	<i>Ictinea plumbea</i>	S/ ID

Animal	Data	Local	Espécie	Identificação
				(conclusão)
R94	14-05-09	PZMQB	<i>Elanus leucurus</i>	S/ ID
R95	14-05-09	PZMQB	<i>Asio clamator</i>	S/ ID
R96	14-05-09	PZMQB	<i>Rupornis magnirostris</i>	S/ ID
R97	14-05-09	PZMQB	<i>Mivalgo chimachima</i>	S/ ID
R98	14-05-09	PZMQB	<i>Caracara plancus</i>	S/ ID
R99	04-06-09	PZMQB	<i>Mivalgo chimachima</i>	P 346
R100	04-06-09	PZMQB	<i>Mivalgo chimachima</i>	P 324
R101	04-06-09	PZMQB	<i>Rupornis magnirostris</i>	P 431
R102	04-06-09	PZMQB	<i>Rupornis magnirostris</i>	P 432
R103	04-06-09	PZMQB	<i>Leptodon cayanensis</i>	PZMQB 477
R104	04-06-09	PZMQB	<i>Falco femoralis</i>	P 340
R105	04-06-09	PZMQB	<i>Leptodon cayanensis</i>	T 3517
R106	04-06-09	PZMQB	<i>Asio clamator</i>	S/ ID
R107	04-06-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	S/ ID
R108	26-06-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	37098
R109	26-06-09	DEPAVE	<i>Athene cunicularia</i>	37231
R110	29-06-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	37157
R111	26-06-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	37021
R112	29-06-09	DEPAVE	<i>Megascops choliba</i>	37232
R113	26-06-09	DEPAVE	<i>Caracara plancus</i>	37017
R114	26-06-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	37248
R115	29-06-09	DEPAVE	<i>Asio clamator</i>	37270
R116	29-06-09	DEPAVE	<i>Tyto alba</i>	37266
R117	29-06-09	DEPAVE	<i>Caracara plancus</i>	37263
R118	29-06-09	DEPAVE	<i>Rupornis magnirostris</i>	37264
R119	15-07-09	PET	<i>Megascops choliba</i>	PET 13929
R120	15-07-09	PET	<i>Megascops choliba</i>	PET 13936
R121	15-07-09	PET	<i>Falco sparverius</i>	PET 13880
R122	15-07-09	PET	<i>Tyto alba</i>	PET 7523
R123	15-07-09	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 5537
R124	15-07-09	PET	<i>Tyto alba</i>	PET 7569
R125	15-07-09	PET	<i>Megascops choliba</i>	PET 13933
R126	15-07-09	PET	<i>Athene cunicularia</i>	PET 13934
R127	15-07-09	PET	<i>Athene cunicularia</i>	PZOSAN 234
R128	15-07-09	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 17837
R129	15-07-09	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 17834
R130	15-07-09	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 17835
R131	15-07-09	PET	<i>Asio clamator</i>	PET 17833
R132	06-08-09	PZMQB	<i>Rupornis magnirostris</i>	S/ ID
R133	06-08-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	S/ ID
R134	06-08-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	S/ ID
R135	06-08-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	S/ ID
R136	06-08-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	S/ ID
R137	06-08-09	PZMQB	<i>Tyto alba</i>	S/ ID

Exame físico resumido – Strigiformes

O exame físico consistiu na avaliação da idade, da massa corporal (em gramas) e na avaliação da condição clínica no momento da coleta de sangue. Nas tabelas abaixo (Tabelas 3 e 4) estão dispostos os dados para Falconiformes e Strigiformes, assim como o sexo (M= macho; F= fêmea) e a idade dos animais (adulto ou jovem).

Tabela 3. Sexo, idade, peso e clínica de Strigiformes. São Paulo - 2010

Animal	Espécie	Sexo	Idade	Peso (g)	Clínica
(continua)					
R2	<i>Athene cunicularia</i>	M	Adulto	158	Lesão por linha de pipa em MTE
R3	<i>Athene cunicularia</i>	M	Adulto	170	Hígido
R15	<i>Athene cunicularia</i>	F	Adulto	180	Fratura em MTD
R73	<i>Athene cunicularia</i>	F	Adulto	128	Fratura em MTE
R109	<i>Athene cunicularia</i>	M	Adulto	150	Arame farpado
R126	<i>Athene cunicularia</i>	F	Adulto	150	Hígido
R127	<i>Athene cunicularia</i>	M	Adulto	168	Hígido
Média				157.71	
DP				17.10	
R12	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	115	Fratura em MTD
R14	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	120	Não conseguia voar.
R20	<i>Megascops choliba</i>	M	Jovem	105	Pálpebra do OD caída
R21	<i>Megascops choliba</i>	M	Jovem	115	Lesão em MTD
R22	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	105	Luxação de cristalino em GOE
R44	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	105	Linha de pipa em MTE
R45	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	105	MTE lesionado
R46	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	130	Hígido
R49	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	115	MTE lesionado
R50	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	130	MTE lesionado
R62	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	130	MTE lesionado
R63	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	115	Trauma craniano
R64	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	118	Hígido
R65	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	135	Fratura em MP não consolidada
R66	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	125	Cisto de pena
R67	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	115	Fratura em MTE
R68	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	110	Não voava
R69	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	115	Hígido
R110	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	105	Sintomas neurológicos (trauma)
R111	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	130	Não estava voando
R112	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	100	Fratura em MTD
R119	<i>Megascops choliba</i>	M	Adulto	126.5	Hígido
R120	<i>Megascops choliba</i>	M	Jovem	121	Hígido
R125	<i>Megascops choliba</i>	F	Adulto	129	Hígido

Animal	Espécie	Sexo	Idade	Peso (g)	Clínica
(continua)					
Média				113.46	
DP				22.43	
R6	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	468	Hígido
R7	<i>Asio clamator</i>	F	Jovem	403	Lesão em asa esquerda
R8	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	445	Asa machucada
R9	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	340	Asa machucada
R10	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	425	Cisto de pena
R11	<i>Asio clamator</i>	F	Adulto	540	Hematoma em MTD
R37	<i>Asio clamator</i>	F	Jovem	352.5	Hígido
R41	<i>Asio clamator</i>	M	Jovem	300.5	Caquexia
R47	<i>Asio clamator</i>	F	Adulto	515	MTD ligeiramente caído
R70	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	430	Hígido
R71	<i>Asio clamator</i>	F	Adulto	420	Opacidade em GOD
R74	<i>Asio clamator</i>	F	Adulto	440	Hígido
R75	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	375	Hígido
R76	<i>Asio clamator</i>	F	Adulto	540	Hígido
R78	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	650	Hígido
R79	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	600	Hígido
R80	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	625	Hígido
R81	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	600	Hígido
R95	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	370	Lesão na asa
R106	<i>Asio clamator</i>	M	Jovem	550	Hígido
R108	<i>Asio clamator</i>	M	Adulto	400	MT e MP apresentando lesões
R114	<i>Asio clamator</i>	M	Jovem	330	Ferimento no bico
R115	<i>Asio clamator</i>	M	Jovem	400	Atropelamento - fratura de MPE
R123	<i>Asio clamator</i>	M	Jovem	375	Hígido
R128	<i>Asio clamator</i>	F	Jovem	402	Hígido
R129	<i>Asio clamator</i>	F	Jovem	484	Hígido
R130	<i>Asio clamator</i>	M	Jovem	498	Hígido
R131	<i>Asio clamator</i>	M	Jovem	445	Hígido
Média				455.12	
DP				96.32	
R90	<i>Pulsatrix koeniswaldiana</i>	F	Adulto	900	Hígido
R91	<i>Pulsatrix koeniswaldiana</i>	M	Adulto	450	Hígido
R87	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	M	Adulto	700	Hígido
R88	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	M	Adulto	750	Hígido
R89	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	F	Adulto	600	Hígido
Média				680.00	
DP				76.38	
R82	<i>Strix virgata</i>	M	Adulto	400	Hígido
R83	<i>Strix virgata</i>	F	Adulto	425	Hígido
R84	<i>Strix virgata</i>	F	Adulto	490	Hígido
R85	<i>Strix virgata</i>	M	Adulto	400	Hígido
R86	<i>Strix virgata</i>	F	Adulto	400	Hígido
Média				423.00	

Animal	Espécie	Sexo	Idade	Peso (g)	Clínica
					(conclusão)
DP				38.99	
R4	<i>Tyto alba</i>	M	Adulto	291	Hígido
R5	<i>Tyto alba</i>	F	Adulto	350	Hígido
R51	<i>Tyto alba</i>	M	Adulto	420	Hígido
R52	<i>Tyto alba</i>	M	Adulto	420	Hígido
R53	<i>Tyto alba</i>	F	Adulto	470	Hígido
R54	<i>Tyto alba</i>	F	Adulto	480	Hígido
R55	<i>Tyto alba</i>	M	Adulto	400	Hígido
R56	<i>Tyto alba</i>	F	Adulto	450	Hígido
R57	<i>Tyto alba</i>	F	Adulto	450	Hígido
R58	<i>Tyto alba</i>	M	Adulto	410	Hígido
R59	<i>Tyto alba</i>	M	Adulto	360	Hígido
R60	<i>Tyto alba</i>	M	Adulto	450	Hígido
R61	<i>Tyto alba</i>	F	Adulto	460	Hígido
R92	<i>Tyto alba</i>	M	Jovem	290	Hígido
R107	<i>Tyto alba</i>	M	Jovem	400	Fratura em MTE
R116	<i>Tyto alba</i>	F	Jovem	335	Impossibilitada de vôo
R122	<i>Tyto alba</i>	F	Jovem	372	Hígido
R124	<i>Tyto alba</i>	M	Jovem	341	Hígido
R133	<i>Tyto alba</i>	F	Jovem	375	Hígido
R134	<i>Tyto alba</i>	M	Jovem	340	Hígido
R135	<i>Tyto alba</i>	F	Jovem	325	Hígido
R136	<i>Tyto alba</i>	M	Jovem	325	Hígido
R137	<i>Tyto alba</i>	M	Jovem	360	Hígido
Média				385.83	
DP				57.34	

Exame físico resumido – Falconiformes

Tabela 4. Sexo, idade, peso e clínica de Falconiformes. * Dado não fornecido. São Paulo - 2010

Animal	Espécie	Sexo	Idade	Peso (g)	Clínica
					(continua)
R23	<i>Buteo albicaudatus</i>	F	Adulto	*	Hígido
R24	<i>Buteo albicaudatus</i>	M	Jovem	*	Hígido
R31	<i>Buteo brachyurus</i>	F	Adulto	*	Hígido
R18	<i>Caracara plancus</i>	M	Jovem	650	Tricomoníase em cavidade oral
R25	<i>Caracara plancus</i>	F	Adulto	*	Hígido
R26	<i>Caracara plancus</i>	M	Adulto	*	Hígido

Animal	Espécie	Sexo	Idade	Peso (g)	Clínica
(continua)					
R27	<i>Caracara plancus</i>	M	Adulto	*	Hígido
R28	<i>Caracara plancus</i>	F	Adulto	*	Hígido
R29	<i>Caracara plancus</i>	F	Adulto	*	Hígido
R35	<i>Caracara plancus</i>	F	Adulto	1000.1	Fratura em MTD
R39	<i>Caracara plancus</i>	F	Jovem	903.5	Hígido
R77	<i>Caracara plancus</i>	M	Adulto	930	Fratura MTD
R98	<i>Caracara plancus</i>	M	Jovem	980	Hígido
R113	<i>Caracara plancus</i>	F	Adulto	1100	Não estava voando
R117	<i>Caracara plancus</i>	M	Adulto	850	Lesão em MTE, impossibilita vôo
Média				916.23	
DP				141.71	
R43	<i>Elanus leucurus</i>	F	Adulto	259	Hígido
R94	<i>Elanus leucurus</i>	M	Adulto	220	Hígido
R43	<i>Elanus leucurus</i>	F	Adulto	259	Hígido
R94	<i>Elanus leucurus</i>	M	Adulto	220	Hígido
R1	<i>Falco femoralis</i>	M	Adulto	161	Fratura em MTE
R38	<i>Falco femoralis</i>	M	Adulto	273	Hígido
R104	<i>Falco femoralis</i>	M	Adulto	350	Hígido
Média				261.33	
DP				95.04	
R19	<i>Falco peregrinus</i>	M	Jovem	510	Hígido
R36	<i>Falco sparverius</i>	M	Adulto	73	Lesão em MTD, impossibilita vôo.
R121	<i>Falco sparverius</i>	M	Jovem	107	
R93	<i>Ictinea plumbea</i>	M	Adulto	240	Hígido
R40	<i>Leptodon cayanensis</i>	F	Adulto	551.5	Hígido
R103	<i>Leptodon cayanensis</i>	F	Adulto	770	Hígido
R105	<i>Leptodon cayanensis</i>	F	Adulto	775	Hígido
Média				698.83	
DP				127.62	
R30	<i>Mivalgo chimachima</i>	M	Adulto	*	Hígido
R97	<i>Mivalgo chimachima</i>	F	Adulto	295	Hígido
R99	<i>Mivalgo chimachima</i>	F	Adulto	330	Hígido
R100	<i>Mivalgo chimachima</i>	M	Adulto	420	Hígido
Média				348.33	
DP				64.49	
R13	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	230	Linha de pipa
R16	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	250	Hígido
R17	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	225	Hematoma em MPE, trauma craniano
R32	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	*	
R33	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	*	
R34	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	*	

Animal	Espécie	Sexo	Idade	Peso (g)	Clínica
					(conclusão)
R42	<i>Rupornis magnirostris</i>	F	Adulto	270	Hígido
R48	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	310	MTD lesionado
R72	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	235	Fratura em rádio-ulna.
R96	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	235	Hígido
R101	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	350	Hígido
R102	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Adulto	430	Hígido
R118	<i>Rupornis magnirostris</i>	F	Adulto	250	Lesão em extremidade de MTE
R132	<i>Rupornis magnirostris</i>	M	Jovem	210	Pneumonia
Média				272.27	
DP				66.35	

5.2 Análise laboratorial

5.2.1 Avaliação do perfil hematológico

Foi possível a realização do hemograma completo da maioria dos animais, excetuando-se uma amostra (houve coagulação do sangue no momento da coleta). Todos os seguintes parâmetros de média e desvio-padrão são expressos nas tabelas abaixo para Strigiformes (Tabelas 5 e 6) e para Falconiformes (Tabelas 7 e 8): Hematócrito-Ht (%), Hemoglobina-Hb (g/dL), Eritrócitos ou Hemácias-He. ($\times 10^6/\text{mm}^3$), VCM (fL), HCM (pg), CHCM (%), Leucócitos-Leu ($/\text{mm}^3$), Proteínas Plasmáticas-PT. (g/dL), Heterófilos ($/\text{mm}^3$), Eosinófilos ($/\text{mm}^3$), Linfócitos ($/\text{mm}^3$), Monócitos ($/\text{mm}^3$), Basófilos ($/\text{mm}^3$), e Trombócitos ($/\text{mm}^3$).

Perfil Hematológico – Strigiformes

Tabela 5. Perfil Hematológico de Strigiformes. São Paulo – 2010. (...): dado não obtido

Animal	Espécie	Ht	PT	Hb	He	Leu	Tromb	VCM	HCM	CHCM
										(continua)
R2	<i>A. cunicularia</i>	47	5.4	5.8	3.1	16000	45000	151.61	18.71	12.34
R3	<i>A. cunicularia</i>	42	4.8	5.8	2.97	14500	29000	141.41	19.53	13.81
R15	<i>A. cunicularia</i>	38	3.6	7.5	2.5	25000	57500	152.00	30.00	19.74
R73	<i>A. cunicularia</i>	28	3	5.5	1.2	44500	8000	233.33	45.83	19.64

Animal	Espécie	Ht	PT	Hb	He	Leu	Tromb	VCM	HCM	CHCM
(continua)										
R109	<i>A. cunicularia</i>	42	2.8	9.4	2.45	6000	30000	171.43	38.37	22.38
R126	<i>A. cunicularia</i>	43	4	8.9	2.15	13500	27500	200.00	41.40	20.70
R127	<i>A. cunicularia</i>	45	4	10.9	2.31	11500	38000	194.81	47.19	24.22
Média		40.71	3.94	7.69	2.38	18714.29	33571.43	177.80	34.43	18.98
DP		6.26	0.93	2.11	0.62	12717.63	15530.69	33.12	11.87	4.36
R12	<i>M. choliba</i>	33	4.2	8.1	2.65	18000	83500	124.53	30.57	24.55
R14	<i>M. choliba</i>	35	3.2	7.5	2.57	21500	59000	136.19	29.18	21.43
R20	<i>M. choliba</i>	35	5.2	7.5	1.97	16000	64000	177.66	38.07	21.43
R21	<i>M. choliba</i>	34	3.6	7.5	1.97	21000	78000	172.59	38.07	22.06
R22	<i>M. choliba</i>	38	4.4	9.9	2.41	5500	71500	157.68	41.08	26.05
R44	<i>M. choliba</i>	33	4.2	7.6	1.93	25000	47500	170.98	39.38	23.03
R45	<i>M. choliba</i>	36	5	8.6	2.05	32500	43500	175.61	41.95	23.89
R46	<i>M. choliba</i>	39	3.8	9.5	1.92	38500	39000	203.13	49.48	24.36
R49	<i>M. choliba</i>	35	5	7.2	2.19	22500	22500	159.82	32.88	20.57
R50	<i>M. choliba</i>	30	4.6	5.6	1.5	23000	74000	200.00	37.33	18.67
R62	<i>M. choliba</i>	40	4.8	8.7	2.32	7500	45000	172.41	37.50	21.75
R63	<i>M. choliba</i>	30	5.4	6.8	1.52	31000	78000	197.37	44.74	22.67
R64	<i>M. choliba</i>	42	4.8	9.3	2.36	17000	64500	177.97	39.41	22.14
R65	<i>M. choliba</i>	45	6	12.2	2.6	25000	125000	173.08	46.92	27.11
R66	<i>M. choliba</i>	36	5	7.8	2.3	11000	138000	156.52	33.91	21.67
R67	<i>M. choliba</i>	40	5.6	9.1	2.32	7000	98500	172.41	39.22	22.75
R68	<i>M. choliba</i>	35	5.4	7.7	1.87	28500	138500	187.17	41.18	22.00
R69	<i>M. choliba</i>	38	6.4	9.9	1.98	7500	86000	191.92	50.00	26.05
R110	<i>M. choliba</i>	40	5.4	8.1	...	...	...	...	...	20.25
R111	<i>M. choliba</i>	45	5	10	2.41	14500	86500	186.72	41.49	22.22
R112	<i>M. choliba</i>	31	3.6	7.4	2.44	21000	55000	127.05	30.33	23.87
R119	<i>M. choliba</i>	42	4.2	11.7	2.95	17500	47000	142.37	39.66	27.86
R120	<i>M. choliba</i>	32	3.4	7.9	2.11	17000	43500	151.66	37.44	24.69
R125	<i>M. choliba</i>	42	4.8	10.3	2.57	21500	64000	163.42	40.08	24.52
Média		36.92	4.71	8.58	2.21	19543.48	71826.09	168.62	39.12	23.15
DP		4.44	0.82	1.55	0.36	8543.89	30647.41	21.93	5.51	2.22
R6	<i>A. clamator</i>	38	4.4	5.4	2.34	12500	35000	162.39	23.08	14.21
R7	<i>A. clamator</i>	36	4	4.7	2.37	8000	32500	151.90	19.83	13.06
R8	<i>A. clamator</i>	38	5.4	8.7	2.23	18500	96000	170.40	39.01	22.89
R9	<i>A. clamator</i>	35	4	8.5	1.92	12000	33000	182.29	44.27	24.29
R10	<i>A. clamator</i>	37	3.4	9.3	2.68	7500	34500	138.06	34.70	25.14
R11	<i>A. clamator</i>	37	4.4	9.8	2.39	17000	30500	154.81	41.00	26.49
R37	<i>A. clamator</i>	24	3.6	4.9	1.74	21000	74000	137.93	28.16	20.42
R41	<i>A. clamator</i>	23	4.8	6.1	1.49	18000	57000	154.36	40.94	26.52
R47	<i>A. clamator</i>	38	4	9.6	1.47	20000	18000	258.50	65.31	25.26
R70	<i>A. clamator</i>	22	3	6.4	1.12	11500	20000	196.43	57.14	29.09
R71	<i>A. clamator</i>	36	4.6	8.8	1.92	15000	29500	187.50	45.83	24.44
R74	<i>A. clamator</i>	32	3.6	6.9	1.72	71000	29000	186.05	40.12	21.56
R75	<i>A. clamator</i>	31	4.4	6.6	1.52	22000	65500	203.95	43.42	21.29
R76	<i>A. clamator</i>	38	5	8.8	2.93	37000	31000	129.69	30.03	23.16
R78	<i>A. clamator</i>	42	4.6	9.8	2.24	10500	34500	187.50	43.75	23.33
R79	<i>A. clamator</i>	44	4.8	10.7	2.44	13500	46500	180.33	43.85	24.32
R80	<i>A. clamator</i>	40	4.8	9.5	1.93	7500	18500	207.25	49.22	23.75

