JEAN CARLOS ALVES BARBARA

**Avaliação do perfil sanitário de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*)
em ambiente urbano**

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

Orientador:

Profa. Dra. Tânia de Freitas Raso

São Paulo

2015

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.3127
FMVZ

Barbara, Jean Carlos Alves
Avaliação do perfil sanitário de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) em ambiente urbano
/ Jean Carlos Alves Barbara. -- 2015.
66 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.
Departamento de Patologia, São Paulo, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Tânia de Freitas Raso.

1. Rapinantes. 2. *Salmonella* spp. 3. *Mycoplasma* spp. 4. *Cryptococcus* spp. 5. Hematologia.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Avaliação do perfil sanitário de urubus-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) em ambiente urbano”, protocolado sob o nº 2865/2013, utilizando 120 (cento e vinte) urubus, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Tania de Freitas Raso, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da “Comissão de Ética no uso de animais” da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/5/2013.

We certify that the Research “Assessment of health profile of black vultures (*Coragyps atratus*) in urban environment”, protocol number 2865/2013, utilizing 120 (one hundred twenty) black vultures, under the responsibility Profa. Dra. Tania de Freitas Raso, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by “Ethic Committee in the use of animals” of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 5/15/2013.

São Paulo, 20 de maio de 2013.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 37849-1	Data da Emissão: 26/04/2013 11:04	Data para Revalidação*: 26/05/2014
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Tânia de Freitas Raso	
Título do Projeto: Avaliação do perfil sanitário de urubu-de-cabeça-preta (<i>Coragyps atratus</i>) em ambiente urbano	
Nome da Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP	CNPJ: 63.025.530/0019-33

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	<i>Coragyps atratus</i>
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	<i>Coragyps atratus</i>
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	<i>Coragyps atratus</i> (*Qtde: 120)

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Fragmento de tecido/órgão, Fezes, Ectoparasita, Sangue, Outras amostras biológicas (suabe de orofaringe e de cloaca)
2	Método de captura/coleta (Aves)	Outros métodos de captura/coleta/A captura será realizada com gaiolas do tipo armadilha

Destino do material biológico coletado

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

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

Código de autenticação: 55724436

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BARBARA, Jean Carlos Alves

Título: Avaliação do perfil sanitário de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) em ambiente urbano

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: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico esse trabalho aos meus pais, Valderlei e Teresinha,
e a minha irmã, Juliane.

AGRADECIMENTOS

À Deus que me deu forças para viver bem cada nova experiência.

Aos meus pais, Teresinha e Valderlei, e minha irmã, Juliane, que se tornaram pilares importantes para minha formação humana e me apoiaram. A vocês o meu amor e o meu mais profundo agradecimento.

À minha orientadora Professora Dra. Tânia de Freitas Raso pela orientação, compreensão, confiança e amizade.

Aos meus primos e familiares que permitiram uma estadia agradável em São Paulo e não mediram esforços para me ajudar quando precisei.

À Vivian Lindmayer Ferreira e ao Bruno Rogério Rui por se tornarem amigos essenciais.

Aos meus amigos e irmãos do Ministério Universidades Renovadas e da Comunidade Aliança de Misericórdia, expressão concreta do amor e da misericórdia de Deus na minha vida.

Aos meus amigos de departamento, Leonardo, Mariane, Camila e Yonara. Vocês contribuíram para que o mestrado fosse um tempo agradável e divertido. Demos boas risadas juntos, jamais esquecerei.

À Fundação Parque Zoológico de São Paulo pela parceria neste projeto, em especial ao Dr. João Batista Cruz.

À Fernanda Junqueira Vaz, Regiane Paiva, Michele Viana Katayama, Alessandra Mello Souza, Eli Carlos dos Santos, Larissa Aparecida Ferrari Oliveira, Leandro Vitor Barros da Silva, Marjory Spina e os demais técnicos, estagiários e funcionários do Zoológico de São Paulo que contribuíram na captura e manejo das aves.

À Professora Dra. Eliana Reiko Matushima, Fabíola Eloisa Setim Prioste e a Thais Caroline Sanches pelos ensinamentos sobre hematologia de aves, pela contribuição nas análises hematológicas e pela amizade.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida durante o mestrado e a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização dessa pesquisa.

RESUMO

BARBARA, J. C. A. **Avaliação do perfil sanitário de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) em ambiente urbano.** [Health evaluation of black vultures (*Coragyps atratus*) in urban environment]. 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

O urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) é uma ave de vida livre com ampla distribuição no Brasil. Esta espécie é comumente encontrada em áreas urbanas concentrando-se em locais de deposição de lixo. O fato de se alimentarem de carcaças em decomposição facilita o contato de urubus-de-cabeça-preta com muitos patógenos. No entanto, ainda não está clara qual a real implicação de muitos desses microrganismos para a saúde dos mesmos. Assim, o objetivo desse estudo foi investigar a ocorrência de alguns patógenos selecionados, avaliar o perfil hematológico e a microbiota cloacal de *C. atratus* em ambiente urbano. Para isso, amostras de sangue, soro e *swab* cloacal foram obtidos de 120 urubus de vida-livre capturados na Fundação Parque Zoológico de São Paulo, SP. A prova de soroaglutinação rápida (SAR) foi utilizada na detecção de anticorpos contra *Salmonella* Pullorum/Gallinarum, *Mycoplasma synoviae* e *M. gallisepticum*. O teste de aglutinação em látex (AL) foi utilizado para a pesquisa de antígeno de *Cryptococcus neoformans*. Foram utilizadas técnicas convencionais de hematologia, microbiologia e testes de sensibilidade microbiana. Das amostras de soro analisadas pela SAR, 15% foram reagentes para *M. gallisepticum*. Anticorpos contra *S. Pullorum/Gallinarum* e *M. synoviae* não foram detectados. Nenhuma amostra foi positiva para *C. neoformans* ou para hemoparasitas. A média e o desvio padrão dos seguintes valores hematológicos foram obtidos para 61 aves: eritrócitos ($1,8 \times 10^{12}/L$); leucócitos ($13,11 \times 10^9/L$); hemoglobina (10,4 g/dL); hematócrito (48,44%); VCM (275,1 fL); HCM (42 pg); CHCM (15,8 g/dL); proteína sérica total (3,76 g/dL); heterófilos (78%); linfócitos (13,5%); eosinófilos (5,4%); monócitos (2,8%); basófilos (0,1%); trombócitos ($14,14 \times 10^9/L$). De 75 colônias bacterianas isoladas de 20 *swabs* cloacais, 78,7% foram Gram-positivas e 21,3% Gram-negativas, sendo *Enterococcus* sp. o gênero mais frequente. Aproximadamente 86,7% das cepas isoladas foram resistentes a pelo menos um dos antibióticos testados. Cepas de *Bacillus* sp. e *Enterococcus casseliflavus* apresentaram resistência a sete dos oito antibióticos testados. Leveduras não foram isoladas em nenhuma das culturas. As informações obtidas nessa pesquisa são de suma importância, uma vez que poucos estudos avaliam o estado de saúde de urubus no mundo.

Palavras-chave: Rapinantes. *Salmonella* spp. *Mycoplasma* spp. *Cryptococcus* spp. Hematologia.

ABSTRACT

BARBARA, J. C. A. **Health evaluation of black vulture (*Coragyps atratus*) in urban environment.** [Avaliação do perfil sanitário de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) em ambiente urbano]. 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Black vulture (*Coragyps atratus*) is a free-living bird widely distributed across Brazil. These birds feed on rotting carcasses and large groups are commonly found in urban areas, including rubbish dumps. By feeding on decomposing carcasses, they are often exposed to innumerable pathogens. However, the role of infectious microorganisms on vulture's health still need to be clarify. Thus, the aim of this study was to investigate the occurrence of selected infectious agents, the hematological profile and cloacal microbiota of black vulture in urban areas. Therefore, blood, serum and cloacal swabs were obtained from 120 free-living vultures trapped in Fundação Parque Zoológico de São Paulo, SP. The rapid seroagglutination test (RST) was performed for detection of antibodies against *Salmonella Pullorum/Gallinarum*, *M. synoviae* and *M. gallisepticum*. Furthermore, latex agglutination test was used to detect *Cryptococcus neoformans*' antigen. Conventional techniques for hematology, microbiology and antimicrobial susceptibility testing were performed. From the serum samples analyzed by RST, 15% were positive for *M. gallisepticum*, antibodies against *S. Pullorum/Gallinarum* and *M. synoviae* were not detected. None sample was positive to *Cryptococcus neoformans* or hemoparasites. Mean and standard deviation from the following hematological values were obtained for 61 birds: erythrocytes ($1.8 \times 10^{12}/L$); leukocytes ($13.11 \times 10^9/L$); hemoglobin (10.4 g/dL); hematocrit (48.44%); MCV (275,1 fL); MCH (42 pg); MCHC (15,8 g/dL); total serum protein (3.76 g/dL); heterophils (78%); lymphocytes (13.5%); eosinophils (5.4%); monocytes (2.8%); basophils (0,1%); thrombocyte ($14.14 \times 10^9/L$). From 75 bacterial colonies isolated from 20 cloacal swabs, 78.7% were Gram-positive and 21.3% were Gram-negative. *Enterococcus* sp. was the most frequent genus. Approximately 86.7% of the isolated strains were resistant to at least one of the antibiotic tested. *Bacillus* sp. and *Enterococcus casseliflavus* strains shown resistance to seven in eight antibiotics tested. Yeasts were not isolated. The information obtained in this research is of paramount important since few studies have been carried out on the vulture's health condition in the world.