Animal	Espécie	Ht	PT	Hb	He	Leu	Tromb	VCM	HCM	CHCM
(continua)										
R81	<i>A. clamator</i>	43	4	10.3	2.25	14000	41500	191.11	45.78	23.95
R95	<i>A. clamator</i>	27	2.6	4.6	1.2	23000	53000	225.00	38.33	17.04
R106	<i>A. clamator</i>	47	4.4	10.9	2.2	7500	15500	213.64	49.55	23.19
R108	<i>A. clamator</i>	33	3.2	6.1	2.02	49000	63000	163.37	30.20	18.48
R114	<i>A. clamator</i>	30	3.4	7.4	1.71	27000	23000	175.44	43.27	24.67
R115	<i>A. clamator</i>	36	3.2	8.4	1.72	9500	31500	209.30	48.84	23.33
R123	<i>A. clamator</i>	37	3.4	8.5	2.04	21500	24500	181.37	41.67	22.97
R128	<i>A. clamator</i>	35	3.4	7.9	1.61	15000	17000	217.39	49.07	22.57
R129	<i>A. clamator</i>	36	3.2	9	2.09	8500	29500	172.25	43.06	25.00
R130	<i>A. clamator</i>	33	3.2	8.2	1.95	13000	44000	169.23	42.05	24.85
R131	<i>A. clamator</i>	35	3.4	8.1	2.02	14000	36500	173.27	40.10	23.14
Média		35.11	3.94	8.00	1.97	18732.14	38000.00	181.45	41.49	22.80
DP		6.00	0.71	1.82	0.42	13767.57	18925.29	28.83	9.48	3.50
R90	<i>P. koeniswaldiana</i>	39	5.4	9.1	1.93	11000	36000	202.07	47.15	23.33
R91	<i>P. koeniswaldiana</i>	32	5.6	11.5	1.25	8000	26500	256.00	92.00	35.94
R87	<i>P. perspicillata</i>	36	5	9	1.16	7500	28500	310.34	77.59	25.00
R88	<i>P. perspicillata</i>	40	5.2	10.7	1.14	7500	16000	350.88	93.86	26.75
R89	<i>P. perspicillata</i>	37	5.2	10	1.56	13000	15500	237.18	64.10	27.03
Média		37.67	5.13	9.90	1.29	9333.33	20000.00	299.47	78.52	26.26
DP		2.08	0.12	0.85	0.24	3175.43	7365.46	57.62	14.90	1.10
R82	<i>S. virgata</i>	41	5.2	9.5	1.54	7500	23500	266.23	61.69	23.17
R83	<i>S. virgata</i>	42	6.4	10.2	1.43	11500	20000	293.71	71.33	24.29
R84	<i>S. virgata</i>	44	5	10.6	2.6	13000	29000	169.23	40.77	24.09
R85	<i>S. virgata</i>	44	4.4	10.5	2.1	14000	18500	209.52	50.00	23.86
R86	<i>S. virgata</i>	37	5	9.4	1.92	18000	21000	192.71	48.96	25.41
Média		41.60	5.20	10.04	1.92	12800.00	22400.00	226.28	54.55	24.16
DP		2.88	0.73	0.56	0.47	3817.72	4114.00	51.97	11.98	0.81
R4	<i>T. alba</i>	44	4.8	6.9	2.75	12500	43500	160.00	25.09	15.68
R5	<i>T. alba</i>	35	6	5.8	2.09	9500	47000	167.46	27.75	16.57
R51	<i>T. alba</i>	44	4	9.9	2.53	18000	29000	173.91	39.13	22.50
R52	<i>T. alba</i>	44	4.4	10.3	2.84	14500	51500	154.93	36.27	23.41
R53	<i>T. alba</i>	43	5	10.8	2.6	13500	47500	165.38	41.54	25.12
R54	<i>T. alba</i>	44	4.2	10.3	2.57	7500	31000	171.21	40.08	23.41
R55	<i>T. alba</i>	43	2.6	8.7	2.17	11000	32000	198.16	40.09	20.23
R56	<i>T. alba</i>	42	4.4	10.4	2.19	9500	37500	191.78	47.49	24.76
R57	<i>T. alba</i>	43	4.4	10.1	1.94	10500	28500	221.65	52.06	23.49
R58	<i>T. alba</i>	44	3.8	11.1	2.2	15000	42500	200.00	50.45	25.23
R59	<i>T. alba</i>	43	4.2	10.4	2.48	10000	25500	173.39	41.94	24.19
R60	<i>T. alba</i>	44	4	11	2.59	13500	36000	169.88	42.47	25.00
R61	<i>T. alba</i>	46	4	11.5	2.45	13500	55000	187.76	46.94	25.00
R92	<i>T. alba</i>	37	5.2	9.9	2.37	21500	26000	156.12	41.77	26.76
R107	<i>T. alba</i>	29	3.6	6.5	1.61	29500	35500	180.12	40.37	22.41
R116	<i>T. alba</i>	40	3.6	9	2.56	18000	25500	156.25	35.16	22.50
R122	<i>T. alba</i>	37	3.6	8.9	2.63	9000	43500	140.68	33.84	24.05
R124	<i>T. alba</i>	40	3.4	9.3	2.89	22000	33500	138.41	32.18	23.25
R133	<i>T. alba</i>	42	3.2	10.1	3.04	13500	31000	138.16	33.22	24.05

Animal	Espécie	Ht	PT	Hb	He	Leu	Tromb	VCM	HCM	CHCM
(conclusão)										
R134	<i>T. alba</i>	42	3.6	11.4	2.74	10500	21500	153.28	41.61	27.14
R135	<i>T. alba</i>	43	4	10.5	2.71	8000	25000	158.67	38.75	24.42
R136	<i>T. alba</i>	44	3.8	10.5	2.38	11500	36500	184.87	44.12	23.86
R137	<i>T. alba</i>	45	3.4	10.9	2.87	23000	29000	156.79	37.98	24.22
Média		41.65	4.05	9.75	2.49	14130.43	35369.57	169.52	39.58	23.36
DP		3.88	0.73	1.53	0.34	5547.76	9246.89	20.98	6.58	2.70

Diferencial de leucócitos (/mm³) – Strigiformes

Tabela 6. Contagem diferencial de leucócitos, em números absolutos (/mm³), de Strigiformes. São Paulo - 2010

Animal	Espécie	Heterófilos	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos	Basófilos
(continua)						
R2	<i>A. cunicularia</i>	9600	5120	800	480	0
R3	<i>A. cunicularia</i>	4350	8990	435	725	0
R15	<i>A. cunicularia</i>	13250	10500	750	500	0
R73	<i>A. cunicularia</i>	20025	20025	0	3115	1335
R109	<i>A. cunicularia</i>	2220	2520	180	720	360
R126	<i>A. cunicularia</i>	10260	2565	0	405	270
R127	<i>A. cunicularia</i>	5290	4830	345	460	575
Média		9285.00	7792.86	358.57	915.00	362.86
DP		6087.52	6183.89	327.40	978.32	481.96
R12	<i>M. choliba</i>	8280	6840	900	1980	0
R14	<i>M. choliba</i>	7525	13330	215	430	0
R20	<i>M. choliba</i>	5760	4960	2560	2720	0
R21	<i>M. choliba</i>	9660	10500	840	0	0
R22	<i>M. choliba</i>	2200	2255	220	770	55
R44	<i>M. choliba</i>	13250	6500	1500	2500	1250
R45	<i>M. choliba</i>	7475	12675	4225	7475	650
R46	<i>M. choliba</i>	10010	9625	5775	13090	0
R49	<i>M. choliba</i>	4725	10350	3825	3600	0
R50	<i>M. choliba</i>	9200	6900	2530	4140	230
R62	<i>M. choliba</i>	1500	4200	450	1275	75
R63	<i>M. choliba</i>	18290	7750	1550	3410	0
R64	<i>M. choliba</i>	1190	10030	510	5100	170
R65	<i>M. choliba</i>	7750	8750	1000	7000	500
R66	<i>M. choliba</i>	5390	3960	660	330	660
R67	<i>M. choliba</i>	1750	3150	1120	490	490
R68	<i>M. choliba</i>	10260	10545	1710	5700	285
R69	<i>M. choliba</i>	1200	4800	375	900	225
R110	<i>M. choliba</i>	...	...	...	...	...
R111	<i>M. choliba</i>	4785	3625	870	5220	0
R112	<i>M. choliba</i>	10080	6510	1470	2940	0
R119	<i>M. choliba</i>	700	11200	1225	3850	525
R120	<i>M. choliba</i>	850	13430	510	2040	170
R125	<i>M. choliba</i>	10320	4730	2580	3440	430

Animal	Espécie	Heterófilos	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos	Basófilos
(continua)						
Média		6339.58	7358.96	1525.83	3266.67	238.13
DP		4661.81	3691.31	1425.32	3008.58	313.57
R6	<i>A. clamator</i>	6625	4625	500	750	0
R7	<i>A. clamator</i>	2720	4880	320	80	0
R8	<i>A. clamator</i>	9990	7030	370	925	185
R9	<i>A. clamator</i>	9720	960	840	480	0
R10	<i>A. clamator</i>	4350	2400	525	225	0
R11	<i>A. clamator</i>	11560	5100	170	170	0
R37	<i>A. clamator</i>	9870	9030	210	1260	630
R41	<i>A. clamator</i>	15840	1260	0	720	180
R47	<i>A. clamator</i>	16400	1400	1200	1000	0
R70	<i>A. clamator</i>	9890	1265	345	0	0
R71	<i>A. clamator</i>	4200	8550	750	1350	150
R74	<i>A. clamator</i>	61060	7810	0	710	1420
R75	<i>A. clamator</i>	14520	3960	880	2200	440
R76	<i>A. clamator</i>	29230	5550	740	1110	370
R78	<i>A. clamator</i>	1890	7245	210	735	420
R79	<i>A. clamator</i>	2970	5805	405	3780	540
R80	<i>A. clamator</i>	3225	3000	300	600	375
R81	<i>A. clamator</i>	4480	7840	140	1120	420
R95	<i>A. clamator</i>	14720	4830	2990	460	0
R106	<i>A. clamator</i>	5100	1275	375	675	75
R108	<i>A. clamator</i>	38220	4410	3430	1960	980
R114	<i>A. clamator</i>	22140	4860	0	0	0
R115	<i>A. clamator</i>	4275	4275	190	570	190
R123	<i>A. clamator</i>	14620	6665	0	215	0
R128	<i>A. clamator</i>	7200	7050	150	600	0
R129	<i>A. clamator</i>	2890	4505	425	680	0
R130	<i>A. clamator</i>	1950	10140	390	520	0
R131	<i>A. clamator</i>	4060	8960	140	840	0
Média		11918.39	5167.14	571.25	847.68	227.68
DP		12904.29	2635.09	803.33	775.57	342.57
R90	<i>P. koenigswaldiana</i>	1100	8470	0	1100	330
R91	<i>P. koenigswaldiana</i>	2720	3840	400	880	160
R87	<i>P. perspicillata</i>	1500	4800	225	900	75
R88	<i>P. perspicillata</i>	1575	4725	0	975	225
R89	<i>P. perspicillata</i>	3770	6500	260	1950	520
Média		2281.67	5341.67	161.67	1275.00	273.33
DP		1289.48	1003.85	141.10	585.77	226.40
R82	<i>S. virgata</i>	2100	4650	0	525	225
R83	<i>S. virgata</i>	2760	7245	345	920	230
R84	<i>S. virgata</i>	3380	7670	520	1300	130
R85	<i>S. virgata</i>	1960	9940	700	1260	140
R86	<i>S. virgata</i>	11700	3060	1800	1080	360
Média		4380.00	6513.00	673.00	1017.00	217.00
DP		4131.03	2693.18	680.95	314.08	92.44

Animal	Espécie	Heterófilos	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos	Basófilos
(conclusão)						
R4	<i>T. alba</i>	7500	4625	250	0	125
R5	<i>T. alba</i>	4750	4560	190	0	0
R51	<i>T. alba</i>	13140	3600	180	720	360
R52	<i>T. alba</i>	3480	10150	145	725	0
R53	<i>T. alba</i>	6210	6480	135	405	270
R54	<i>T. alba</i>	3000	4125	150	0	225
R55	<i>T. alba</i>	4070	5940	0	770	220
R56	<i>T. alba</i>	3420	4940	190	760	190
R57	<i>T. alba</i>	5985	3675	0	315	525
R58	<i>T. alba</i>	6900	3600	150	4200	150
R59	<i>T. alba</i>	7100	2300	100	500	0
R60	<i>T. alba</i>	8370	3510	135	1350	135
R61	<i>T. alba</i>	9585	2970	0	270	675
R92	<i>T. alba</i>	15050	6235	0	0	215
R107	<i>T. alba</i>	18880	10030	0	0	590
R116	<i>T. alba</i>	6300	10440	180	1080	0
R122	<i>T. alba</i>	4230	4500	90	90	90
R124	<i>T. alba</i>	7260	13860	220	0	660
R133	<i>T. alba</i>	4320	7425	0	1755	0
R134	<i>T. alba</i>	5565	4725	0	210	0
R135	<i>T. alba</i>	3760	3360	240	480	160
R136	<i>T. alba</i>	3795	6440	345	460	460
R137	<i>T. alba</i>	9200	12190	0	1150	460
Média		7037.83	6073.04	117.39	662.61	239.57
DP		4000.13	3170.24	101.83	910.25	222.80

Perfil Hematológico – Falconiformes

Tabela 7. Perfil hematológico de Falconiformes. São Paulo - 2010

Animal	Espécie	Ht	PT	Hb	He	Leu	Tromb	VCM	HCM	CHCM
(continua)										
R23	<i>B. albicaudatus</i>	42	4.2	10.4	2.29	16500	9500	183.41	45.41	24.76
R24	<i>B. albicaudatus</i>	43	4.6	11.1	1.87	7000	8500	229.95	59.36	25.81
R31	<i>B. brachyurus</i>	45	3.8	11.5	2.45	5000	10000	183.67	46.94	25.56
R18	<i>C. plancus</i>	26	3.8	6.8	1.79	22500	66000	145.25	37.99	26.15
R25	<i>C. plancus</i>	42	4.4	11.5	2.04	12000	9500	205.88	56.37	27.38
R26	<i>C. plancus</i>	48	3.8	13.5	2.63	5500	8500	182.51	51.33	28.13
R27	<i>C. plancus</i>	41	4.4	11.3	2.58	8000	8000	158.91	43.80	27.56
R28	<i>C. plancus</i>	48	4.2	13.8	2.5	9500	13500	192.00	55.20	28.75
R29	<i>C. plancus</i>	49	4.2	15	2.65	4000	7500	184.91	56.60	30.61
R35	<i>C. plancus</i>	45	3.8	9.4	2.85	43500	56000	157.89	32.98	20.89

Animal	Espécie	Ht	PT	Hb	He	Leu	Tromb	VCM	HCM	CHCM
(continua)										
R39	<i>C. plancus</i>	36	5.4	10.2	2.47	10500	56500	145.75	41.30	28.33
R77	<i>C. plancus</i>	44	4	11.6	2.55	17500	42500	172.55	45.49	26.36
R98	<i>C. plancus</i>	40	2.8	9.9	2.49	17000	20000	160.64	39.76	24.75
R113	<i>C. plancus</i>	48	5	9.3	2.98	27500	27000	161.07	31.21	19.38
R117	<i>C. plancus</i>	34	5.4	7.3	2.71	36500	30000	125.46	26.94	21.47
Média		41.75	4.27	10.80	2.52	17833.33	28750.00	166.07	43.25	25.81
DP		6.94	0.74	2.50	0.32	12506.97	21459.79	22.55	10.11	3.50
R43	<i>E. leucurus</i>	40	5.2	8.8	2.9	15500	84500	137.93	30.34	22.00
R94	<i>E. leucurus</i>	38	4.2	8	2.4	7500	37500	158.33	33.33	21.05
R1	<i>F. femoralis</i>	22	2	1.7	1.51	7500	24000	145.70	11.26	7.73
R38	<i>F. femoralis</i>	37	3.8	9.4	2.92	7500	64500	126.71	32.19	25.41
R104	<i>F. femoralis</i>	47	3.8	11.4	2.86	8000	9000	164.34	39.86	24.26
Média		35.33	3.20	7.50	2.43	7666.67	32500.00	145.58	27.77	19.13
DP		12.58	1.04	5.12	0.80	288.68	28709.75	18.81	14.80	9.89
R19	<i>F. peregrinus</i>	42	4.8	10.1	3.18	22000	62500	132.08	31.76	24.05
R36	<i>F. sparverius</i>	27	3.2	7.4	2.77	11500	39000	97.47	26.71	27.41
R121	<i>F. sparverius</i>	43	3.4	11.5	3.49	7000	21000	123.21	32.95	26.74
R93	<i>I. plumbea</i>	46	3.8	10.5	2.84	6500	33500	161.97	36.97	22.83
R40	<i>L. cayanensis</i>	35	5.4	8	2.29	22000	59000	152.84	34.93	22.86
R103	<i>L. cayanensis</i>	37	6.2	8.8	1.85	11500	34000	200.00	47.57	23.78
R105	<i>L. cayanensis</i>	37	5.4	8.8	1.62	20000	21500	228.40	54.32	23.78
Média		36.33	5.67	8.53	1.92	17833.33	38166.67	193.74	45.61	23.47
DP		1.15	0.46	0.46	0.34	5575.24	19094.07	38.16	9.84	0.53
R30	<i>M. chimachima</i>	43	5.2	11.6	2.19	4000	8000	196.35	52.97	26.98
R97	<i>M. chimachima</i>	35	2.2	9.1	1.95	19000	17500	179.49	46.67	26.00
R99	<i>M. chimachima</i>	48	4.2	9.9	3.12	13500	39000	153.85	31.73	20.63
R100	<i>M. chimachima</i>	43	4.8	9.5	1.99	15000	21500	216.08	47.74	22.09
Média		42.25	4.10	10.03	2.31	12875.00	21500.00	186.44	44.78	23.92
DP		5.38	1.33	1.10	0.55	6355.77	12967.91	26.38	9.12	3.05
R13	<i>R. magnirostris</i>	33	4.8	7.3	2.37	68500	73500	139.24	30.80	22.12
R16	<i>R. magnirostris</i>	29	5.4	6.3	2.15	19000	71000	134.88	29.30	21.72
R17	<i>R. magnirostris</i>	31	5.8	7.9	1.71	38000	46000	181.29	46.20	25.48
R32	<i>R. magnirostris</i>	41	4.4	11.2	1.89	5000	7000	216.93	59.26	27.32
R33	<i>R. magnirostris</i>	46	5.4	13.7	3.16	11500	21500	145.57	43.35	29.78
R34	<i>R. magnirostris</i>	44	4.8	12.3	2.62	9000	15000	167.94	46.95	27.95
R42	<i>R. magnirostris</i>	36	6.8	7.8	2.37	11500	56500	151.90	32.91	21.67
R48	<i>R. magnirostris</i>	31	4.2	7.1	1.69	7500	13000	183.43	42.01	22.90
R72	<i>R. magnirostris</i>	37	9.2	6.2	2.05	29000	113000	180.49	30.24	16.76
R96	<i>R. magnirostris</i>	38	4.6	8.8	2.44	7500	25000	155.74	36.07	23.16
R101	<i>R. magnirostris</i>	44	4.2	10.8	2.43	13500	26500	181.07	44.44	24.55
R102	<i>R. magnirostris</i>	39	4.2	9	2.39	16500	30500	163.18	37.66	23.08
R118	<i>R. magnirostris</i>	31	4	6.4	2.34	16500	40500	132.48	27.35	20.65

Animal	Espécie	Ht	PT	Hb	He	Leu	Tromb	VCM	HCM	CHCM
R132	<i>R. magnirostris</i>	30	3	5.9	1.51	18000	54500	198.68	39.07	19.67
Média		36.43	5.06	8.62	2.22	19357.14	42392.86	166.63	38.97	23.34
DP		5.77	1.50	2.48	0.43	16701.48	29264.82	25.07	8.79	3.46

Diferencial de leucócitos – Falconiformes

Tabela 8. Contagem diferencial de leucócitos, em números absolutos (/mm³), de Falconiformes. São Paulo - 2010

Animal	Espécie	Hetero (/mm ³)	Linfo (/mm ³)	Mono (/mm ³)	Eos (/mm ³)	Baso (/mm ³)
R23	<i>B. albicaudatus</i>	3990	77.03056769	19.07423581	10.4	0
R24	<i>B. albicaudatus</i>	3655	98.87700535	25.52406417	11.1	0
R31	<i>B. brachyurus</i>	4500	82.65306122	21.12244898	11.5	0
R18	<i>C. plancus</i>	15525	6075	675	0	225
R25	<i>C. plancus</i>	5400	5400	120	960	120
R26	<i>C. plancus</i>	2805	2365	165	110	55
R27	<i>C. plancus</i>	4800	1760	80	1200	160
R28	<i>C. plancus</i>	7125	1900	95	285	95
R29	<i>C. plancus</i>	2280	1400	120	200	0
R35	<i>C. plancus</i>	37410	4350	1305	0	435
R39	<i>C. plancus</i>	6300	3780	210	0	210
R77	<i>C. plancus</i>	14700	2275	0	0	525
R98	<i>C. plancus</i>	5780	10200	340	340	340
R113	<i>C. plancus</i>	20350	6325	550	0	275
R117	<i>C. plancus</i>	27375	8030	0	1095	0
Média		12487.50	4488.33	305.00	349.17	203.33
DP		11028.95	2787.93	378.51	461.87	166.98
R43	<i>E. leucurus</i>	8215	6045	775	465	0
R94	<i>E. leucurus</i>	5325	1125	375	375	300
R1	<i>F. femoralis</i>	6375	975	75	0	75
R38	<i>F. femoralis</i>	6300	975	225	0	0
R104	<i>F. femoralis</i>	3840	3760	240	80	80
Média		5505.00	1903.33	180.00	26.67	51.67
DP		1442.42	1607.92	91.24	46.19	44.81
R19	<i>F. peregrinus</i>	26250	55.47169811	13.33962264	10.1	0
R36	<i>F. sparverius</i>	8510	2530	230	0	230
R121	<i>F. sparverius</i>	4060	2590	70	0	280

Animal	Espécie	Hetero (/mm ³)	Linfo (/mm ³)	Mono (/mm ³)	Eos (/mm ³)	Baso (/mm ³)
(conclusão)						
R93	<i>I. plumbea</i>	15410	74.50704225	17.00704225	10.5	0
R40	<i>L. cayanensis</i>	11000	6160	1540	2640	660
R103	<i>L. cayanensis</i>	2415	6785	0	1955	345
R105	<i>L. cayanensis</i>	10400	7200	400	1800	200
Média		7938.33	6715.00	646.67	2131.67	401.67
DP		4792.75	523.52	799.08	447.00	235.18
R30	<i>M. chimachima</i>	2400	1400	80	0	120
R97	<i>M. chimachima</i>	17100	1900	0	0	0
R99	<i>M. chimachima</i>	7695	5265	0	135	405
R100	<i>M. chimachima</i>	7950	6450	0	150	450
Média		8786.25	3753.75	20.00	71.25	243.75
DP		6104.45	2485.30	40.00	82.50	218.53
R13	<i>R. magnirostris</i>	30140	17125	0	21235	0
R16	<i>R. magnirostris</i>	12540	4560	950	950	0
R17	<i>R. magnirostris</i>	27740	6840	1140	2280	0
R32	<i>R. magnirostris</i>	1600	1300	100	1800	200
R33	<i>R. magnirostris</i>	8050	1955	115	1265	115
R34	<i>R. magnirostris</i>	4860	2610	180	1260	90
R42	<i>R. magnirostris</i>	6210	4830	115	345	0
R48	<i>R. magnirostris</i>	3600	2475	525	750	150
R72	<i>R. magnirostris</i>	22040	4060	0	2030	870
R96	<i>R. magnirostris</i>	3750	2325	1050	150	225
R101	<i>R. magnirostris</i>	7155	4590	0	1080	675
R102	<i>R. magnirostris</i>	8250	5445	0	2310	495
R118	<i>R. magnirostris</i>	14355	1650	0	330	165
R132	<i>R. magnirostris</i>	12600	3060	900	720	720
Média		11635.00	4487.50	362.50	2607.50	264.64
DP		9056.94	3974.80	448.88	5408.13	298.34

5.2.2 Pesquisa de hemoparasitos

Foram confeccionadas 137 extensões sanguíneas de 132 aves de rapina. Amostras sanguíneas seriadas foram coletadas de um gavião-carijó (*Rupornis magnirostris* – R13 e R16), uma coruja-orelhuda (*Asio clamator* – R47 e R76) uma corujinha-do-mato (*Megascops choliba* - R44, R45, R50 e R62).

Foram encontrados hemosporídeos nas extensões sanguíneas de apenas 5,26% dos rapinantes avaliados. Os hemoparasitos foram visualizados apenas em exemplares da espécie

Megascops choliba mantidas em cativeiro no DEPAVE, em coletas que foram realizadas em datas que variaram de outubro de 2008 a junho de 2009. Das 21 corujinhas-do-mato analisadas, foram encontrados hemosporídeos em 7 delas (Tabela 9), compreendendo 33,33% de infecção para esta espécie, no presente estudo.

Tabela 9. Parasitemia por hemosporídeos (Sporozoa:Haemosporidae), expressa em número de hemácias infectadas por 10.000 hemácias. São Paulo - 2010

Amostra	Parasitemia
R20	72,81
R44*	44,80
R49*	3,18
R50*	2,04
R62*	0,96
R65	3,83
R66	37,00
R67	102,61
R110	0,80
R111	4,75

*Coletas seriadas de um mesmo animal

Na análise dos esfregaços sanguíneos da corujinha 36410 (caso números R44, R49, R50 e R62), verificou-se uma diminuição progressiva da parasitemia. A diminuição mais significativa ocorreu na primeira semana, como se observa no gráfico abaixo (Figura 10). No primeiro dia de coleta, dia 05/03/2009, verificou-se parasitemia elevada, estando infectadas 44,81 de 10.000 hemácias. Apenas sete dias depois, no dia 12/03/2009 (coleta 2), houve significativa redução da parasitemia (3,18 hemácias infectadas, a cada 10.000 hemácias). Nas duas coletas seguintes (coletas 3 e 4), esse índice continuou diminuindo.

Figura 10. Parasitemia por hemosporídeos (Sporozoa:Haemosporidae) nas amostras R44, R49, R50 e R62 (*Megascops choliba*). Data de coleta x número de hemácias infectadas por 10.000 hemácias. São Paulo - 2010

Morfologia dos hemosporídeos visualizados nas extensões sanguíneas

Foram encontrados hemosporídeos de formas variadas nas extensões sanguíneas, que podem corresponder aos gêneros *Plasmodium* e *Haemosporidae*. Não foram encontradas formas que correspondessem ao gênero *Leucocytozoon* em nenhuma das extensões sanguíneas analisadas.

Amostra número R20

Na amostra número R20, foram encontradas formas eritrocitárias variadas. O índice de infecção foi de 72,81 hemácias infectadas, em 10.000 hemácias. Os gametócitos eram geralmente alongados (algumas formas elipsóides foram observadas – Figura 11) e envolviam o núcleo quando mais desenvolvidos, mas não completamente. Foram visualizados muitos gametócitos jovens. Quando em estágio mais avançado de desenvolvimento, o gametócito não se encostava ao núcleo, e o deslocava levemente para a lateral da célula. O macrogametócito corava-se de azul intenso, e o microgametócito, de rosa pálido (Figura 12). O macrogametócito, em geral, exibia mais grânulos acastanhados do que o microgametócito.

Figura 11. Forma alongada, envolvendo o núcleo e deslocando-o discretamente para a lateral (seta azul). Forma elipsóide provocando maior deslocamento do núcleo (seta vermelha). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R20) - São Paulo - 2010

Figura 12. Macrogametócito (seta azul), e microgametócito (seta vermelha). Hemácias e quatro trombócitos. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R20) - São Paulo - 2010

Amostras número R44, R49, R50 e R62

O animal apresentou elevada parasitemia apenas na primeira coleta, havendo intensa diminuição nas coletas seguintes. Não houve muita variação nas formas observadas. Os trofozoítos apresentavam-se como estruturas pequenas, com coloração basofílica. Os gametócitos apresentavam-se arredondados ou levemente elipsóides, com alguns grânulos escuros ou acastanhados. Deslocavam consideravelmente o núcleo para o pólo da hemácia hospedeira, geralmente provocando rotação do eixo do núcleo (Figura 13). Quando bem desenvolvidas, essas formas ocupavam até a metade do citoplasma da célula parasitada. Não foram observadas formas alongadas.

Figura 13. Macrogametócito (seta vermelha), elipsóide e deslocando o núcleo para o pólo do eritrócito; e trofozoíto (seta azul). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R44, R49, R50 e R62) - São Paulo - 2010

Amostra número R65

As formas encontradas nesse animal eram semelhantes às observadas na amostra número R20. A parasitemia foi de 3,83 hemácias infectadas, em 10.000 hemácias. Os gametócitos eram alongados, envolvendo o núcleo, provocando deslocamento mínimo ou nulo (Figura 14). Um gametócito em estágio avançado de desenvolvimento foi visualizado, e envolvia totalmente o núcleo, ocupando todo o citoplasma, encostando as extremidades (Figura 15).

Figura 14. Gametócitos em eritrócitos (setas azuis). Trombócito (seta vermelha). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R65) - São Paulo - 2010

Figura 15. Microgametócito em eritrócito (seta vermelha): ausência de deslocamento do núcleo, grânulos de hemozoína em quantidade moderada, coloração rosa-pálida. Linfócito (seta azul). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R65) - São Paulo - 2010

Amostra número R66

Esse animal apresentou 37,00 hemácias infectadas por hemoprotozoário, em 10.000 hemácias observadas. As formas encontradas se assemelharam às observadas nas amostras R20 e R65. Os gametócitos geralmente apresentavam-se alongados, não encostavam no núcleo e causavam deslocamento mínimo ou nulo deste. Quando em estágio avançado de desenvolvimento, o gametócito ocupava mais da metade do citoplasma (Figura 16).

Figura 16. Macrogametócito (seta azul), e microgametócito (seta vermelha), em eritrócitos. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R66) - São Paulo - 2010

Amostra número R67

A parasitemia encontrada nesse animal, no momento da coleta, foi a mais alta observada. De cada 10.000 hemácias analisadas, 120 hemácias estavam infectadas por

hemosporídeos. As formas observadas nessa amostra foram bem semelhantes às já descritas anteriormente nos animais R20, R65 e R66. Os gametócitos eram alongados, provocavam pouco (em estágios mais desenvolvidos) ou nenhum deslocamento do núcleo. Quando mais maduros, os gametócitos envolviam todo o núcleo, mas não chegavam a circundá-lo por completo (Figura 17).

Figura 17. Macrogametócitos (setas azuis) e microgametócitos (setas vermelhas). Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R67) - São Paulo - 2010

Amostra número R110

A parasitemia dessa amostra foi de 0,8 hemácias infectadas, em 10.000 hemácias, havendo dificuldade na visualização das formas de hemosporídeos em eritrócitos. As poucas formas observadas apresentavam-se alongadas e robustas, preenchendo grande parte do citoplasma do eritrócito e deslocando consideravelmente o núcleo para a lateral da célula (Figura 18).

Figura 18. Macrogametócito. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R110) - São Paulo – 2010

Amostra número R111

As formas observadas nessa amostra são semelhantes às anteriormente descritas. Foram visualizados apenas gametócitos alongados (Figura 19). Quando em estágio mais avançado de desenvolvimento, os gametócitos assumiam uma forma mais robusta e podiam provocar discreto deslocamento do núcleo.

Figura 19. Microgametócito. Coloração: May-Grünwald-Giemsa, técnica de Rosenfeld. *Megascops choliba* (R111) - São Paulo - 2010

5.2.3 Mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas

⇒ *Totalidade dos animais*

A atividade de colinesterase dos 137 animais está exposta na tabela 10. Nas tabelas 11, 12, 13, 14, 15 e 16, os valores foram expostos conforme grupos determinados.