Keywords: Raptors. *Salmonella* spp. *Mycoplasma* spp. *Cryptococcus* spp. Hematology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Vista aérea do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP	31
Figura 2 - Armadilha do tipo covão utilizada na captura de urubus-de-cabeça-preta (<i>Coragyps atratus</i>) na FPZSP	32
Figura 3 - Esfregaço sanguíneo de urubu-de-cabeça-preta (<i>Coragyps atratus</i>) corado pela Coloração de Rosenfeld. A) monocamada de eritrócitos; B) linfócito (seta preta) e trombócito (seta branca); C) heterófilo (seta branca) e monócito (seta preta); D) heterófilo (seta branca) e eosinófilo (seta preta); E) heterófilo (seta branca), eosinófilo (seta preta) e trombócito (seta cinza); F) heterófilo (seta branca), basófilo (seta preta) e trombócito (seta cinza)	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores hematológicos médios ($\pm$ desvio padrão) de 61 <i>Coragyps atratus</i> de vida livre em São Paulo	41
Tabela 2 - Identificação de bactérias isoladas de <i>swab</i> cloacal de <i>Coragyps atratus</i> de vida livre e número de isolados resistentes a alguns antibióticos selecionados.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
AOU	<i>American Ornithologists' Union</i>
API	<i>Analytical Profile Index</i>
AST	<i>Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
°C	Grau Celsius
CBRO	Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
cm	Centímetros
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standart Institute</i>
dL	Decilitro
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
EPI	Equipamento de Proteção Individual
fL	Fentolitro
FPZSP	Fundação Parque Zoológico de São Paulo
g	Grama
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
m ²	Metros quadrados
MCH	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i>
MCHC	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i>
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i>
µl	Microlitro
mL	Mililitro
µm	Micrômetro
mm	Milímetro
mm ²	Milímetro quadrado
mm ³	Milímetro cúbico
NaCl	Cloreto de sódio
nm	Nanômetro
PEFI	Parque Estadual das Fontes do Ipiranga
pg	Picograma
pH	Potencial hidrogeniônico
PPT	Proteína Plasmática Total
rpm	Rotação por minuto
SAR	Soroaglutinação rápida em placa
SI	Sistema Internacional de Unidades

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	BIOLOGIA E ECOLOGIA DE URUBUS.....	16
2.2	EXPOSIÇÃO DE URUBUS A AGENTES INFECCIOSOS.....	17
2.3	<i>SALMONELLA</i> SP.	19
2.4	<i>MYCOPLASMA</i> SP.	21
2.5	<i>CRYPTOCOCCUS</i> SP.	23
2.6	HEMATOLOGIA.....	25
2.6.1	Hemograma	25
2.6.1.1	Hematócrito/Volume globular	25
2.6.1.2	Proteína plasmática total.....	26
2.6.1.3	Hemoglobina.....	26
2.6.1.4	Índices hematimétricos	27
2.7	HEMOPARASITAS DE AVES	27
2.8	MICROBIOTA CLOACAL DE AVES	28
3	OBJETIVOS.....	30
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1	ÁREA DE ESTUDO	31
4.2	CAPTURA DAS AVES E COLETA DAS AMOSTRAS	32
4.3	DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- <i>SALMONELLA</i>	33
4.4	DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- <i>MYCOPLASMA</i>	34
4.5	DETECÇÃO DE ANTÍGENO CAPSULAR DE <i>CRYPTOCOCCUS</i> SP.....	34
4.6	AVALIAÇÕES HEMATOLÓGICAS	35
4.6.1	Contagem total de eritrócitos e leucócitos	35
4.6.2	Avaliação do hematócrito.....	35
4.6.3	Concentração de hemoglobina.....	36
4.6.4	Concentração de proteína total sérica	36
4.6.5	Esfregaço sanguíneo	36
4.6.6	Contagem diferencial de leucócitos	37
4.6.7	Contagem estimada de trombócitos	37

4.6.8	Índices hematimétricos.....	37
4.7	ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA	38
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5	RESULTADOS	40
5.1	AVES AMOSTRADAS	40
5.2	<i>SALMONELLA</i> SP. E <i>MYCOPLASMA</i> SP.	40
5.3	<i>CRYPTOCOCCUS</i> SP.	40
5.4	PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS	41
5.5	HEMOPARASITAS	43
5.6	ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA	43
6	DISCUSSÃO.....	45
7	CONCLUSÕES.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Coragyps atratus* pertencente à Família Cathartidae, é uma ave popularmente conhecida como urubu-da-cabeça-preta e ocorre em várias partes do continente americano, inclusive no Brasil (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; BRITO, 2008). Em áreas urbanas, grandes grupos de urubus-de-cabeça-preta podem ser facilmente observados em regiões de lixões, despejo de dejetos, aterros sanitários ou ambientes com carcaças de animais em decomposição (SICK, 1997; LOWNY, 1999; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; SIGRIST, 2006; BRITO, 2008).