Tabela 10. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetilcolina degradados por minuto por mL de plasma de Rapinantes - São Paulo - 2010

Animal	Atividade de Colinesterase	Animal	Atividade de Colinesterase
R1	0.29		(continua)
R2	1.43	R8	0.75
R3	1.09	R9	0.85
R4	1.35	R10	0.74
R5	0.70	R11	0.61
R6	1.16	R12	1.28
R7	1.04	R13	0.64

Animal	Atividade de Colinesterase	Animal	Atividade de Colinesterase
R14	1.86		(continua)
R15	1.17	R59	1.07
R16	0.74	R60	0.84
R17	0.64	R61	1.06
R18	0.39	R62	Não há
R19	0.58	R63	1.90
R20	2.29	R64	2.44
R21	2.15	R65	2.86
R22	2.58	R66	1.99
R23	0.48	R67	2.72
R24	0.67	R68	1.80
R25	0.80	R69	Não há
R26	0.36	R70	0.45
R27	0.45	R71	1.08
R28	0.72	R72	0.78
R29	0.36	R73	0.83
R30	1.13	R74	0.78
R31	0.58	R75	1.26
R32	0.91	R76	0.95
R33	0.59	R77	0.25
R34	0.82	R78	0.71
R35	0.55	R79	0.62
R36	0.76	R80	0.59
R37	0.73	R81	0.68
R38	0.43	R82	1.10
R39	0.31	R83	0.95
R40	3.22	R84	1.12
R41	0.84	R85	0.84
R42	0.67	R86	0.94
R43	0.58	R87	0.98
R44	1.57	R88	0.52
R45	1.03	R89	0.91
R46	2.09	R90	1.16
R47	0.84	R91	0.85
R48	0.48	R92	0.84
R49	1.68	R93	0.83
R50	1.11	R94	0.47
R51	0.90	R95	0.53
R52	0.39	R96	0.55
R53	0.33	R97	0.66
R54	0.84	R98	0.14
R55	0.59	R99	0.73
R56	0.90	R100	0.62
R57	0.89	R101	0.48
R58	1.09	R102	0.45

Animal	Atividade de Colinesterase	Animal	Atividade de Colinesterase
R103	1.00		(conclusão)
R104	0.72	R122	1.04
R105	1.40	R123	0.78
R106	0.34	R124	0.92
R107	0.67	R125	1.31
R108	0.62	R126	0.72
R109	0.88	R127	1.16
R110	2.09	R128	0.97
R111	2.06	R129	1.25
R112	1.67	R130	0.94
R113	0.43	R131	1.18
R114	0.61	R132	0.25
R115	0.52	R133	1.18
R116	1.22	R134	1.06
R117	0.38	R135	0.96
R118	0.42	R136	0.94
R119	1.36	R137	0.80
R120	0.86	Média	0.85
R121	0.67	DP	0.56

⇒ *Por espécie*

Tabela 11. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmol s de acetilcolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a espécie - São Paulo - 2010

Espécie	Média	DP	n
<i>Athene cunicularia</i>	1.04	0.25	7
<i>Buteo albicaudatus</i>	0.57	..	2
<i>Buteo brachyurus</i>	0.58	..	1
<i>Caracara plancus</i>	0.43	0.18	12
<i>Elanus leucurus</i>	0.52	..	2
<i>Falco femoralis</i>	0.48	0.22	3
<i>Falco peregrinus</i>	0.58	..	1
<i>Falco sparverius</i>	0.71	..	2
<i>Ictinea plumbea</i>	0.83	..	1
<i>Leptodon cayanensis</i>	1.87	1.18	3
<i>Megascops choliba</i>	1.85	0.54	22
<i>Mivalgo chimachima</i>	0.79	0.23	4
<i>Asio clamator</i>	0.80	0.24	28
<i>Pulsatrix koeniswaldiana</i>	1.00	..	2
<i>Pulsatrix perspicillata</i>	0.80	0.24	3
<i>Rupornis magnirostris</i>	0.60	0.18	14
<i>Strix virgata</i>	0.99	0.12	5
<i>Tyto alba</i>	0.89	0.24	23

⇒ *Por Ordem*

Tabela 12. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a Ordem - São Paulo - 2010

Ordem	Média	DP	n
Strigiformes	1.12	0.54	90
Falconiformes	0.65	0.46	45

⇒ *Por sexo*

Tabela 13. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme o sexo - São Paulo - 2010

Sexo	Média	DP	n
Machos	0.89	0.50	83
Fêmeas	1.07	0.63	52

⇒ *Por idade*

Tabela 14. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a idade - São Paulo - 2010

Idade	Média	DP	n
Jovens	0.88	0.46	31
Adultos	0.99	0.58	104

⇒ *Por estado de saúde*

Tabela 15. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme o estado de saúde - São Paulo - 2010

POR ESTADO DE SAÚDE	Média	DP	n
Hígidos	0.87	0.43	87
Não-hígidos	1.13	0.70	48

⇒ *Por hemoparasitose*

Tabela 16. Valores de atividade de colinesterase plasmática, em μmols de acetiltiocolina degradados por minuto por mL de plasma, conforme a presença ou não de hemoparasitose no sangue - São Paulo - 2010

POR HEMOPARASITOSE	Média	DP	n
Positivo para hemoparasitos	1.87	0.74	10
Negativo para hemoparasitos	0.89	0.47	125

5.3 Análise Estatística

Análise descritiva da população estudada

As tabelas 17 e 18 apresentam um sumário descritivo dos espécimes estudados, em função de suas espécies, gêneros, grupos etários, massa corpórea média, origens e condição de higidez.

Tabela 17. Sumário dos espécimes estudados em função da espécie, gênero e massa corpórea - São Paulo - 2010

Ordem	Espécie	Machos	Fêmeas	Jovens	Adultos	Massa corpórea média	Total
Falconiformes	<i>Buteo albicaudatus</i>	1	1	1	1	-	2
	<i>Buteo brachyurus</i>	-	1	-	1	-	1
	<i>Caracara plancus</i>	6	6	3	9	916,2	12
	<i>Elanus leucurus</i>	1	1	-	2	239,5	2
	<i>Falco femoralis</i>	3	-	-	3	261,3	3
	<i>Falco peregrinus</i>	1	-	1	-	510,0	1
	<i>Falco sparverius</i>	2	-	1	1	90,0	2
	<i>Ictinea plumbea</i>	1	-	-	1	240,0	1
	<i>Leptodon cayanensis</i>	-	3	-	3	698,8	3
	<i>Mivalgo chimachima</i>	2	2	-	4	348,3	4
	<i>Rupornis magnirostris</i>	12	2	1	13	272,3	14
	Total	29	16	7	38	446,8	45
Strigiformes	<i>Athene cunicularia</i>	4	3	-	7	157,7	7
	<i>Megascops choliba</i>	14	10	3	21	117,5	24
	<i>Asio clamator</i>	19	9	11	17	454,4	28
	<i>Pulsatrix koenigswaldiana</i>	1	1	-	2	675,0	2
	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	2	1	-	3	683,3	3
	<i>Strix virgata</i>	2	3	-	5	423,0	5
	<i>Tyto alba</i>	13	10	10	13	385,8	23
	Total	55	37	24	68	337,3	92
Total geral		84	53	31	106	366,2	137

Tabela 18. Sumário dos espécimes estudados em função da origem e condição de higidez - São Paulo - 2010

Ordem	Espécie	Vida livre	Cativeiro	Não hígidos	Hígidos	Total
Falconiformes	<i>Buteo albicaudatus</i>	-	2	-	2	2
	<i>Buteo brachyurus</i>	-	1	-	1	1
	<i>Caracara plancus</i>	6	6	5	7	12
	<i>Elanus leucurus</i>	1	1	-	2	2
	<i>Falco femoralis</i>	2	1	1	2	3
	<i>Falco peregrinus</i>	1	-	-	1	1
	<i>Falco sparverius</i>	2	-	1	1	2

(continua)

	Espécie	Vida livre	Cativeiro	Não hígidos	Hígidos	Total
(conclusão)						
	<i>Ictinea plumbea</i>	-	1	-	1	1
	<i>Leptodon cayanensis</i>	1	2	-	3	3
	<i>Mivalgo chimachima</i>	-	4	-	4	4
	<i>Rupornis magnirostris</i>	7	7	6	8	14
	Total	20	25	13	32	45
Strigiformes	<i>Athene cunicularia</i>	7	-	4	3	7
	<i>Megascops choliba</i>	22	2	18	6	24
	<i>Asio clamator</i>	22	6	12	16	28
	<i>Pulsatrix koeniswaldiana</i>	-	2	-	2	2
	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	-	3	-	3	3
	<i>Strix virgata</i>	-	5	-	5	5
	<i>Tyto alba</i>	5	18	2	21	23
	Total	56	36	36	56	92
Total geral		76	61	49	88	137
Ordem	Espécie	Vida livre	Cativeiro	Não hígidos	Hígidos	Total

A massa corpórea não apresentou distribuição normal entre Falconiformes ($AD=2.143$, $P<0.005$) ou entre Strigiformes ($AD=2.709$, $P<0.005$), e não houve diferenças entre estas ordens ($W=2266$, $P=0.2961$). Não houve diferenças significativas na massa corpórea entre jovens e adultos de Falconiformes ($W=447$, $P=0.5913$) ou de Strigiformes ($W=3178$, $P=0.8274$).

Hematologia

A tabela 19 apresenta um sumário dos resultados hematológicos para os Falconiformes e Strigiformes estudados.

Tabela 19. Sumário dos resultados hematológicos - São Paulo - 2010

	Falconiformes	Strigiformes	P	Significativo	Total
(continua)					
Hemácias (x106/mm3)	2.40 ± 0.48	2.16 ± 0.48	0.870	Não	2.24 ± 0.49
Hemoglobina (g/dl)	9.51 ± 2.49	8.79 ± 1.79	0.345	Não	9.02 ± 2.07
Hematócrito (%)	39.1 ± 6.6	38.1 ± 5.5	0.205	Não	38.4 ± 5.9
VCM (fl)	167 ± 29	182 ± 38	0.267	Não	177 ± 36
HCM (pg)	40 ± 10	42 ± 12	0.402	Não	42 ± 12
CHCM (%)	24 ± 4	23 ± 3	0.872	Não	23 ± 4
Prot. Total (g/dl)	4.49 ± 1.19	4.31 ± 0.86	0.140	Não	4.37 ± 0.98
Leucócitos (/mm3)	15811 ± 12142	16934 ± 10151	0.633	Não	16563 ± 10818
Trombócitos (/mm3)	34278 ± 24529	43945 ± 25725	0.043	Sim	40746 ± 25654
Het (/mm3)	9981 ± 8267	8101 ± 8392	0.611	Não	8718 ± 8368
Linfo (/mm3)	4123 ± 2950	6265 ± 3438	0.068	Marginalmente	5562 ± 3427
Mono (/mm3)	287 ± 397	675 ± 1015	0.290	Não	547 ± 880

	Falconiformes	Strigiformes	P	Significativo	Total (conclusão)
Eos (/mm ³)	1204 ± 3154	1464 ± 1979	0.191	Não	1378 ± 2420
Bas (/mm ³)	217 ± 222	245 ± 300	0.256	Não	236 ± 276
Het/Linf	2.90 ± 2.24	1.85 ± 2.42	0.255	Não	2.19 ± 2.40
Anisocitose	0.52 ± 0.66	0.65 ± 0.61	0.086	Não	0.61 ± 0.63
Policromasia	0.39 ± 0.78	0.37 ± 0.53	0.644	Não	0.38 ± 0.63
Hipocromasia	0.09 ± 0.47	0.25 ± 0.73	0.065	Marginalmente	0.20 ± 0.66
Pecilocitose	0.14 ± 0.35	0.11 ± 0.35	0.913	Não	0.12 ± 0.35
Eritroplastídeos	0.14 ± 0.35	0.04 ± 0.19	0.932	Não	0.07 ± 0.26

Hemoparasitos

Sete animais apresentaram hemoparasitos, sendo eles pertencentes a apenas uma espécie, *Megascops choliba*. A ocorrência de hemoparasitos não foi significativamente diferente entre as ordens estudadas ($P=0.1013$), embora tenha sido subjetivamente mais freqüente em Strigiformes (11%) do que em Falconiformes (0%). Entre os Falconiformes, não houve diferença significativa entre os gêneros (machos ou fêmeas - $P=0.3556$), grupos etários (jovens ou adultos - $P>0.99$), origens (cativeiro ou vida livre - $P>0.99$) ou higidez (hígido ou não-hígido - $P>0.99$). O mesmo ocorreu entre os Strigiformes para gêneros e grupos etários (respectivamente: $P=0.7345$ e $P=0.4449$), porém houve diferença relevante na ocorrência de infecção entre animais clinicamente hígidos ou não ($P<0.0001$), sendo que a hemosporidiose foi ausente em todos os animais clinicamente hígidos, porém presente em 20,4% dos animais com desordens clínicas.

Quantitativamente, a parasitemia mediana foi de 3,8 hemácias parasitadas por 10.000 hemácias (mín = 0.8, Q1 = 2, Q3 = 44.8, máx = 102.6). Os seguintes parâmetros hematológicos não apresentaram diferenças estatísticas em função da presença ou ausência de hemoparasitos ($P>0.05$): hematócrito, hemoglobina, hemácias, leucócitos totais, proporção heterófilos:linfócitos, heterófilos, linfócitos, basófilos, policromasia, hipocromasia, pecilocitose, eritroplastídeos. Por outro lado, os seguintes parâmetros mostraram-se diferentes entre animais com presença ou ausência de hemoparasitos: proteína plasmática total ($T=-3.64$, $gl=16$, $P=0.002$; ausência = 4.31 ± 0.99 , presença = 5.00 ± 0.55), trombócitos ($T=-2.40$, $gl=9$, $P=0.040$; ausência = 38357 ± 22449 , presença = 70850 ± 42258), monócitos ($T=-2.34$, $gl=10$, $P=0.042$; ausência = 479 ± 819 , presença = 1330 ± 1184) e anisocitose ($T=-3.04$, $gl=20$, $P=0.006$; ausência = 0.578 ± 0.648 , presença = 0.909 ± 0.302). Não foram observadas correlações significativas entre a quantificação da parasitemia e os parâmetros hematológicos,

com a única exceção da anisocitose ($r^2=0.483$, $P=0.011$), que apresentou uma relação inversamente proporcional ($\text{Anisocitose} = 1.07 - [0.00626 * \text{Parasitemia}]$).

Atividade plasmática de colinesterase

A atividade de colinesterases plasmáticas apresentou uma distribuição normal após a conversão e logaritmo natural ($AD= 0.548$, $P=0.156$), com uma média geométrica de 0,8333 micromoles/mL (intervalo de 95% de confiança da média geométrica: 0.7595 – 0.9132) e desvio padrão geométrico de 1,7087 $\mu\text{mol}/\text{mL}$. A figura 20 apresenta a distribuição dos resultados de atividade de colinesterases plasmáticas, e a curva normal do logaritmo natural deste parâmetro.

A atividade de colinesterases plasmáticas apresentou diferenças estatísticas significativas entre Falconiformes ($0,5705 \pm 1,6497 \mu\text{mol}/\text{mL}$) e Strigiformes ($1,0070 \pm 1,5620 \mu\text{mol}/\text{mL}$) ($T=-6.45$, $gl=79$, $P<0.001$). Não houve diferenças significativas entre gêneros e grupos etários dentre os Falconiformes ou Strigiformes.

Não foi observada diferença na atividade de colinesterases plasmáticas entre os Falconiformes de animais de cativeiro e de vida livre ($T=0.42$, $gl=39$, $P=0.674$), porém houve uma diferença entre os Falconiformes hígidos e não-hígidos ($T=-2.31$, $gl=42$, $P=0.026$), sendo que os animais não hígidos apresentaram valores surpreendentemente mais baixos ($1,6141 \pm 1,1970 \mu\text{mol}/\text{mL}$) do que os animais considerados clinicamente hígidos ($2,0485 \pm 1,6728 \mu\text{mol}/\text{mL}$).

Entre os Strigiformes, houve diferença significativa entre animais de cativeiro e de vida livre ($T=-4.14$, $gl=82$, $P<0.001$), sendo que os espécimes de cativeiro apresentaram valores mais baixos de atividade de colinesterases plasmáticas ($0.8109 \pm 1.4355 \mu\text{mol}/\text{mL}$) do que os de vida livre ($1,1561 \pm 1,5574 \mu\text{mol}/\text{mL}$). A condição de hígidez não foi relacionada à atividade de colinesterases plasmáticas nos Strigiformes de vida livre ou de cativeiro.

Figura 20. Histograma da atividade de colinesterases plasmáticas nos animais estudados - São Paulo - 2010

Nenhum parâmetro hematológico apresentou correlação significativa ($P < 0.05$ e $r^2 > 0.60$) com a atividade de colinesterases plasmáticas nos Falconiformes (testes controlados para a origem de vida livre ou de cativeiro), e tampouco nos Strigiformes (testes controlados para a condição de hígidez). As exceções mais próximas de apresentar correlação significativa foram: a contagem de eosinófilos em Strigiformes hígidos ($P < 0.001$, $r^2 = 0.359$), em que as contagens deste leucócito apresentaram uma relação diretamente proporcional à atividade de colinesterases plasmáticas (Eosinófilos = $-1933 + [3358 * \text{Colinesterase}]$); e a contagem de trombócitos em Strigiformes não-hígidos ($P = 0.002$, $r^2 = 0.374$), em que as contagens apresentaram relação diretamente proporcional à atividade de colinesterases plasmáticas (Trombócitos = $15932 + [31090 * \text{Colinesterase}]$).

A atividade de colinesterases plasmáticas foi significativamente diferente entre os animais com hemoparasitos (mediana geométrica = $2,0132 \mu\text{mol}/\text{mL}$) e sem hemoparasitos (mediana geométrica = $0,8331 \mu\text{mol}/\text{mL}$) ($W = 8055$, $P = 0.0002$). Não houve, porém, correlação significativa entre a atividade de colinesterases plasmáticas e a quantificação de parasitemia ($P = 0.194$, $r^2 = 0.101$).

6 DISCUSSÃO

Os animais envolvidos neste trabalho foram provenientes de diversas Instituições do Estado de São Paulo, sendo o DEPAVE, o PZMQB e o PET as que colaboraram de maneira mais significativa para esta amostragem. O PET e o DEPAVE são locais que recebem animais vindos de apreensão pela Polícia Ambiental, ou através de munícipes, clínicas-veterinárias, entre outros. Essas Instituições realizam um trabalho de reabilitação do animal recebido, com o principal intuito de reintegrá-lo a vida urbana-silvestre de onde veio. Funcionam, assim, como Centros de Triagem e de Reabilitação.

As aves de rapina são encaminhadas aos Centros de Triagem por diversos fatores, sendo o principal deles os processos traumáticos. Joppert (2007) relatou que 29,8% das mortes de rapinantes ocorreram no DEPAVE no período de outubro de 2002 e maio de 2006 devido a processos traumáticos. Entre setembro de 2001 e setembro de 2003 foram encaminhados ao Zoológico Municipal de Guarulhos 38 aves de rapina de vida livre. Os principais motivos do encaminhamento foram históricos de acidentes ou incapacidade para o voo, invasão de residências ou empresas e encontro de filhotes aparentemente órfãos ou abandonados. A principal causa de acidente relatada relacionava-se a aves enroscadas em linhas de pipa, seguida de colisões com vidraças ou veículos (IGAYARA-SOUZA et al., 2003). O CETAS de Belo Horizonte relatou que 80% dos 549 espécimes de Strigiformes recebidos no período de 1992 a 2007 foram provenientes de recolhimento, e que os principais fatores que conduziram esses animais ao CETAS foram os acidentes, colisões com veículos e queda de filhotes em espaço urbano (COSTA et al., 2008). Em um estudo retrospectivo realizado no PET, avaliou-se que dos 194 Strigiformes lesionados depositados entre janeiro de 2003 e agosto de 2008, 47,93% (93/194) apresentaram fraturas, cominutivas ou não, de úmero, rádio-ulna e metacarpo; lesões de tecido mole e penas representaram 45,36% (88/194) dos registros; enquanto fraturas de membros inferiores, cominutivas ou não, representaram 6,7% (13/194) dos depósitos (PETRI et al., 2008). No presente estudo, foram avaliadas 137 aves de rapina, das quais 88 (62,88%) não apresentavam alterações clínicas no momento da coleta e eram mantidas em sua maioria em Zoológicos. A grande maioria das 49 aves não-hígidas (37,12%) era mantida para recuperação e reabilitação em Centros de Triagem ou em áreas de serviço clínico nos Zoológicos no momento da coleta, e a principal causa foi a traumática, em acordo com os trabalhos aqui apresentados. Alguns exemplos foram: lesão por linha de pipa, colisões com edifícios e conseqüentes fraturas, filhotes que caíram do ninho, lesão por arame farpado,

etc. Causas não-traumáticas incluíram lesões oculares, tricomoníase, cisto de pena e pneumonia.

6.1 Hemoparasitos

O conhecimento sobre a ocorrência de hemoparasitos em animais silvestres e seus efeitos em populações cativas e de vida livre é insuficiente, no Brasil. Este trabalho verificou um elevado índice de infecção apenas em corujinhas-do-mato, animais comuns em centros urbanos como a região metropolitana de São Paulo.

Neste trabalho, verificou-se a ocorrência de hemosporídeos em 5,30% de todas as aves de rapina aqui estudadas (7/132), ou em 33,33% (7/21) das corujinhas-do-mato (*Megascops choliba*) analisadas. A ocorrência de hemoparasitos não foi significativamente diferente entre as ordens estudadas, embora tenha sido subjetivamente mais freqüente em Strigiformes (11%) do que em Falconiformes (0%). Stabler e Holt (1965) relataram uma taxa de infecção por hemosporídeos de 48% em Falconiformes (90 de 186 estudados) e de 69% em Strigiformes (25 de 36 avaliados), dessa forma também encontrando maior ocorrência nas corujas. Kingston et al. (1976) verificaram infecção por *Plasmodium relictum* em um *Falco rusticolus*, estando 16% das suas hemácias parasitadas, e também em dois *Falco peregrinus*, de 24 (8,33%), os quais apresentaram índices de infecção mais brandos (0,01 a 0,4% das hemácias infectadas). Um estudo com aves de rapina em Oklahoma-EUA verificou a presença de um ou mais hemoparasitos em 29 de 36 Strigiformes (80,5%) e 24 de 50 (48%) dos Falconiformes avaliados (KOCAN; SNELLING; GREINER, 1977), o que mostra também uma maior ocorrência de hemosporídeos em corujas. Kirkpatrick e Lauer (1985) realizaram extensões sanguíneas de 259 rapinantes, representando quatro famílias de Falconiformes e verificaram que 59,1% das aves estavam infectadas com um ou mais de um hemoparasito, dentre os gêneros: *Leucocytozoon* (43,2%), *Haemoproteus* (21,6%), *Plasmodium* (1,2%) e *Trypanosoma* (1,2%). Olsen e Gaunt (1985) relataram que *Haemoproteus* spp ou *Leucocytozoon* spp foram encontrados em 30 (55%) dos 55 rapinantes e os dois protozoários foram encontrados em 4 (7%) dos animais estudados. Cooper e Forbes (1986) descreveram *Leucocytozoon* em um rapinante (*Falco columbarius*). Em uma pesquisa de hemoparasitos em rapinantes na Flórida, Forrester; Foster e Morrison (1994) verificaram que os Strigiformes eram os mais infectados (63%, n=54), seguidos pelos Falconiformes (33%, n=94). Quanto aos

agentes envolvidos, *Haemoproteus* spp foi o mais encontrado (67%), seguido pelo *Plasmodium* (22%), *Leucocytozoon* (9%). Um outro estudo com duas espécies (*Accipiter striatus* e *Accipiter cooperii*) verificou que dos 78 gaviões estudados, 61 (78,2%) estavam infectados com *Leucocytozoon toddi* e 40 (51,28%), com *Haemoproteus* spp, havendo infecções mistas (PHALEN et al., 1995). Hunter, Rohner e Currie (1997) descreveram casos de infecção por *Leucocytozoon* em corujas que foram a óbito no Canadá devido à grande infecção por esse parasito e infestação por seu transmissor. Boal et al. (1998) analisaram extensões sanguíneas de 44 adultos e 18 filhotes de *Accipiter cooperii* no Arizona, encontrando infecção por hemoparasitos em 39% dos adultos e 5% dos filhotes. Os hemoparasitos envolvidos eram: *Leucocytozoon*, *Haemoproteus* e *Plasmodium*, sendo este último encontrado em 21% dos adultos, não sendo verificado em filhotes. Stuth, Bowerman e Best (1999) avaliaram que 13 dos 21 filhotes de águias (*Haliaeetus leucocephalus*) estudados estavam infectados com *Leucocytozoon toddi*. Em 15 espécimes de chimango (*Mivalgo chimango*) do sul do Chile, foram encontrados *Leucocytozoon toddi* em 13 aves, e um filhote também com *Haemoproteus tinnunculi* (FORRESTER; FOSTER; MORRISON, 2001). Em um dos poucos estudos de prevalência de hematozoários especificamente no inverno, de Ment; de Ment e Graczyk (2002) analisaram 87 extensões sanguíneas de 84 aves de rapina, e obtiveram um resultado de 42% de infecção, sendo identificados *Haemoproteus* spp, *Plasmodium elongatum* e *Plasmodium relictum*. Leppert et al. (2004) verificaram que 13 de 113 aves de rapina (11,5%) de três espécies estudadas na região do Cazaquistão estavam infectadas por hemoparasitos. No Brasil, um estudo realizado no Zoológico de Araçatuba mostrou que das 6 aves de rapina avaliadas, apenas uma coruja orelhuda apresentava infecção por *Haemoproteus* (BONELLO; AZEVEDO; POLETO, 2005). Outro trabalho realizado no CETAS de Belo Horizonte (HORTA et al., 2008) verificou que, dos 5 Gaviões-carijós (*Rupornis magnirostris*), 4 Caracarás (*Caracara plancus*), 2 Quiriquiris (*Falco sparverius*), 1 Gavião de Asa-larga (*Buteo platypterus*), 4 Corujas-orelhudas (*Asio clamator*), 3 Jacurutus (*Bubo virginianus*), 1 Suindara (*Tyto alba*) e 1 Caburé (*Glaucidium brasilianum*), totalizando 21 animais, foram observadas formas semelhantes à *Haemoproteus* sp. em 4 aves (19% do total, sendo elas o gavião carijó, jacurutu, coruja-orelhuda e caburé). Krone et al. (2008) verificaram um índice de infecção de 19,8%, em 101 animais avaliados, sendo o *Leucocytozoon* o parasita mais comum, seguido pelo *Plasmodium* spp. O presente estudo vai ao encontro do que foi verificado por outros autores, ou seja, uma maior frequência de ocorrência em Strigiformes (STABLER; HOLT, 1965; KOCAN; SNELLING; GREINER, 1977; FORRESTER; FOSTER; MORRISON, 1994; BONELLO; AZEVEDO; POLETO,

2005; HORTA et al., 2008). Quanto à baixa frequência de ocorrência verificada neste trabalho (11% em Strigiformes, 0% em Falconiformes), o resultado também confirma outros estudos realizados nos trópicos. A prevalência média da região Neotropical é de aproximadamente 10%, significativamente menor do que a encontrada em qualquer outra região zoogeográfica (VALKIUNAS; SALAMAN; IEZHOVA, 2003). Na Colômbia, Valkiunas, Salaman e Iezhova (2003) verificaram uma taxa de infecção por hemoparasitos de 8%, e a quantidade de hemácias infectadas era baixa, geralmente menor que 1%. No presente estudo, a quantidade de hemácias infectadas variou de 0,008% a 1,02%. No Brasil, um estudo realizado no Estado de São Paulo (WOODWORTH-LYNAS; CAINES; BENNETT, 1989) analisou esfregaços sanguíneos de 15.574 aves, representando 266 espécies de 43 famílias. Os resultados demonstraram uma prevalência de apenas 8%, sendo o *Haemoproteus* o gênero mais encontrado, seguido pela microfilária. Das 13 corujinhas-do-mato (*Megascops choliba*) avaliadas, 4 (30,76%) apresentaram hemoparasitos. No presente estudo, das 21 corujinhas-do-mato avaliadas, 10 apresentaram hemosporídeos (47,61%), o que mostra a grande susceptibilidade desta espécie. Na Costa Rica, Valkiunas et al. (2004) encontraram 12,4% das 38 espécies de aves infectadas por hemoparasitos (n = 354), e também verificaram menos de 1% das hemácias infectadas. A identificação dos hemoparasitos só foi possível quando a parasitemia atingiu mais de 0,01% e quando houve grande quantidade de formas adultas no esfregaço sanguíneo. As razões para uma menor ocorrência nos Neotrópicos continuam incertas. É possível que os hemosporídeos aviários dos Neotrópicos sejam originários no Velho Mundo, onde eles são amplamente distribuídos e prevalentes. Provavelmente houve uma penetração na América Central e Sul através da região Neoártica, após o último período glacial, aproximadamente 10.000 a 12.000 anos atrás (VALKIUNAS, 2004).

Não houve diferenças para a frequência de ocorrência de hemosporídeos entre os sexos ou faixa etária. De Ment; de Ment e Graczyk (2002) encontraram maior prevalência em fêmeas (60%) do que machos (35%). Kirkpatrick e Lauer (1985) encontraram o oposto, uma prevalência em 70,3% dos machos e 56,4% das fêmeas.

Assim, através da análise comparativa entre os resultados encontrados aqui e os relatos de literatura, verificamos que a ocorrência de hemosporídeos em aves de rapina é comum, e a taxa de infecção da população estudada é bastante variada. A grande maioria dos artigos reporta índices elevados de infecções em populações de rapinantes, estudos geralmente realizados com animais de vida livre em épocas de migração, quando se torna mais fácil a captura. Ziman et al. (2004) avaliaram se o tempo de permanência em cativeiro influenciava a prevalência de *Haemoproteus* spp e *Leucocytozoon* spp em uma população de rapinantes. Os

resultados indicaram que os jovens e os adultos eram mais propensos a apresentarem infecções por *Leucocytozoon* do que os filhotes; e que os rapinantes mantidos em cativeiro há mais de 365 dias apresentavam-se mais infectados por *Haemoproteus* spp e/ou *Leucocytozoon* spp do que as aves mantidas há menos tempo. Possivelmente, o estresse de cativeiro aumenta a susceptibilidade à infecção (MUNOZ et al., 1999). Este relato não foi observado na única coruja que foi coletada de forma seriada. Houve uma diminuição acentuada na parasitemia na primeira semana de permanência em cativeiro, com diminuição progressiva nas outras coletas. Também foram observadas parasitemias elevadas em animais mantidos há pouco tempo em cativeiro.

A infecção por hemoparasitos das aves mantidas nos Centros de Triagem pode ser altamente prejudicial para a recuperação. Em Centros de Triagem ou Reabilitação, os animais selvagens são mantidos em condições muito adversas àquelas que vivem na natureza. São mantidos em recintos pequenos, impossibilitados de voar, e recebem uma alimentação diferente daquela à qual estavam habituados. Geralmente há uma grande movimentação de pessoas e estímulos sonoros, o que colabora para aumentar o estresse do animal. Além desses fatores, o animal está sendo ali mantido para tratamento de algum processo concomitante, geralmente traumático ou infeccioso. Nessas condições, as infecções subclínicas podem se manifestar (GRACZYK et al., 1994; WALDENSTROM et al., 2002) e prolongar a recuperação do animal. Apesar de rapinantes imunocompetentes tolerarem bem o parasito (CAMPBELL, 1988), os rapinantes mantidos em cativeiro infectados por hemosporídeos levam mais tempo para completarem a reabilitação e apresentam maior mortalidade. Olsen e Gaunt (1985) relataram que o tempo de reabilitação de rapinantes (isto é, o tempo entre o recebimento e a soltura do animal) foi significativamente maior nas aves que se apresentavam infectadas por hemoprotozoários (160 ± 51 dias) do que nas aves livres de hemoparasitos (106 ± 47 dias). Talvez os rapinantes de cativeiro sejam imunocomprometidos e, dessa forma, incapazes de eliminarem os hemoparasitos, porém desenvolvem uma infecção crônica com baixa parasitemia e poucos sinais clínicos (ZIMAN et al., 2004).

A manutenção em cativeiro também pode favorecer a transmissão de hemosporídeos entre as aves, porque elas são mantidas em maior proximidade e se apresentam debilitadas, o que favorece a infecção (ZIMAN, et al., 2004). Dessa forma, deve-se implantar na Instituição um programa de quarentena que realize a avaliação de esfregaços sanguíneos de aves recém-adquiridas. Devem-se atentar também para as medidas preventivas que podem ser instaladas de modo a impedir o repasto sanguíneo de mosquitos nas aves, como as telas nos recintos. O Brasil é um país tropical, de clima quente e úmido, o que favorece a proliferação de vetores

das hemoparasitoses. Assim, medidas profiláticas para evitar os criadouros de mosquitos são altamente recomendáveis.

Deve-se avaliar também que as espécies de hemosporídeos muitas vezes são comuns a muitas espécies de aves, e que os hemosporídeos podem apresentar diferenças de patogenicidade entre os hospedeiros. Dessa forma, alguns rapinantes podem apresentar elevada parasitemia, mas geralmente não mostram sinais clínicos devido à baixa patogenicidade do agente àquele hospedeiro. Podemos citar aqui como exemplo a amostra número R67, de uma ave apresentando estado corporal bom, alerta e sem sinais clínicos de anemia. Assim, a condição de fonte de infecção para outras aves pode não ser percebida pelos clínicos - já que nem sempre é possível realizar exames hematológicos na frequência adequada. Os turdídeos, por exemplo, podem ser infectados pelo *Plasmodium hexamerium*, também encontrado em Strigiformes. Tanto nos sabiás quanto nas corujas, o *P. hexamerium* apresenta baixa patogenicidade. Já o *Plasmodium elongatum*, também encontrado em Strigiformes, é um agente de maior patogenicidade para as aves em geral, e os canários e aves aquáticas infectados freqüentemente morrem em decorrência da infecção (VALKIUNAS, 2005). Portanto, mesmo que os hemoparasitos não sejam particularmente patogênicos para os rapinantes, as aves infectadas podem servir de reservatórios para espécies mais vulneráveis, como as aves aquáticas (ZIMAN, et al., 2004).

Neste estudo, não foram observadas moscas hipobocídeas no momento da coleta sanguínea, o que poderia ser relacionado com a presença de hemosporídeos, pois a mosca hipobocídea hematófaga é vetor de *Haemoproteus* spp. Já os mosquitos estão presentes em praticamente todos os locais, e as medidas de prevenção contra esses insetos são geralmente difíceis de ser aplicadas, o que facilita e favorece a transmissão entre as aves.

Optou-se pela não realização do tratamento dos animais identificados como positivos para hemosporídeos. Nos artigos da literatura pesquisados, os autores não citam o tratamento dos animais infectados. Os medicamentos para a eliminação de hemoparasitos são relativamente difíceis de encontrar e obter, além de apresentarem custo elevado. Além disso, exames hematológicos completos de todos os animais infectados foram realizados, e na maioria dos casos não havia sinais de anemia, como diminuição do hematócrito, ou da hemoglobina. Os sinais clínicos apresentado pela grande parte das corujas, como prostração, apatia, anorexia e desidratação podiam ser decorrentes das afecções concomitantes que os animais apresentavam, motivo de serem mantidos no Centro de Triagem, e não das infecções pelos hemosporídeos. Assim, a não observação de sinais clínicos nos animais parasitados está de acordo com os relatos encontrados na literatura.

Há referências na literatura sobre a dinâmica do índice de parasitemia por hemosporídeos nas aves. A parasitemia aguda dura de 9 a 20 dias em diferentes hospedeiros, e rapidamente diminui após esse período. O índice de parasitemia durante o período crônico de infecção geralmente não excede 10 gametócitos por 10.000 eritrócitos (VALKIUNAS, 2005). Como já discutido anteriormente, postula-se que a condição de cativeiro represente um grande estresse no animal, o qual pode sofrer a ativação de infecções que eram mantidas latentes até então, caracterizando um elevado índice de parasitemia. Ou então, as aves recém-chegadas nos Centros de Triagem ainda estejam muito debilitadas devido a processos traumáticos ou doenças infecciosas, e conseqüentemente apresentam-se imunodeprimidas e mais vulneráveis à transmissão. Passando esse período inicial, o animal pode apresentar uma grande e rápida diminuição na parasitemia, devido à atividade imune (VALKIUNAS, 2005). Isso foi verificado no animal R44 (=R49, R50 e R62), que nos momentos iniciais da chegada na Instituição apresentou uma parasitemia muito elevada, a qual diminuiu acentuadamente após uma semana de permanência. A primeira coleta foi provavelmente realizada no estágio agudo da infecção, seguido pela rápida diminuição da parasitemia, verificada nas coletas seriadas. Pode-se interpretar tal melhora como resultado da ativação do sistema imune da ave, passando da fase aguda para a fase crônica da parasitose.

A análise da morfologia celular realizada nas extensões sanguíneas de todos os rapinantes não revelou nenhuma forma semelhante àquelas do hemosporídeo *Leucocytozoon* spp. Apesar de a literatura relatar a ocorrência de infecções por *Leucocytozoon* spp em Strigiformes (FORRESTER; FOSTER; MORRISON, 1994; HUNTER; ROHNER; CURRIE, 1997), esse gênero de hemosporídeo não foi visualizado nas extensões sanguíneas analisadas neste trabalho. Ziman et al. (2004) também encontraram raros parasitos desse gênero nas extensões sanguíneas analisadas. A prevalência de infecções por *Leucocytozoon* spp é baixa nos Neotrópicos, o que conjuntamente com a pobre composição de espécies e uma completa ausência de espécies endêmicas, indica que o aparecimento do *Leucocytozoon* spp é secundário nessa região. Isso provavelmente está relacionado com a falta de vetores susceptíveis nos Neotrópicos. (VALKIUNAS, 2005).

As formas encontradas são muito parecidas entre si, com exceção do animal R44 (=R49, R50 e R62). Na maioria das células infectadas avaliadas, os gametócitos eram geralmente alongados (algumas formas elipsóides foram observadas) e quando mais desenvolvidos envolviam o núcleo, mas não completamente. Os gametócitos envolviam o núcleo, provocando deslocamento mínimo ou nulo. Quando em estágio mais avançado de desenvolvimento, o gametócito não se encostava ao núcleo, mantendo um pequeno espaço de

citoplasma entre eles, e causava um discreto deslocamento do núcleo para a lateral da célula hospedeira. Um gametócito em estágio avançado de desenvolvimento foi visualizado na amostra R65, e envolvia totalmente o núcleo, ocupando todo o citoplasma, encostando as extremidades. Essa é uma característica típica de hemosporídeos do gênero *Haemoproteus*, uma vez que os parasitos do gênero *Plasmodium* não circundam o núcleo completamente. É também uma chave para o diagnóstico morfológico do *Haemoproteus noctuae*, cujo gametócito cresce ao redor do núcleo e termina circundando-o, sem provocar o seu deslocamento (VALKIUNAS, 2005). O macrogametócito corava-se de azul intenso, e o microgametócito, de rosa pálido. O macrogametócito, em geral, exibia mais grânulos acastanhados do que o microgametócito.