Os urubus desempenham um importante papel no ecossistema em que vivem principalmente por utilizarem carcaças de animais mortos como recurso alimentar e serem considerados “limpadores ambientais” (HOUSTON; COOPER, 1975; PAIN et al., 2003; OGADA et al., 2012). Entre os vários grupos de animais que apresentam hábito necrófago, os urubus são aves que utilizam quase que exclusivamente carcaças de animais mortos para compor sua dieta (WEIDENSAUL, 1996; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Não obstante a sua função em ambientes naturais, o papel dos urubus-de-cabeça-preta na epidemiologia de diversas doenças infecciosas ainda não foi elucidado (LOWNEY, 1999). O hábito de se alimentarem de animais em diferentes graus de decomposição pode expor essas aves a diversos patógenos (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; RUXTON; HOUSTON, 2004). Contudo, ainda não se conhece as implicações que muitos destes patógenos poderiam acarretar para a saúde do indivíduo, nem qual o real potencial desta espécie em disseminar estes agentes para outros animais ou humanos.

Embora os urubus-de-cabeça-preta de vida livre estejam adaptados aos ambientes urbanos e possam servir como potenciais veiculadores de doenças, até o presente momento, trabalhos que avaliem o perfil sanitário desta ave são escassos. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de anticorpos contra alguns agentes infecciosos de importância em medicina veterinária, avaliar o perfil hematológico e a microbiota cloacal desta espécie.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BIOLOGIA E ECOLOGIA DE URUBUS

No mundo já foram catalogadas 23 espécies de aves necrófagas comumente denominadas de urubus, abutres e condores, no entanto, não existe um consenso sobre qual Ordem melhor integraria estas espécies (RUXTON; HOUSTON, 2004). Sibley e Ahlquist (1990) baseados em pesquisas de hibridação do ácido desoxirribonucléico (DNA) e Avise et al. (1994) baseados em estudos de sequenciamento genético destas espécies, sugeriram que estas aves deveriam ser introduzidas na Ordem Ciconiiformes. A ideia de que os urubus pertençam a Ordem Ciconiiforme não é inconsistente; algumas semelhanças adaptativas entre urubus e ciconídeos, como por exemplo, o fato de defecarem sobre as pernas na tentativa de regular a temperatura do corpo, já haviam sido observadas (WEIDENSAUL, 1996). Por outro lado, alguns autores baseados em estudos morfológicos e anatômicos, propõem a permanência dos urubus na Ordem Falconiformes (GRIFFITHS, 1994; DE QUADROS, 2008). Para fins didáticos e devido a uma longa associação temporal com os Falconiformes, os urubus muitas vezes são estudados juntamente com as aves deste grupo (WEIDENSAUL, 1996; PEREIRA, 2007). Em 2010, a *American Ornithologist's Union* (AOU) reconheceu a Ordem Accipitriforme e incorporou a ela a Família Cathartidae (CHESSER et al., 2010). Entretanto, o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO) sugere que os urubus pertencentes a esta família constituam uma nova Ordem, a Ordem Cathartiformes (CBRO, 2014).

O urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*, Bechstein, 1793) juntamente com outras seis espécies de urubus constituem a família Cathartidae (Aves). Os integrantes desta família estão distribuídos pelo continente americano e, por vezes, são denominados de “Urubus do Novo Mundo” (WEIDENSAUL, 1996; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Dentre os urubus já catalogados, o gênero *Coragyps* sp. é o de menor tamanho. Possuem em média 62 cm (53-74 cm) de comprimento, 143 cm (133-160 cm) de envergadura e 1,6 Kg de peso. O bico é estreito e longo, o pescoço e cabeça são acinzentados e desprovidos de penas, a cauda e as asas são relativamente concisas, as pernas são compridas e a plumagem dos adultos normalmente é preta (WEIDENSAUL, 1996; SICK, 1997; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Esta espécie pode ser observada planando no céu, onde normalmente traçam trajetórias espirais sobre as áreas de nidificação ou sobre grandes áreas de planícies abertas, ou também

em solo se alimentando de carcaças de animais mortos (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; PAIN et al., 2003).

A espécie urubu-de-cabeça-preta é considerada gregária e formam grupos mesmo fora da temporada reprodutiva. Podem ser observados em grupos com poucos exemplares formando pequenas famílias, em grupos de 20 a 60 indivíduos, grupos com mais de 200 e até aglomerações com mais de 1.000 indivíduos. Contudo, algumas vezes a espécie é encontrada isolada ou aos pares (macho e fêmea) (WEIDENSAUL, 1996; LOWNY, 1999; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Bandos de urubus podem se adaptar às áreas rurais vivendo nas proximidades das fazendas, em campos com criações de animais, regiões de falésia, centros urbanos e localidades próximas às fontes d'água (ROBERTSON; BOSHOF, 1986; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001).

Os urubus se alimentam quase que exclusivamente de carcaças em decomposição, entretanto, as espécies da família Cathartidae podem complementar sua alimentação com frutos e outros vegetais (WEIDENSAUL, 1996; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). Embora utilizem restos de carcaças deixadas por outros predadores, por vezes, lhes resta como alternativa se alimentarem de animais que morreram por outras causas, como desnutrição, acidentes, parasitoses e doenças infecciosas (DEVAVULT; RHODES JR.; SHIVICK, 2003). Em épocas de escassez alimentar, quando se observa uma diminuição acentuada no comportamento de nidificação e reprodução, os urubus passam a maior parte do seu tempo migrando à procura de alimento. Na tentativa de encontrar comida, chegam a se deslocar 240 km de distância do ninho ou da colônia, no entanto, existem relatos de migrações com alguns animais se deslocando por mais de 1.100 km (HOUSTON; COOPER, 1975). Para DeVault et al. (2003) a disponibilidade de carniça no ecossistema influencia o comportamento e a ecologia dos urubus.

2.2 EXPOSIÇÃO DE URUBUS A AGENTES INFECCIOSOS

As causas reais que levam ao declínio de urubus em muitos lugares do mundo nem sempre chegam a ser conhecidas. Esta e outras aves “limpadoras” continuam fazendo parte de um grupo funcional muito ameaçado de extinção (SEKERCIOGLU, 2006). O declínio de urubus e abutres em alta escala, em diversas partes do mundo, foi algumas vezes associado a invasão humana com consequente degradação do seu habitat, escassez dos recursos

alimentares, ingestão de lixo humano, poluentes ambientais, intoxicações, baixo sucesso reprodutivo por diferentes fatores, eletrocussão, colisão com aeronaves, programas de controle em aeroportos ou aeródromos e doenças (LEDGER; ANNEGARN, 1981; PIPER et al., 1981; SATHEESAN; SATHEESAN, 2000; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; PAIN et al., 2003; FERNIE; REYNOLDS, 2005; HOUSTON et al., 2007; GANGOSO et al., 2009; KELLY; JOHNSON, 2011). Em alguns países, a perseguição humana por meio da caça e do envenenamento por pesticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos e outros defensivos agrícolas, também são hipóteses relevantes e que sustentam a diminuição em massa de várias espécies de urubus, abutres e condores (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; PAIN et al., 2003).

Na América do Norte, a exposição de urubus de vida livre ao chumbo foi associada à caça esportiva. Concentrações séricas mais elevadas do metal foram detectadas em urubus-de-cabeça-vermelha (*Cathartes aura*) nas temporadas de caça. Tais evidências apontam para o maior risco de exposição destas aves ao chumbo durante este período e isso, provavelmente, se deve ao fato dos urubus se alimentarem de carcaças de animais feridos ou mortos por munições contendo o metal (KELLY; JOHNSON, 2011). Todavia, até o momento não há informações sobre as principais causas de morte em urubus de vida livre no Brasil.

A espécie *Coragyps atratus* já foi utilizada como modelo experimental em estudos de resistência a microrganismos patogênicos (LIMA et al., 2011). Uma alta tolerância da espécie ao que seria uma dose letal de *Bacillus anthracis* e da toxina botulínica para outros grupos animais, já foi demonstrada através de experimentos com urubus-de-cabeça-preta alimentados com carne contaminada com a bactéria e com altas concentrações da toxina (KALMBACK, 1939). Acredita-se que a tolerância ou resistência aos microrganismos patogênicos e às diferentes toxinas é conferida por mecanismos inatos e adaptativos (OHISHI et al., 1979; CARVALHO et al., 2003). Dentre os principais mecanismos possivelmente envolvidos no processo de resistência aos patógenos estão: um tipo de digestão e absorção especializado, constituição do epitélio digestivo, pH do estômago, velocidade do trânsito e concentração de oxigênio no interior do lúmen gastrointestinal, substâncias antibióticas produzidas e secretadas pelo epitélio gástrico, pelo fígado e por microrganismos do trato gastrointestinal, além de outros aspectos da interação da microbiota residente com fungos e bactérias patogênicas (CARVALHO et al., 2003).

A capacidade de se exporem a uma série de agentes infecciosos e não desenvolverem doenças, não garante que os urubus escapem sempre imunes de todos os desafios de infecção por patógenos (RUDER et al., 2009). Infecções por diferentes agentes microbianos já foram

relatadas em urubus, demonstrando a sensibilidade destas aves aos diversos agentes. Entre os microrganismos que podem potencialmente infectar urubus incluem-se *Salmonella* spp. (SMITH et al., 2002) e *Mycoplasma* spp. (LIERZ et al., 2008; RUDER et al., 2009; GANGOSO et al., 2009), os quais podem causar doença em outras espécies animais, inclusive no homem (WAITES; TALKINGTON, 2004; KAHN, 2006). Ainda que não existam relatos de infecção por *Cryptococcus* sp. em urubus-de-cabeça-preta, acredita-se que esta e outras aves de rapina sejam potencialmente capazes de se infectar e disseminar este agente no meio ambiente (CAFARCHIA et al., 2006b).

2.3 *SALMONELLA* SP.