Algumas formas observadas apresentavam-se robustas, preenchendo grande parte do citoplasma do eritrócito e deslocando consideravelmente o núcleo para a lateral da célula, mas foram raras. É muito semelhante à descrição por Valkiunas (2005) sobre o *Haemoproteus syrnii*, “um parasito, cujo gametócito completamente desenvolvido desloca marcadamente o núcleo do eritrócito para a lateral da célula; suas extremidades se aproximam, mas, como regra geral, não envolvem o núcleo completamente”.

Apesar das semelhanças com os *Haemoproteus*, muitos eritrócitos também se apresentavam infectados por parasitos semelhantes aos descritos no gênero *Plasmodium*. Se apenas considerarmos os gametócitos, as formas alongadas também podem ser identificadas como *Plasmodium fallax*, *Plasmodium hexamerium* ou *Plasmodium elongatum*. Essas três espécies de *Plasmodium* apresentam gametócitos alongados, que não deslocam ou causam deslocamento mínimo do núcleo da célula hospedeira quando maduros. Nesses casos, a visualização de merontes auxiliaria na classificação do parasito, mas esses não foram identificados.

Já na análise das formas observadas na amostra R44 (=R49, R50 e R62), os gametócitos apresentavam-se arredondados ou levemente elipsóides, com alguns grânulos escuros ou acastanhados. Deslocavam consideravelmente o núcleo para o pólo da hemácia hospedeira, geralmente provocando rotação do eixo do núcleo. Tais características se assemelham muito às descritas por Valkiunas (2005) para o hemosporídeo *Plasmodium supraecox*.

No entanto, não foi possível classificar os hemosporídeos encontrados apenas pela análise morfológica das estruturas observadas nas extensões sanguíneas. Apesar de algumas chaves nos permitirem excluir algumas espécies das possibilidades existentes, a maioria das características observadas é comum a mais de uma espécie de hemosporídeo, e às vezes a

mais de um gênero. Outra dificuldade encontrada foi o estágio de desenvolvimento observado. Algumas chaves para a identificação morfológica combinam características encontradas nos trofozoítos, merontes e gametócitos, porém na maioria das vezes esses três estágios não são encontrados conjuntamente nas extensões sanguíneas. Não se pode esquecer também que as aves podem apresentar infecções mistas por mais de uma espécie ou gênero de hemosporídeo, o que torna a identificação e classificação dos reais agentes etiológicos ainda mais trabalhosas.

Na análise dos achados hematológicos, a maioria dos animais diagnosticados como positivos não apresentou diminuição no hematócrito, nem nos valores de hemoglobina, achados descritos na literatura em animais infectados por hemosporídeos (SPRINGER, 1984; BENNETT, 1987; HEYDEN, 1996; VALKIUNAS, 2005; CAMPBELL, 2007; ATKINSON, 2008). Os valores encontrados na literatura (SANCHES, 2004) para a corujinha-do-mato (n=14) estão, em sua maior parte, de acordo com os encontrados nos animais presentes nesse estudo. Porém, encontramos alguns animais infectados apresentando alterações hematológicas. Estatisticamente, os animais positivos para hemosporídeos apresentaram contagens significativamente maiores de trombócitos e de monócitos e um maior índice de anisocitose (esta, mais evidente quanto menor a parasitemia).

A amostra número R20 apresentou elevado índice relativo de parasitemia (72 hemácias infectadas, em 10.000 hemácias observadas), porém o hematócrito, hemoglobina, proteína total e índices hematimétricos se encontravam dentro da normalidade. O animal apresentava leucocitose, e foram visualizadas pecilocitose e policromasia (alterações na forma e na coloração das hemácias, respectivamente) na análise morfológica das hemácias.

A corujinha que sofreu coletas seriadas mostrou oscilações em seu hemograma. Na primeira coleta (amostra número R44), quando o índice de parasitemia por hematozoário mostrava-se muito elevado (44,8), o hematócrito estava no limite inferior da normalidade e havia leucocitose. Nesse momento, a ave provavelmente estava passando pelo estágio agudo da infecção. Na segunda coleta (amostra R49), houve um discreto aumento do hematócrito, persistindo a leucocitose, e foi visualizada policromasia (grau 1). O encontro de hemácias policromatofílicas poderia indicar um processo regenerativo do organismo, com a proliferação de novas hemácias para compensar a diminuição no número de glóbulos vermelhos. Na terceira coleta (amostra R50), o animal ainda apresentava alterações hematológicas, sendo que o hematócrito voltou a diminuir, e houve significativa diminuição nos valores de hemoglobina. Persistia ainda a leucocitose. Nesse momento, vale notar que foi verificada intensa hipocromasia (grau 3), policromasia (grau 1) e pecilocitose (grau 1). Essas alterações

podem ser decorrentes do intenso parasitismo por hemosporídeos, aliado ao processo traumático (lesão em ponta de asa) que levou o animal ao DEPAVE. Somente na última coleta (amostra R62), realizada um mês depois da terceira, verificou-se uma melhora nos índices hematológicos, com aumento do hematócrito até os níveis da normalidade, aumento dos valores de hemoglobina e número normal de leucócitos. Na análise morfológica das hemácias, não foram encontradas alterações, o que mostra uma excelente recuperação do animal. Nesse momento, o índice de parasitemia encontrava-se relativamente baixo (0,96), e provavelmente correspondia a um período mais crônico da infecção.

A amostra número R65 apresentou apenas uma leucocitose acentuada, a qual pode ser decorrente tanto da hemoparasitose (3,83 hemácias parasitadas em 10.000 hemácias observadas) quanto da condição clínica do animal, que apresentava uma fratura não consolidada em membro posterior.

As outras amostras não apresentavam alterações hematológicas significativas. Deve-se notar que a amostra número R67 apresentava elevada parasitemia (102,61 hemácias parasitadas em 10.000 hemácias observadas), mas não mostrava anemia, diminuição dos valores de hemoglobina ou mesmo leucocitose. O elevado número de leucócitos verificado na maioria dos animais pode também ser decorrente das afecções clínicas que levaram esses animais às Instituições.

A anisocitose grau 1 verificada na maioria dos animais é considerada normal em aves (CAMPBELL, 2007). A policromasia também é mais vista em aves do que em mamíferos, o que é atribuído à curta vida dos eritrócitos de aves. É considerado normal encontrarmos grau 1 de anisocitose e policromasia no sangue de aves (LANE, 1996).

Os achados hematológicos encontrados nesse trabalho condizem com os relatos de literatura, os quais afirmam que a patogenicidade dos hemosporídeos em rapinantes geralmente é baixa, podendo não haver sinais clínicos e alterações hematológicas (VALKIUNAS, 2005). No entanto, infecções agudas podem ter como consequências diminuição do hematócrito, dos valores de hemoglobina e leucocitose (como observado na amostra número R44), seguido pela cronicidade da infecção e diminuição rápida e intensa da parasitemia (como observados nas coletas seguintes, nas amostras R49, R50 e R62).

As novas possibilidades de diagnóstico com o advento da biologia molecular trazem alternativas mais confiáveis e sensíveis para a determinação da(s) espécie(s) de hemoparasito(s) envolvido(s). No presente trabalho, pela dificuldade na identificação dos gêneros e espécies de hemoparasitos por meio da classificação morfológica, estes foram denominados hemosporídeos. O sistema de classificação adotado por alguns autores pode

gerar erros, uma vez que há grande dificuldade na identificação de gêneros e espécies de hemossporídeos, como detalhado anteriormente. Além disso, já foi aqui discutido o limite de detecção da análise em extensões sanguíneas através da microscopia óptica. Os resultados apresentados no presente estudo podem estar subestimados devido a uma falha diagnóstica. Outros métodos diagnósticos podem ser utilizados para a detecção de hemossporídeos, porém são poucos os países que o fazem. A sorologia possui a desvantagem de reconhecer os anticorpos contra o parasito, e não o parasito em si. Assim, o uso desta técnica para interpretar resultados positivos como infectados depende de assumir que essas aves vão carrear a doença por um grande período de suas vidas. Ao contrário, a microscopia e o PCR de DNA extraído do sangue detectam apenas infecções ativas (FALLON et al., 2003). A técnica de PCR é pelo menos 10 vezes mais sensível em caso de infecções por parasitos do apicomplexo *Haemoproteus* e *Plasmodium*, em comparação à microscopia (FALLON et al., 2003). Outros estudos também mostram as vantagens da técnica de PCR (SCHRENZEL et al., 2003; FREED; CANN, 2003; FALLON; RICKLEFS, 2008), sendo que Valkiunas et al. (2006) e Krone et al. (2008) relatam que os dois métodos (PCR e microscopia) são igualmente sensíveis, afirmando então que a microscopia é uma ferramenta adequada para a pesquisa de hematozoários. Já Belo (2007) concluiu que a associação da microscopia óptica e a técnica de PCR garantem maior precisão na detecção de infecções por *Plasmodium*. Dessa maneira, para melhor entendimento e identificação dos agentes envolvidos, há necessidade do emprego de técnicas mais sensíveis de detecção, como o PCR ou a sorologia, os quais podem fornecer também melhores estimativas de prevalência.

6.2 Mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas

Os animais investigados neste estudo não apresentavam nenhum histórico conhecido de intoxicação ou contato com agentes anticolinesterásicos, organofosforados e carbamatos. Os valores para atividade de colinesterases, em μmols de acetiltiocolina degradada por mL de plasma, apresentaram uma distribuição normal para Falconiformes e Strigiformes, com uma média de 0,8333 e desvio padrão de 1,7087.

Trabalhos que mensuram o valor de atividade normal de colinesterases de espécies aviárias não são amplamente difusos na literatura. A grande maioria das pesquisas disponíveis avalia a atividade de acetilcolinesterase cerebral. Hill (1988) avaliou a atividade de

acetilcolinesterase cerebral em 48 espécies de aves selvagens da América do Norte, representando 11 ordens e 23 famílias. Este foi o primeiro estudo que compilou valores normais para diversas espécies. Encontrou uma grande variação interespecífica, porém verificou valores semelhantes em espécies próximas. A atividade de acetilcolinesterase cerebral variou entre 3 e 19 μmols de acetiltiocolina degradada por grama de tecido, em Strigiformes e Falconiformes ($n = 132$). White, Hayes e Bush (1989) utilizaram os valores de referência preconizados por Hill (1988) para determinarem de fato a inibição da atividade de colinesterase cerebral em cinco incidentes de mortalidade de aves nos estados da Georgia e Virginia (EUA), envolvendo aves migratórias, aves aquáticas, rapinantes, entre outros. Verificaram uma inibição de mais de 50% da atividade enzimática em todos os casos de morte.

Outro estudo também avaliou a atividade de acetilcolinesterase cerebral e verificaram valores entre 16.1 e 24.5 μmols de acetiltiocolina degradada por grama de tecido em animais não expostos (SMITH; THOMAS; HULSE, 1995), valores estes um pouco mais elevados do que os encontrados por Hill (1988). Uma pesquisa mais recente avaliou a atividade de AChE cerebral em águias carecas e águias reais, na qual foram verificados valores entre $17,21 \pm 3,18$ μmols de acetiltiocolina degradada por grama de tecido para águias carecas e $13,37 \pm 0,9$ para águias reais (BLAKLEY; YOLE, 2002). Quanto aos valores de atividade de ChE plasmáticas, o conhecimento é mais escasso (RATTNER; FAIRBROTHER, 1991).

No presente estudo, não houve diferenças significativas entre grupos etários dentre os Falconiformes ou Strigiformes; não foram estabelecidas segmentações na faixa etária “filhote”, compreendendo no mesmo grupo desde aves muito jovens até as mais velhas. Roy et al. (2005) também não encontraram diferenças nos valores de atividade de acetilcolinesterase de rapinantes da Europa, entre diferentes estágios de desenvolvimento. Lanzarot et al. (2005) avaliaram os valores de BChE plasmática e verificaram uma maior atividade nos filhotes mais velhos. Verificaram alterações na atividade de BChE plasmática relacionadas a idade, com um aumento abrupto nos filhotes jovens, seguido por um período de estabilidade nos adultos.

Neste trabalho, a atividade de colinesterases plasmáticas apresentou diferenças estatísticas significativas entre Falconiformes (0.5705 ± 1.6497 micromoles/mL) e Strigiformes (1.0070 ± 1.5620 micromoles/mL). Deve-se lembrar aqui que os rapinantes não formam um táxon monofilético, pois agrupa aves pertencentes a linhagens distintas. Os Strigiformes não são diretamente relacionados aos Falconiformes (BRASÍLIA, 2008). As semelhanças encontradas entre Falconiformes e Strigiformes se devem a uma evolução convergente

(FEDUCCIA, 1996). Dessa forma, a diferença estatística encontrada entre os grupos está de acordo com as prerrogativas de que existem grandes variações interespecíficas nos valores de atividade de colinesterases plasmáticas, assim como as verificadas por Hill (1988).

Quarenta e nove falcões adultos foram avaliados quanto a atividade de colinesterases plasmáticas (ROY et al., 2005), e os valores encontrados foram próximos aos verificados no presente estudo, variando de 0,602 a 1,357 μmols de acetiltiocolina degradada por mL de plasma. Encontramos maior variância para os Falconiformes, com valores entre 0,14 e 3,22. Roy et al. (2005) também avaliaram corujas adultas quanto a atividade de colinesterases plasmáticas ($n = 27$) apresentaram valores variáveis entre 0,123 e 1,585. Neste trabalho, os valores para Strigiformes variaram entre 0,33 e 2,86 μmols de acetiltiocolina degradada por mL de plasma.

A atividade de colinesterases plasmáticas foi mensurada em patos domésticos, os quais apresentaram valores decrescentes conforme a idade. Aos sete dias de idade, a média de atividade de colinesterases plasmáticas era de 0,302 μmols de acetiltiocolina degradada por mL plasma, sendo verificada diminuição gradativa desse valor até chegar em 0,184 aos 85 dias (BENNETT; BENNETT, 1991). Apesar de ter sido realizado com espécies de grupos filogeneticamente distantes dos Falconiformes e dos Strigiformes, este estudo também apresentou valores de atividade de colinesterases plasmáticas relativamente semelhantes aos encontrados no presente trabalho.

Hooper (1988) examinou as taxas de AChE:BChE no soro de 11 espécies de rapinantes e galinhas, e verificou que aproximadamente 100% da colinesterase sérica de falcões eram AChE; outros rapinantes apresentaram quantidades relativas pequenas de BChE. Relata-se uma taxa mais elevada de AChE:BChE nos rapinantes adultos que nos filhotes (ROY et al., 2005). A BChE é predominante na maioria das espécies de rapinantes, exceto na família dos Falconidae, na qual a atividade de AChE é cerca de 3 a 7 vezes maior que a atividade de BChE (ROY et al., 2005). Foram avaliados os valores de atividade de BChE em 3 espécimes de Strigiformes, e os valores encontrados variaram de 1,82 a 8,65 μmols de acetiltiocolina degradada por mL de plasma (THOMPSON et al., 1991).

No presente estudo, não houve diferenças significativas de valores de atividade de colinesterases plasmáticas entre machos e fêmeas, dentre os Falconiformes ou Strigiformes, o que concorda com Rattner e Fairbrother (1991) e Roy et al. (2005), os quais afirmam que parece não existir diferenças entre os gêneros para a atividade de ChE plasmática.

Encontrou-se grande diferença nos valores de atividade de ChE plasmática entre Falconiformes hígidos e não hígidos, sendo que os animais não hígidos apresentavam valores

surpreendentemente mais baixos ($1,6141 \pm 1,1970$ $\mu\text{mols/mL}$) do que os animais considerados clinicamente hígidos ($2,0485 \pm 1,6728$ $\mu\text{mols/mL}$). Na literatura, relata-se que alterações fisiológicas e histológicas associadas com processos mórbidos podem também influenciar os valores de atividade de ChE. Doenças hepáticas crônicas, como hepatite infecciosa e cirrose, provocam diminuição nos valores de atividade de ChE sérica, possivelmente devido a diminuição na capacidade do fígado em sintetizar a enzima (RATTNER; FAIRBROTHER, 1991). Já nos Strigiformes de vida livre ou de cativeiro, a condição de higidez não foi estatisticamente relacionada à atividade de colinesterases plasmáticas. Porém, dentre os Strigiformes a atividade de colinesterases plasmáticas foi significativamente diferente entre os animais com hemoparasitos (mediana geométrica = $2,0132$ $\mu\text{mols/mL}$) e sem hemoparasitos (mediana geométrica = $0,8331$ $\mu\text{mols/mL}$), o que também pode ser relacionado com o estado clínico geral de um animal debilitado. Não houve correlação significativa entre a atividade de colinesterases plasmáticas e a quantificação de parasitemia, porém o índice de infecção de hemácias por hemosporídeos foi relativamente baixo em todas as amostras avaliadas.

Não foi observada diferença na atividade de colinesterases plasmáticas entre os Falconiformes de animais de cativeiro e de vida livre; o mesmo foi encontrado por Roy et al. (2005), em um trabalho com rapinantes na Europa. Já entre os Strigiformes, houve diferença significativa entre animais de cativeiro e de vida livre, sendo que os espécimes de cativeiro apresentaram valores mais baixos do que os de vida livre. Talvez esta diferença seja consequência das condições de manejo dos locais, como alimentação e higidez, não sendo possível determinar a exata causa.

Supõe-se que exposições subletais a agentes anticolinesterásicos possam afetar a utilidade de animais de vida livre como grupo-controle, porém tem-se provado que o mesmo não ocorre. Por exemplo, se uma exposição acidental resultar em 15 a 30% de inibição dos valores de colinesterase, isso provocará um aumento na variância e diminuirá o valor diagnóstico, mas provavelmente não alterará significativamente a média de atividade de colinesterase do grupo estudado (HILL, 1988).

Os valores normais dos constituintes do sangue apresentam grande variação para diferentes espécies; assim, para se ter conhecimento das condições fisiológicas e patológicas de aves silvestres com maior fidelidade, é de extrema importância o conhecimento de valores hematológicos normais para espécies individualmente. Os valores de colinesterases plasmáticas obtidos para Falconiformes e Strigiformes neste estudo serão úteis para a interpretação de achados laboratoriais em casos clínicos futuros.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dos resultados obtidos, por meio dos materiais e métodos executados, as seguintes considerações podem ser feitas:

Apenas sete corujinhas-do-mato (*Megascops choliba*) apresentaram hemoparasitos. O estudo verificou que, nos animais avaliados, a frequência de ocorrência de hemoparasitos em aves de rapina do Estado de São Paulo foi baixa e que, quando presente, caracterizou-se por uma infecção branda e pouco patogênica.