O gênero *Salmonella* spp. é constituído por bactérias Gram-negativas, com forma bacilar, não-esporuladas, anaeróbicas facultativas e que pertencem à família *Enterobacteriaceae*. Esses microrganismos são representados por apenas duas espécies, *S. bongori* e *S. enterica*, sendo esta última dividida em seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*) (GAST, 2008). Além das divisões em subespécies, a espécie *S. enterica* pode ser dividida em mais de 2.600 sorotipos (sorovares) diferentes, sendo que a maioria destes, aproximadamente 1.450 sorotipos, tem sido isolada de mamíferos e aves (DAOUST; PRESCOTT, 2007; GAST, 2008). Esta diferenciação sorológica das estirpes é determinada principalmente com base em diferenças moleculares de antígenos bacterianos de superfície, como antígenos somáticos, flagelares, capsulares e fimbriais (GERLACH, 1994a; WAGNER; HENSEL, 2011).

As salmonelas podem ser encontradas infectando intestinos de humanos e animais ou presentes na água, solo ou alimentos contaminados com fezes. Sua viabilidade no ambiente pode variar de dias a meses dependendo das diversas condições do meio, tais como temperatura, umidade, pH e incidência de luz solar (DAOUST; PRESCOTT, 2007). A capacidade de persistirem viáveis no meio ambiente é importante para que haja transmissão da bactéria para indivíduos susceptíveis. A via fecal-oral é a principal forma de transmissão e os indivíduos se infectam ingerindo principalmente água e alimentos contaminados (BARROW et al., 2010). No entanto, a transmissão vertical pela contaminação do ovo no trato reprodutivo também já foi demonstrada em aves de produção (GAST, 2008).

As salmonelas são reconhecidas como agentes potencialmente causadores de doenças em humanos e animais (SMITH et al., 2002). A susceptibilidade para o desenvolvimento da enfermidade é amplamente variável entre as diferentes espécies animais e os sorotipos de salmonelas envolvidos no processo de infecção (GERLACH, 1994a). Alguns sorotipos podem fazer parte da microbiota normal de alguns animais e não determinarem quaisquer sinais de doença, outros, porém, podem levar ao desenvolvimento de quadros graves de doença e resultar em óbito. Os hospedeiros que não desenvolvem sinais clínicos, na maioria das vezes, tornam-se reservatórios da bactéria podendo ser importantes disseminadores do microrganismo no meio ambiente (GERLACH, 1994a; GYLES; PRESCOTT, 2010).

A salmonelose é um termo genérico utilizado para designar doenças causadas por *Salmonella* spp. em humanos e animais. Nas aves, a doença normalmente se manifesta com sinais entéricos, contudo, sinais extra-intestinais também podem ocorrer (BARROW et al., 2010). Apenas uma pequena quantidade de salmonelas é espécie-específica e a gravidade da doença está diretamente ligada à condição imune da ave desafiada e ao sorotipo de salmonela envolvido no processo de infecção. Sabe-se que alguns indivíduos infectados podem desenvolver desde diarreia branda até alterações que expressam comprometimento generalizado dos órgãos (GERLACH, 1994a).

As aves silvestres podem ser muito sensíveis a *Salmonella* spp. e algumas infecções resultam em lesões de diversos órgãos e sistemas podendo inclusive levar ao óbito (PENNYCOTT et al., 2006). Lesões generalizadas em diversos órgãos são resultantes de septicemia. Enterites severas com congestão e necrose do intestino podem ocorrer. Dependendo da duração das lesões, a ave infectada pode apresentar perda de peso e atrofia da musculatura peitoral. Congestão, hemorragias e focos necróticos podem ser observados em pulmão, rim, baço, fígado, tecido subcutâneo, músculo peitoral e cérebro. Devido ao intenso processo inflamatório pode haver deposição de fibrina no pericárdio, peritônio e sacos aéreos. Em infecções crônicas podem ser observadas artrites, bursites, tenossinovites, aerosaculites e osteomielite multifocal (DAOUST; PRESCOTT, 2007).

Os sorotipos *S. Pulum* e *S. Gallinarum* são conhecidos por determinar, respectivamente, a pulorose e o tifo aviário em aves de produção. Esses dois sorotipos fazem parte de um grupo de salmonelas conhecidas como tíficas, que têm como características a ausência de motilidade. Na primeira metade do século XX, o impacto da pulorose e do tifo aviário em aves de produção resultou em um grande problema para a indústria avícola em várias partes do mundo. Nesta época, os sorotipos *Pulum* e *Gallinarum* foram encontrados algumas vezes em aves silvestres de vida livre. A maior parte destes achados foi relacionada à

proximidade das aves silvestres com locais que apresentavam surto de salmonelose em galinhas (DAOUST; PRESCOTT, 2007). Surto de *S. Pullorum* em Passeriformes e de *S. Gallinarum* em Columbiformes e Strigiformes, ainda que incomuns, foram relatados, demonstrando que mesmo que sejam mais estudados em aves comerciais, estes sorovares são capazes de infectar outros grupos de aves silvestres (SHIVAPRASAD; BARROW, 2008). Embora os relatos de doenças causadas por *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* em urubus e outras aves silvestres sejam escassos ou inexistentes, sabe-se que mesmo sem adoecerem algumas espécies de aves podem se tornar fontes de infecção para outros animais, disseminando o microrganismo no meio ambiente (SILVA et al., 2010).

As salmonelas denominadas paratíficas fazem parte de um grupo formado por um grande número de sorotipos que normalmente não determinam sinais clínicos de doença nas aves de produção (GAST, 2008). Essas salmonelas são as mais frequentemente envolvidas nas infecções no homem e em outras espécies animais, incluindo as aves silvestres (REAVIL, 1996; CDC, 2014). Em 2009, foi encontrada uma prevalência de anticorpos contra *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium* de 20% e 26%, respectivamente, em abutres do gênero *Gyps* sp. provenientes das Ilhas Canárias, indicando que em condições naturais essas aves foram expostas à bactéria (GANGOSO, 2009). Estudos mais antigos, já consideraram que urubus-de-cabeça-preta que possuem acesso direto a lixões podiam ser possíveis carreadores do sorovar *S. Typhimurium* para outros animais (EVERRARD et al., 1979). Alguns autores afirmam que a prevalência de *Salmonella* spp. no intestino de várias espécies de aves silvestres de vida livre está correlacionada diretamente com a proximidade dessas aves às pessoas e criações de animais de produção (DAOUST; PRESCOTT, 2007). Porém, fatores envolvidos na epidemiologia e nas infecções por salmonelas em urubus-de-cabeça-preta ainda não foram esclarecidos.

2.4 MYCOPLASMA SP.

O gênero *Mycoplasma* sp. pertence à Classe dos *Mollicutes* e é responsável por causar uma enorme variedade de doenças em humanos, peixes, répteis, aves, mamíferos, plantas e insetos (KLEVEN; FERGUSON-NOEL, 2008; BROWNING et al., 2010). Eles constituem um grupo de bactérias com tamanho reduzido (300 nm) e não possuem parede celular (BROWNING et al., 2010). Mais de 120 espécies de micoplasmas já foram descritas, sendo

que pelo menos 23 delas são capazes de infectar aves, e destas, 17 já foram identificadas em aves silvestres (LUTTRELL; FISCHER, 2007; KLEVEN, 2008). Dentre as espécies mais frequentemente encontradas em aves destacam-se: *Mycoplasma gallisepticum*, *M. meleagridis* e *M. synoviae* (FRIEND; FRASON, 2001). Alguns *Mycoplasma* sp. tendem a possuir maior especificidade por determinado hospedeiro, enquanto outros podem ter maior habilidade de infectar diferentes espécies. A maior parte das espécies que infecta animais estabelece colônias não-invasivas sobre superfícies mucosas, entretanto, algumas estipes podem apresentar alta capacidade de penetração celular causando maiores danos ao hospedeiro (KLEVEN; FERGUSON-NOEL, 2008).

As doenças causadas por *Mycoplasma* sp. são denominadas de micoplasmoses e em aves de produção são conhecidas por determinarem perdas econômicas significativas, principalmente por ocasionarem redução na produção de ovos, retardo no crescimento das aves e condenação de carcaças abatidas (KLEVEN, 2008). As infecções por *Mycoplasma gallisepticum* são responsáveis por causar a doença respiratória crônica das galinhas e sinusite dos perus, enquanto que a espécie *Mycoplasma meleagridis* é normalmente isolada de criações de perus sendo muitas vezes relacionada com quadros respiratórios, perda de peso, deformidades esqueléticas e diminuição da eclodibilidade dos ovos (LEY, 2008; CHIN et al., 2008). O *Mycoplasma synoviae* é encontrado determinando artrites e sinovites, porém, em casos de infecções concomitantes com o vírus da bronquite infecciosa, com o vírus da Doença de Newcastle ou com ambos, ele é capaz de causar ou agravar lesões no trato respiratório acometendo principalmente os sacos aéreos das aves infectadas (KLEVEN; FERGUSON-NOEL, 2008).

Durante muito tempo, a micoplasmoze foi considerada uma doença de pouca importância para as espécies selvagens. Em 1994, uma epidemia de conjuntivite causada por *Mycoplasma gallisepticum* se disseminou rapidamente entre Passeriformes nos Estados Unidos. Este surto consumiu grandes esforços das autoridades locais alertando os pesquisadores para a importância do agente em vida livre (DHONDT et al., 1998). Até então, esse tipo de manifestação clínica da doença não havia sido relatado (LUTTRELL; FISCHER, 2007). A doença em Passeriformes é caracterizada por conjuntivite severa com produção de exsudado ocular e nasal; à medida que progride, podem ocorrer sinais de depressão grave, letargia, perda de peso, desconforto respiratório e morte (LEY et al., 1997).