A atividade de colinesterases plasmáticas nos rapinantes estudados foi variável, apresentando diferenças entre Strigiformes e Falconiformes. Não houve diferenças significativas nos valores de atividade de colinesterases plasmáticas entre machos ou fêmeas e adultos ou jovens e dentre os Falconiformes ou Strigiformes. Dentre os Falconiformes, os animais não hígidos apresentavam valores surpreendentemente mais baixos do que os clinicamente hígidos. Entre os Strigiformes, os espécimes de cativeiro apresentaram valores mais baixos de atividade de colinesterases plasmáticas do que os de vida livre. Nenhum parâmetro hematológico apresentou correlação significativa com a atividade de colinesterases plasmáticas.

Este estudo contribui com informações relevantes sobre a ocorrência de hemossporídeos em aves de rapina do Estado de São Paulo, alertando as Instituições sobre a necessidade de monitoração destes protozoários sanguíneos. Além disso, adiciona dados inéditos sobre a atividade de colinesterases plasmáticas em rapinantes à literatura, dados estes tão disseminados sobre aves de rapina da América do Norte. Fornece ainda valores de referência para a prática clínica na pesquisa de intoxicações por agentes anti-colinesterásicos em rapinantes da fauna brasileira. Há uma necessidade urgente de novos trabalhos investigativos que atuem a campo, uma vez que o Brasil é um país de intensa atividade agrícola, utilizando para isso grande quantidade de praguicidas em suas culturas, podendo assim resultar em um número desconhecido de casos de intoxicações de rapinantes e outros animais.

REFERÊNCIAS

- ADRIANO, A. E.; CORDEIRO, N. S. Prevalence and intensity of *Haemoproteus columbae* in three species of wild doves from Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 2, p. 175-178, 2001.
- ALLEN, G. T.; VEATCH, J. K.; STROUD, R. K.; VENDEL, C. G.; POPPENG, R. H.; THOMPSON, L.; SHAFER, J. A.; BRASELTON, E. Winter poisoning of coyotes and raptors with furadan-laced carcass baits. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 32, n. 2, p. 285-389, 1996.
- ANDERSON, R. M.; MAY, R. M. Population biology of infectious diseases. Part I. **Nature**, v. 280, p. 361-367, 1979.
- ARUCH, S.; ATKINSON, C. T.; SAVAGE, A. F.; LAPOINTE, D. A. Prevalence and distribution of pox-like lesions, avian Malaria, and mosquito vectors in Kipahulu Valley, Haleakala National Park, Hawaii, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 43, n. 4, p. 567-575, 2007.
- ATKINSON, C. T. Avian Malaria. In: ATKINSON, C. T.; THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B. (Eds.) **Parasitic diseases of wild bird**. Ames: Wiley-Blackwell, 2008, cap. 3, p. 35-53.
- ATKINSON, C. T.; DUSEK, R. J.; WOODS, K. L.; IKO, W. M. Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected hawaii amakihi. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, n. 2, p. 197-204, 2000.
- ATKINSON, C. T.; VAN RIPER III, C. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leucocytozoon* and *Haemoproteus*. In: LOYE, J. E.; ZUK, M. (Eds.) **Blood-parasite interactions: ecology, evolution and behaviour**. Oxford: Oxford University Press, 1991, p. 19-47.
- BARKER, JR, R. H.; BANCHONGAKSORN, T.; COURVAL, J. M; SUWONKERD, W.; RIMWUNGTRAGOON, K.; WIRTH, D. F. A simple method to detect *Plasmodium falciparum* directly from blood sample using the polymerase chain reaction. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, p. 416-426, 1992.
- BARNES, J. H. Parasites. In: HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Clinical avian medicine and surgery: including aviculture**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986, cap. 37, p. 481-485.
- BARON, R. L. Carbamate insecticides. In: HAYES JR., W. J.; LAWS JR., E. R. (Ed.) **Handbook os pesticides toxicology**. California: Academic Press, 1991, v. 3, p. 1125-1189.

BELO, N. O. **Ocorrência de *Plasmodium* spp em aves silvestres da família Psittacidae mantidas em cativeiro no Brasil**. 2007. 45 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

BENNETT, A. F.; BORRERO, J. I. Blood parasites of some birds from Colombia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 12, p. 454-458, 1976.

BENNETT, G. F. Hematozoa. In: BURR, E. W. (Ed.) **Companion bird medicine**. Ames, Iowa: Iowa State University Press, p.120-128, 1987.

BENNETT, G. F.; SOUZA, O. Blood parasites of some birds from São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 75, p. 117-134, 1980.

BENNETT, R. S.; BENNETT, J. K. Age-Dependent changes in activity of mallard plasma cholinesterases. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 27, n. 1, p. 116-118, 1991.

BLAKLEY, B. R.; YOLE, M. J. Species differences in normal brain cholinesterase activities of animals and birds. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 44, p. 129–132, 2002.

BLANCO, G.; GAJÓN, A.; DOVAL, G.; MARTÍNEZ, F. Absence of blood parasites in griffon vultures from Spain. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 14, n. 3, p. 640-643, 1998.

BLUS, L. J. Effects of pesticides on owls in North America. **Journal of Raptor Research**, v. 30, n. 4, p. 198-206, 1996.

BOAL, C. W.; HUDELSON, K. S.; MANNAN, R. W.; ESTRABROOK, T. S. Hematology and hematozoa of adult nestling cooper's hawks in Arizona. **Journal of Raptor Research**, v. 32, n. 4, p. 281-285, 1998.

BONELLO, F. L.; AZEVEDO, E. Z.; POLETTO, D. W. Pesquisa de hemoparasitos em aves do Zoológico Municipal de Araçatuba, SP. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 9.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 14., 2005, São José do Rio Preto. **Anais...** São José do Rio Preto : ABRAVAS, 2005. p. 78.

BRASÍLIA. **Plano de ação nacional para a conservação de aves de rapina**. Brasília: ICMBio, 2008, Série Espécies Ameaçadas, 5, 136 p.

BROWN, L. **Birds of prey**. 2. ed. London: Chancellor Press, 1997, 256 p.

CAMPBELL, T. W. Common Avian Blood Parasites. In: CAMPBELL, T. W. **Avian Hematology and citology**. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press, cap. 3, p. 28-32, 1988.

CAMPBELL, T. W. Hematologia de Aves. In: THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica veterinária**. São Paulo: Rocca Ltda, 2007. Cap. 17, p. 215-247.

CAMPBELL, T. W. Hematology. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Winger Publishing, 1994. section five, cap. 9, p. 176-198.

CASTLE, M. D.; CHRISTENSEN, B. M. Hematozoa of wild turkeys from the Midwestern United States: translocation of wild turkeys and its potential role in the introduction of *Plasmodium kemp*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 26, n. 2, p. 180-185, 1990.

CHAMBERS, H. W. Organophosphorus compounds: an overview. In: CHAMBERS, J. E.; LEVI, P. E. (Ed.) **Organophosphates: chemistry, fate and effects**. California: Academic Press, 1992. Cap. 1, p. 3-18.

CHAMBERS, J. E.; CARR, R. L. Biochemical mechanisms contributing to species differences in insecticidal toxicity. **Toxicology**, v. 105, p.291-304, 1995.

CHEBEZ, J. C.; AGUILAR, R. F. Order Falconiformes (hawks, eagles, falcons, vultures). In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa State University Press, 2001. cap. 12, p. 115-124.

CLAUSEN, B.; GUDMUNDSSON, F. Causes of mortality among free-ranging gyrfalcons in iceland. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 17, n. 1, p. 105-109, 1981.

COMITÊ BRASILEIRO DE REGISTROS ORNITOLÓGICOS. **Listas das aves do Brasil**. 8. Ed. São Paulo: CBRO, 2009. Disponível em: <<http://www.cbro.org.br>>. Acesso em: 25 de outubro de 2009.

COOPER, J. E. Some diseases of birds of prey. **Veterinary Record**, v.84, p. 454-457, 1969.

COOPER, J. E.; FORBES, N. A. Studies on morbidity and mortality in the merlin (*Falco columbarius*). **The Veterinary Record**, v. 118, p. 232-235, 1986.

CORREA, A. P. **Estudo in vivo e in vitro das colinesterases plasmáticas cerebrais por organofosforados (malation e etiom) e por carbamatos (carbofuram e carbaril) em codornas machos (*Coturnix coturnix japonica*)**. 2003. 110 f. Dissertação (Mestrado em Patologia

Experimental e Comparada) – Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

CORREA, A. P.; KONNO, S. R.; FERRO, D. G.; CATAO-DIAS, J. L.; MATUSHIMA, E. R.; SÁ-ROCHA, L. C. Estudo da atividade das colinesterases plasmáticas e cerebrais de animais silvestres brasileiros frente a diferentes concentrações de inseticidas anticolinesterásicos adicionados *in vitro*. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 8.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 13., 2004, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: ABRAVAS, 2004, p. 86.

CORREA, A. P.; SÁ-ROCHA, L. C. Estudo da inibição *in vivo* e *in vitro* das colinesterases plasmáticas e cerebrais de codornas (*Coturnix coturnix japonica*) e de aves silvestres brasileiras por praguicidas organofosforados e carbamatos. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 8.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 13., 2004, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: ABRAVAS, 2004, p. 42.

CORREA, A. P.; VALDES, S. A. C.; CATAO-DIAS, J. L.; MATUSHIMA, E. R.; SÁ-ROCHA, L. C. Intoxicação de aves silvestres brasileiras, mantidas em cativeiro, por inseticida anticolinesterásico: procedimento-diagnóstico. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 8.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 13., 2004, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: ABRAVAS, 2004, p. 38.

COSTA, M. P.; HORTA R. S.; VILELA D. A. R.; MARTINS N. R. S.; MARQUES M. V. R.; RESENDE J. S.; CARVALHAES A. G.; ANDRADE E. A. G. Diagnóstico da avifauna recebida pelo Centro de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA em Belo Horizonte, Minas Gerais, no período de 1992 a 2007. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 11.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 17., 2008, Santos. **Anais...** Santos: ABRAVAS, 2008, p. 100-104.

CRAIG, R. L.; CRAIG, J. A.; RUDOLPH, K. M.; CRAIG, E. Using Polymerase Chain Reaction for sex determination of golden eagles (*Aquila chrysaetos*). **Journal of Raptor Research**, v. 43, n. 1, p. 63-65, 2009.

CROCE, G. B.; ROCHA, N. S. Intoxicação por carbamatos e organofosforados: revisão de literatura. **Revista Nosso Clínico**, v. 10, n. 58, p. 28-34, jul/ago, 2007.

DE MENT, S.; DE MENT, R.; GRACZYK, T. Blood parasites of wintering birds of prey in South Carolina. **The Chat**, v. 66, n. 3, p. 79-84, 2002.

DEEM, S. L.; TERELL, S. P.; FORRESTER, D. J. A retrospective study of morbidity and

mortality of raptors in Florida. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 29, n. 2, p. 160-164, 1998.

DeGROOTE, L. W.; RODEWALD, P. G. An improved method for quantifying hematozoa by digital microscopy. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n. 2, p. 446–450, 2008.

DEL HOYO, J.; ELLIOTT, A. (Ed.) **Handbook of the birds of the world: new world vultures to guineafowl**. Barcelona: Lynx Edicions, 1994, v. 2.

DEVICHE, P.; GREINER, E. C.; MANTECA, X. Interspecific variability of prevalence in blood parasites of adult passerine birds during the breeding season in Alaska. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 37, n.1, p. 28-35, 2001.

DEVICHE, P.; MCGRAW, K.; GREINER, E. Interspecific differences in Hematozoan infection in sonoran desert *Aimophila* sparrows. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 3, p. 532-541, 2005.

DUMONCEAUX, G; HARRISON, G. J. Toxins. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. section five, cap.37, p. 1031-1052.

ECOBICHOON, D. J. Anticholinesterase isecticides. In: SIPES, C. G.; MCQUEEN, A.; GANDOLFI, A. J. (Ed.). **Comprehensive toxicology**. Cambridge: Elsevier Science, 1997. section 11.26, p. 447-456.

ELLIOT, J. E.; LANGELIER, K. M.; MINEAU, P.; WILSON, L. K. Poisoning of bald eagles and red-tailed hawks by carbofuran and fensulfothion in the fraser delta of British Columbia, Canada. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 32, n. 3, p. 486-491, 1996.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES J. R., V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemistry and Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

FAIRBROTHER, A. Cholinesterase-inhibiting Pesticides. In: FAIRBRROTHER, A.; LOCKE, L. N.; HOFF, G. L. L. (Ed.) **Noninfectious diseases of wildlife**. 2. ed. Ames: Iowa State University, 1996, p. 52-60.

FAIRBROTHER, A.; MARDEN, B. T.; BENNETT, J. K.; HOOPER, M. J. Methods used in determination of cholinesterase activity. In: MINEAU, P. (Ed.) **Cholinesterase-inhibiting insecticides - Their impact on wildlife and the environment. Chemicals in agriculture**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V, 1991. v. 2, cap. 3, p. 35-71.

FALLON, S. M.; RICKLEFS, R. E. Parasitemia in PCR-detected *Plasmodium* and *Haemoproteus* infections in birds. **Journal of Avian Biology**, v. 39, p. 514-522, 2008.

FALLON, S. M.; RICKLEFS, R. E.; SWANSON, B. L.; BERMINGHAM, E. Detecting avian malaria: an improved polymerase chain reaction diagnostic. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 1044–1047, 2003.

FEDUCCIA, A. Birds of prey. In: FEDUCCIA, A. **The origin and evolution of birds**. 1. ed. New Haven: Yale University Press, 1996. cap. 7, p. 291-311.

FELDMAN, R. A.; FEED, L. A.; CANN, R. L. A. A PCR test for avian malaria in Hawaiian birds. **Molecular Ecology**, v. 4, p. 663-673, 1995.

FELTON, C. L.; BROWN, P. M.; FLETCHER, M. R.; STANLEY, P. I. Bird poisoning following the use of warble fly treatments containing famphur. **The Veterinary Record**, v. 108, p. 440, 1981.

FERGUSON-LEES, J.; CHRISTIE, D. A. **Raptors of the world**. Boston: Houghton Mifflin, 2001, 992 p.

FILHO, A. A.; ROMANO, C. Anticolinesterásicos. In: FILHO, A. A.; CAMPOLINA, D.; DIAS, M. B. (Ed.) **Toxicologia na prática clínica**. Belo Horizonte: Folim Comunicação, 2001. cap. 5, p. 53-59.

FIX, A. S.; WATERHOUSE, C.; GREINER, E. C.; STOSKOPF, M. K. *Plasmodium relictum* as a cause of avian malaria in wild-caught magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, n. 4, p. 610-619, 1988.

FLEISCHMAN, R. W.; SQUIRE, R. A.; SLADEN, W. J. L.; MOORE, J. Pathologic confirmation of malaria (*Plasmodium elongatum*) in African Penguins (*Spheniscus demersus*). **Bulletin of the Wildlife Disease Association**, v. 4, p. 133-135, 1968.

FORBES, N. A. Birds of Prey. In: MULLINEAUR, E. (Ed.) **Manual of wildlife casualties – BSAVA**, 2003. cap. 22, p. 235-246.

FORRESTER, D. J.; FOSTER, G. W.; MORRISON, J. L. *Leucocytozoon toddi* and *Haemoproteus tinnunculi* (Protozoa: Haemosporina) in the Chimango Caracara (*Milvago chimango*) in Southern Chile. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 7, p. 1023-1024, 2001.

FORRESTER, D. J.; TELFORD, S. R. J.; FOSTER, G. W.; BENNETT, G. F. Blood parasites of

raptors in Florida. **Journal of Raptor Research**, v. 28, p. 226–231, 1994.

FRANSON, J. C.; KOLBE, E. J.; CARPENTER, J. W. Famphur toxicosis in a bald eagle. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 21, n. 3, p. 318-320, 1985.

FREED, L. A.; CANN, R. L. On Polymerase Chain Reaction tests for estimating prevalence of malaria in birds. **Journal of Parasitology**, v.89, n. 6, p. 1261-1264, 2003.

FRIEND, M.; TRAINER, D. O. Some effects of sublethal levels of insecticides on vertebrates. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 6, p. 335-342, 1970.

GALLO, M. A.; LAWRYK, N. J. Organic phosphorus pesticides. In: HAYES JR., W. J.; LAWS JR., E. R. (Ed.) **Handbook of pesticides toxicology**. California: Academic Press, 1991. v. 2, p. 917-1123.

GERING, E.; ATKINSON, C. T. A rapid method of counting nucleated erythrocytes on stained blood smears by digital analysis. **Journal of Parasitology**, v. 90, p. 879–881, 2004.

GLASER, L. C. Organophosphorus and carbamate pesticides. In: FRIEND, M.; FRANSON, J.C. (eds). **Field manual of wildlife diseases - general field procedures and diseases of birds**. Washington: USGS National Wildlife Health Center, 1999. cap. 39, p. 287-194.

GODFREY, JR.; R. D.; FEDYNICH, A. M.; PENCE, D. B. Quantification of hematozoa in blood smears. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 23, n. 4, p. 558-565, 1987.

GOLDSTEIN, M. I.; LACHER, T. E.; WOODBRIDGE, B. Monocrotophos-induced mass mortality of swainson's hawks in Argentina, 1995-96. **Ecotoxicology**, v. 8, p. 201-214, 1999.

GRACZYK, T. K.; CRANFIELD, M. R.; MCCUTCHAN, T. F.; BICKNESE, E. J. Characteristics of naturally acquired avian malaria infections in naive juvenile African black-footed penguins (*Spheniscus demersus*). **Parasitology Research**, v. 80, p. 634–637, 1994.

GREINER, E. C.; BLACK, D. J.; IVERSON, W. O. *Plasmodium* in a bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*) in Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 17, n. 4, p. 555-558, 1981.

GREINER, E. C.; RITCHIE, B. W. Parasites. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. section five, cap.36, p. 1007-1029.

GRIER, J. W. Ban of DDT and subsequent recovery of reproduction in bald eagles. **Science**, v.

17, p. 1232-1235, 1982.

GUTIÉRREZ, R. J. Hematozoa from the Spotted Owl. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 25, n. 4, p. 614-618, 1989.

HANSON, J.; HOWELL, J. Possible fenthion toxicity in magpies (*Pica pica*). **Canadian Veterinary Journal**, v. 22, p. 18-19, 1981.

HELLGREN, O.; WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S. A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 4, p. 797-802, 2004.

HENNY, C. J.; KOLBE, E. J.; HILL, E. F.; BLUS, L. J. Case histories of bald eagles and other raptors killed by organophosphorus insecticides topically applied to livestock. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 23, n. 2, p. 292-295, 1987.

HEYDEN, N. V. D. Hemoparasites. In: ROSSKOPF, W.; WOERPEL, R. **Diseases of cage and aviary birds**. 3 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 627-629.

HILL, E. F. Brain cholinesterase activity of apparently normal wild birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, n. 1, p. 51-61, 1988.

HILL, E. F.; FLEMING, W. J. Anthicolinesterase poisoning of birds: field monitoring and diagnosis of acute poisoning. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 1, p. 27-38, 1982.

HILLE, S. M.; NASH, J. P.; KRONE, O. Hematozoa in endemic subspecies of common kestrel in the Cape Verde Islands. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 43, n. 4, p. 752-757, 2007.

HOOPER, M. J. **Avian cholinesterases**: their characterization and use in evaluating organophosphate insecticide exposure. Dissertation (Doctoral). 1998. 112 p. University of California, Davis, 1988.

HORTA, R. S.; MARQUES, M. V. R.; MARTINS, N. R. S.; RESENDE, J. S.; VILELA, D. A. R.; COSTA, M. P.; CARVALHAES, A. G.; GOMES, A. M.; ANDRADE, E. A.; ECCO, R. Ocorrência de hemoparasitos em aves selvagens no Centro de Triagem de Animais silvestres - (CETAS) - IBAMA de Belo Horizonte, Minas Gerais. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 11.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 17., 2008, Santos. **Anais...** Santos: ABRAVAS, 2008, p. 118-120.

HUNTER, D. B.; ROHNER, C.; CURRIE, D. C. Mortality in fledgling great horned owls from black fly hematophaga and leucocytozoonosis. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 33, n. 3, p. 486-

491, 1997.

IGAYARA-SOUZA, C. A.; NAGAHAMA, A. A.; BOLOCHIO, C. E.; CUNHA, I. P.; ASSATO, E. H. Aves de rapina urbanas no município de Guarulhos-SP: principais ocorrências com animais encaminhados ao zoológico municipal em um período de 2 anos. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 7.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 12., 2003, São Pedro. **Anais...** São Pedro: ABRAVAS, 2003, p. 101

ISHTIAQ, F.; GERING, E.; RAPPOLE, J. H.; RAHMANI, A. R.; JHALA, Y. V.; DOVE, C. J.; MILENSKY, C.; OLSON, S. L.; PEIRCE, M. A.; FLEISCHER, R. C. Prevalence and diversity of avian hematozoan parasites in Asia: a regional survey. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 43, n. 3, p. 382-398, 2007.

ITO, H.; SUDO-YAMAJI, A.; ABE, M.; MURASE, T.; TSUBOTA, T. Sex identification by alternative Polymerase Chain Reaction methods in Falconiformes. **Zoological Science**, v. 20, p. 339-344, 2003.

IUCN. **2009 IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 20 de março de 2009.

JEYARATNAM, J.; MARONI, M. Organophosphorus compounds. **Toxicology**, v. 91, p. 15-27, 1994.

JOHNSTON, J. J. Introduction to pesticides in wildlife. In: JOHNSTON, J. J. **Pesticides and wildlife**. Washington, D.C.: American Chemical Society, 2001. p. 1-5.

JOPPERT, A. M. **Estudo prospectivo das causas de morte de Falconiformes e Strigiformes de vida livre no município de São Paulo**. 2007. 199f. Dissertação (Doutor em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

KEYMER, I. F. Diseases of birds of prey. **Veterinary Record**, v.90, n. 21, p. 579, 1972.

KINGSTON, N.; REMPLE, J. D.; BURNHAM, W.; STABLER, R. M.; MCGHEE, R. B. Malaria in a captively-produced F1 gyrfalcon and in two F1 peregrine falcons. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 12, p. 562-565, 1976.

KIRKPATRICK, C. R.; LAUER, D. M. Hematozoa of raptors from southern new jersey and adjacent areas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 1985.

KIRKPATRICK, M.; RYAN, M. J. The evolution of mating preferences and the paradox of the

lek. **Nature**, v. 350, p. 33-38, 1991.

KLASEEN, C. **Toxicology**: the basic science of poison. 6. ed. United States of America: Mc Graw Hill, 2001.

KOCAN, A. A.; SNELLING, J.; GREINER, E. L. Some infectious and parasitic diseases in Oklahoma raptors. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 13, p. 304-306, 1977.

KRONE, O.; COOPER, J. E. Parasitic Diseases. In: COOPER, J. E. (Ed.): **Birds of prey**: health & disease. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 2002. p. 113.

KRONE, O.; WALDENSTRÖM, J.; VALKIUNAS, G.; LESSOW, O.; MÜLLER, K.; IEZHOVA, T. A.; FICKEL, J.; BENSCH, S. Haemosporidian blood parasites in European birds of prey and owls. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 3, p. 709-715, 2008.

KWON, Y-K.; WEE, S-H.; KIM, J-H. Pesticide poisoning events in wild birds in Korea from 1998 to 2002. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 4, p. 737-740, 2004.

LAINSON, R.; SHAW, J. J.; HUMPHREY, P. S. Preliminary survey of blood-parasites of birds of the Area de Pesquisas Ecológicas do Guamá, Belém, Pará, Brasil. **Journal of Parasitology**, v. 56, p. 197-198, 1970.

LANE, R. A. Avian Hematology. In: ROSSKOF, W. T. (Ed.) **Diseases of cage and aviary birds**. 3^o ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996., p. 739-772.

LANZAROT, M. P.; BARAHONA, M. V.; ANDRÉS, M. I.S.; FERNÁNDEZ-GARCIA, M.; RODRÍGUEZ, C. Hematologic, protein electrophoresis, biochemistry, and cholinesterase values of free-living black stork nestlings (*Ciconia nigra*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 2, p. 379-386, 2005.

LANZAROT, M. P.; MONTESINOS, A.; ANDRÉS, M. I. S.; RODRÍGUEZ, C.; BARAHONA, M. V. Hematological, protein electrophoresis and cholinesterase values of free-living nestlings Peregrine Falcons in Spain. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 37, n. 1, p. 172-177, 2001.

LEPPERT, L. L.; LAYMAN, S.; BRAGIN, E. A.; KATZNER, T. Survey for hemoparasites in Imperial Eagles (*Aquila heliaca*), Steppe Eagles (*Aquila nipalensis*), and White-tailed Sea Eagles (*Haliaeetus albicilla*) from Kazakhstan. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n.2, p. 316-319, 2004.

MACHEMER, L. H.; PICKEL, M. Carbamate pesticides. **Toxicology**, v. 91, p. 29-36, 1994.

MANWELL, R. D.; HERMAN, C. The occurrence of the avian malarias in nature. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 15, p. 661-673, 1935.

MARTINSEN, W. S.; BLUMBERG, B. J.; EISEN, R. J.; SCHALL, J. J. Avian hemosporidian parasites from northern California Oak Woodland and Chaparral habitats. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n. 2, p. 260-268, 2008.

MAYACK, D. T.; MARTIN, T. Age-dependent changes in plasma and brain cholinesterase activities of house wrens and European starlings. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, p. 627-637, 2003.

MCCOLLOUGH, M. A. Molting sequence and aging of bald eagles. **Wilson Bulletin**, v.101, n. 1, p.1-10, 1989.

MEERDINK, G. L. Organophosphorous and carbamate insecticide poisoning. In: KIRK, R. W. (Ed.) **Current veterinary therapy**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1989. v. 10, p. 135-137.

MIDIO, A. F.; SILVA, E. S., **Inseticidas-Acaricidas: organofosforados e carbamatos**. São Paulo: Rocca, 1995.

MINEAU, P.; FLETCHER, M. R.; GLASER, L. C.; THOMAS, N. J.; BRASSARD, C.; WILSON, L. K.; ELLIOTT, J. E.; LYON, L. A.; HENNY, C. J.; BOLLINGER, T.; PORTER, S. L. Poisoning of raptors with organophosphorus and carbamate pesticides with emphasis on Canada, U.S. and U.K. **Journal of Raptor Research**, v. 33, n. 1, p. 1-37, 1999.

MITCHELL, E. B.; JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. **Veterinary Clinics – Exotic Animal Practice**, v. 11, p. 501-522, 2008.

MUNOZ, E.; FERRER, D.; MOLINA, R.; ADLARD, R. D. Prevalence of haematozoa in birds of prey in Catalonia, north-east Spain. **The Veterinary Record**, v. 144, p. 632-636, 1999.

NATT, M. P.; HERRICK, G. A. A new blood diluent for counting erythrocytes and leukocytes of the chicken. **Poultry Science**. v. 31, p. 735-738, 1952.

OGAKI, M. Bird malaria parasites found in Malay peninsula. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 29, p. 459-462, 1949.

OLSEN, G. H.; GAUNT, S. D. Effect of hemoprotozoal infections on rehabilitation of wild raptors. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 187, n. 11, p. 1204-1205, 1985.

OLSEN, O. W. Order Haemosporida. In: OLSEN, O.W. **Animal parasites: their life cycles and ecology**. 3 ed. Baltimore: University Park Press, 1984. p. 132-154.

PEAKALL, D. B. Poisoning in wild (free-living) raptors. In: COOPER, J.E. (Ed). **Birds of prey: health and disease**. 3. ed. Oxford: Blackwell science, 2002. cap. 11, p. 163-170.

PEREIRA, R. J. G. Falconiformes e Strigiformes (águia, gavião, falcão, abutre, coruja). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Rocca, 2006. cap. 17, p. 252-267.

PETRI, B. S. S.; MILANELO, L.; FITORRA, L. S.; ALVES, M.; LONGO, L. G. R. Estudo retrospectivo da incidência de aves de rapina com traumas causados por linha de pipa encaminhadas ao CRAS-PET. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 11.; ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 17., 2008, Santos. **Anais...** Santos: ABRAVAS, 2008, p. 100-104.

PHALEN, D. N.; TAYLOR, C.; PHALEN, S. W.; BENNETT, G. F. Hemograms and hematozoa of sharp-shinned (*Accipiter striatus*) and Cooper's hawks (*Accipiter cooperii*) captured during spring migration in northern New York. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 31, n. 2, p. 216-222, 1995.

PORTER, S. L. Pesticide poisoning in birds of prey. In: REDIG, P. T.; COOPER, J. E.; REMPLE, J. D.; HUNTER, D. B. (Ed.) **Raptor biomedicine**. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1993. p. 239-245.

RATTNER, B. A.; FAIRBROTHER, A. Biological variability and the influence of stress on cholinesterase activity. In: MINEAU, P. (Ed.) **Cholinesterase-inhibiting insecticides: their impact on wildlife and the environment**. Chemicals in agriculture. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V, 1991. v. 2, cap. 5, p. 89-106.

REDIG, P. T., ACKERMANN, J. Raptors. In: TULLY, T. N.; LAWTON, M. P. C.; DORRESTEIN, G. M. **Avian medicine**. Oxford: Butterworth Heinemann, 2000. cap. 8, p. 180-214.

RODRÍGUES, O. A.; MATTA, N. E. Blood parasites in some birds from eastern plains of Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 8, p. 1173-1176, 2001.

ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue: noções práticas sobre corantes pancromáticos e estudo de diversos fatores. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 20, p. 315-328, 1947.

ROY, C.; GROLLEAU, G.; CHAMOULAUD, S.; RIVIERE, J. Plasma b-esterase activities in european raptors. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 1, p. 184-208, 2005.

SAMOUR, J. Management of raptors. In: HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. L. **Clinical Avian Medicine**. Palm Beach: Spix Publishing, 2006. vol. 2, cap. 40, p. 915-956.

SANCHES, T. C. **Perfil Hematológico de Aves de Rapina de Vida Livre e Cativo na Cidade de São Paulo**. 2004. 105 f. Trabalho de Iniciação Científica - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SANTOS-PREZOTO, H. H.; D'AGOSTO, M.; DAEMON, E. Prevalência e variação dos estádios eritrocíticos do *Plasmodium (Novyella) juxtanucleare* em *Gallus gallus* sob condições naturais, no período de um ano. **Parasitology Latinoam**, v. 59, p. 14-20, 2004.

SÃO PAULO. Inventário da fauna do município de São Paulo. São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, **Diário Oficial da Cidade de São Paulo**, 21 de maio de 2010, 120 p.

SÁ-ROCHA, L. C. de. **Efeitos farmacológicos e toxicológicos de anticolinesterásicos e anticolinérgicos: estudos bioquímicos e de comportamento animal**. 1990. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1990.

SÁ-ROCHA, L. C. de. Intoxicações. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Rocca, 2006. cap. 52, p. 827-837.

SCHRENZEL, M. D.; MAALOUF, G. A.; KEENER, L. L.; GAFFNEY, P. M. Molecular characterization of malarial parasites in captive passerine birds. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 5, p. 1025-1033, 2003.

SCOLLON, E. J.; GOLDSTEIN, M. I.; PARKER, M. E.; HOOPER, M. J.; LACHER, T. E.; COBB, G. P. Chemical and biochemical evaluation of Sainson's hawk mortalities in Argentina. In: JOHNSTON, J. J. (Ed.). **Pesticides and wildlife**. Washington: American Chemical Society, 2001. p. 294-308.

SEBAIO, F. **Hemoparasitos em aves de Mata Atlântica no estado de Minas Gerais**. 2002. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

SEED, T. M.; MANWELL, R. D. Plasmodia of birds. In: KREIER, T. P. **Parasitic protozoa**. New York : Academic Press, 1977. p. 311-357.

SHURULINKOV, P.; GOLEMANSKY, V. *Plasmodium* and *Leucocytozoon* (Sporozoa: Haemosporida) of wild birds in Bulgaria. **Acta Protozoologica**, v. 42, p. 205-214, 2003.

SICK, H. Ordem Strigiformes. In: SICK, H. (Ed.) **Ornitologia brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 393-405.

SMITH, M. R.; THOMAS, N. J.; HULSE, C. Application of brain cholinesterase reactivation to differentiate between organophosphorus and carbamate pesticide exposure in wild birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 31, n. 2, p. 263-267, 1995.

SPRINGER, W. T. Other blood and tissue protozoa. In: HOFSTAD, M. S. (Ed.) **Diseases of poultry**. 8. ed. Ames: Iowa State University Press, 1984. p. 730-732.

STABLER, R. M.; BRAUN, C. L.; BECK, T. D. Hematozoa in sage grouse from Colorado. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 13, p. 414-417, 1977.

STABLER, R. M.; HOLT, P. A. Hematozoa from Colorado birds: Falconiformes and Strigiformes. **The Journal of Parasitology**, v. 51, n. 6, p. 927-928, 1965.

STACEY, L. M.; COUVILLION, C. E.; SIEFKER, C.; HURST, G. A. Occurrence and seasonal transmission of hematozoa in wild turkeys. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 26, n. 4, p. 442-446, 1990.

STUHT, J. N.; BOWERMAN, W. W.; BEST, D. A. Leucocytozoonosis in nestling Bald Eagles in Michigan and Minnesota. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 3, p. 608-612, 1999.

THOMPSON, H. M.; MACKNESS, N. I.; WALKER, C. H.; HARDY, A. R. Species differences in avian serum B esterases revealed by chromatofocusing and possible relationships of esterase activity to pesticide toxicity. **Biochemical Pharmacology**, v. 41, n. 8, p. 1235-1240, 1991.

VALDES, S. A. C. **Caracterização in vitro dos efeitos de organofosforados e carbamatos sobre colinesterases plasmáticas e cerebrais de aves. Estudo da relação atividade colinesterásica cerebral: densidade de receptores muscarínicos de acetilcolina em diagnósticos de intoxicação aguda por estes praguicidas**. 2001. 139 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

VALKIUNAS, G. **Avian malaria parasites and other haemosporidia**. New York: CRC Press, 2005.

VALKIUNAS, G.; IEZHOVA, T. A.; BROOKS, D.; HANELT, B.; BRANT, S. SUTHERLIN,

M. E.; CAUSEY, D. Additional observations on blood parasites of birds in Costa Rica. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 3, p. 555–561, 2004.

VALKIUNAS, G.; IEZHOVA, T. A.; KRIZANAUSKIENE, A.; PALINAUSKAS, V.; SEHGAL, R. N. M.; BENSCHT, S. A comparative analysis of microscopy and PCR-based detection methods for blood parasites. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 6, p. 1395–1401, 2006.

VALKIUNAS, G.; SALAMAN, P.; IEZHOVA, T. A. Paucity of Hematozoa in Colombian Birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 3, p. 445–448, 2003.

VALKIUNAS, G.; SEHGAL, R. N.; IEZHOVA, T. A.; SMITH, T. B. Further observations on the blood parasites of birds in Uganda. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 3, p. 580–587, 2005.

VAN RIPER III, C.; VAN RIPER, S. G.; GOFF, M. L.; LAIRD, M. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. **Ecological Monographs**, v. 56, p. 327–344, 1986.

VIEIRA, E. D. R.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT environmental persistence from its use in a vector control program: a case study. **Environmental Research**, Section A, v. 86, p. 174–182, 2001.

WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S.; KIBOI, S.; HASSELQUIST, D.; OTTOSSON, U. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. **Molecular Ecology**, v. 11, p. 1545–1554, 2002.

WEIDENSAUL, S. **Raptors – the birds of prey**: an almanac of hawks, eagles, and falcons of the world. Shrewsbury: Swan Hill Press, 1996. 382 p.

WHITE, C. M. A review of the systematic of raptors. In: FOWLER, M. E. **Zoo and wild animal medicine**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p. 366–370.

WHITE, D.; HAYES, L. E.; BUSH, P. B. Case histories of wild birds killed intentionally with famphur in Georgia and West Virginia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 25, n. 2, p. 184–188, 1989.

WIEMEYER, S. N.; BUNCK, C. M.; STAFFORD, C. J. Environmental contaminants in bald eagle eggs - 1980–84 - and further interpretations on relationships to productivity and shell thickness. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 24, p. 213–227, 1993.

WILLIAMS, R. B. Avian malaria: clinical and chemical pathology of *Plasmodium gallinaceum*

in the domesticated fowl *Gallus gallus*. **Avian Pathology**, v.34, p. 29–47, 2005.

WOBESER, G.; BOLLINGER, T.; LEIGHTON, F. A.; BLAKLEY, B.; MINEAU, P. Secondary poisoning of eagles following intentional poisoning of coyotes with anticholinesterase pesticides in western Canada. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 2, p. 163-172, 2004.

WOODWORTH-LYNAS, C. B.; CAINES, J. R.; BENNETT, G. F. Prevalence of avian haematozoa in São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n. 4, p. 515-526, 1989.

WORK, T. M.; HALE, J. Causes of owl mortality in Hawaii, 1992 to 1994. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 32, n. 2, p. 266-273, 1996.

ZIMAN, M.; COLAGROSS-CHOUTEN, A.; GRIFFEY, S.; STEDMAN, B. *Haemoproteus* and *Leucocytozoon* spp in a captive raptor population. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 1, p. 137-140, 2004.