As micoplasmoses também tem apresentado importância em aves de rapina. Cepas caracterizadas como *M. gallisepticum* já foram isoladas a partir de falcões-peregrino (*Falco peregrinus*) que apresentavam doença respiratória e sinusite (POVEDA et al., 1990). As

espécies *M. buteonis*, *M. falconis* e *M. gypis* foram isoladas pela primeira vez a partir de traquéia de águia-de-asa-redonda (*Buteo buteo*), falcão-sacre (*Falco cherrug*) e de abutre-fouveau (*Gyps fulvus*), respectivamente (POVEDA et al., 1994). De fato, *M. buteonis*, *M. falconis* e *M. gyps* têm sido descritos como patogênicos para rapinantes podendo ser algumas vezes relacionados com manifestações como sinovites, aerosaculites e pneumonias (GERLACH, 1994b; LIERZ et al., 2008). O *Mycoplasma falconis* tem sido descrito apenas em Falconidae, enquanto que espécies como *M. buteonis* e *M. gypis* têm sido relacionados tanto com a Família Falconidae quanto com a Família Accipitridae (LIERZ et al., 2008).

A espécie *Mycoplasma corogyps* foi descoberta nos Estados Unidos depois de ser isolada de um abscesso de coxim plantar de um *Coragyps atratus* (PANANGALA et al., 1993). Em 2009, essa mesma espécie de *Mycoplasma* foi identificada como causa de poliartrite em um urubu-de-cabeça-preta com dificuldade de voo. Na análise clínica foram observados aumentos de volume nas articulações do carpo, jarrete e tarso (RUDER et al., 2009).

2.5 CRYPTOCOCCUS SP.

O *Cryptococcus* sp. é uma levedura patogênica de importância em medicina veterinária e humana. As leveduras deste gênero pertencem ao grupo dos basidiomicetos e se apresentam normalmente na forma de células de tamanho variável (2 a 20 µm), arredondadas ou ovóides, isoladas ou unidas por brotamentos (KWON-CHUNG, 1992). Esses organismos possuem uma cápsula de mucopolissacarídeo e são capazes de formar esporos ovais recobertos por uma espessa parede. Os esporos são as formas responsáveis pela manutenção da viabilidade do organismo no meio ambiente (MURRAY et al., 2009). O gênero é composto por aproximadamente 70 espécies, dentre estas, as mais comumente relacionadas com doenças em humanos e animais são *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* (LEVITZ; BOEKHOUT, 2006). Para essas espécies de maior relevância, quatro sorotipos importantes já foram identificados: sorotipo A (*C. neoformans* var *grubii*), sorotipos B e C (*Cryptococcus gattii*) e sorotipo D (*C. neoformans* var *neoformans*) (MURRAY et al., 2009).

As leveduras do gênero *Cryptococcus* sp. possuem distribuição geográfica mundial e podem ser isoladas dos mais diferentes ambientes, como água, ar, solo, locais com excretas de aves, ambientes com folhas, madeiras em decomposição e a partir de mucosas de diferentes

espécies animais (KHAWCHAROENPORN et al., 2007). Sabe-se que os esporos são partículas infectantes que podem se espalhar pelo ar e serem facilmente inalados por indivíduos susceptíveis à infecção (TORTORA et al., 2012). Em humanos, a infecção por via respiratória está normalmente relacionada com a inalação ou ingestão de poeira oriunda de locais contaminados por fezes ressecadas de aves ou ingestão de alimentos contaminados com essas excretas (SILVA; CAPUANO, 2008). Locais contendo fezes de aves formam um habitat alcalino rico em sais nitrogenados e outros compostos orgânicos capazes de favorecer o crescimento e proliferação do fungo no meio ambiente (MURRAY et al., 2009).

A criptococose é o nome dado à doença causada por *Cryptococcus* sp. e que ganhou maior importância após a ascensão do número de casos de pacientes humanos com AIDS (CLARK et al., 1990). Trata-se de uma zoonose e devido à extensa literatura descrita que evidencia a presença da levedura em excretas de pombos e a possível relação dessa ave com a infecção em humanos, a maioria dos estudos se restringem aos Columbiformes. Contudo, é possível que outras aves silvestres estejam envolvidas na epidemiologia da doença e na transmissão do fungo para o homem (CAFARCHIA et al., 2006a; CAFARCHIA et al., 2006b).

Apesar de existirem evidências de que a grande maioria das cepas de *C. neoformans* não consiga sobreviver nas condições de temperatura das aves, cepas termotolerantes têm sido isoladas (ROSARIO et al., 2008). Embora alguns aspectos, como a transmissão do fungo entre aves, não sejam bem conhecidos, o fungo tem sido relatado como agente causador de doenças em psitacídeos e columbídeos (MALIK et al., 2003; RASO et al., 2004). A forma de apresentação da doença é variada podendo resultar em dispnéia, formação de massas caseosas na região dos seios infraorbitários, diarreia, perda de peso e sinais que indicam comprometimento neurológico (BAUCK, 1994).

Em relação aos rapinantes, um isolado de *C. neoformans* var. *neoformans* foi obtido a partir de amostras de fezes coletadas do recinto de carcarás (*Polyborus plancus*) no Zoológico de Cali, na Colômbia. Porém, o isolamento direto a partir de amostras da cloaca ou de fezes frescas não foi realizado (CAICEDO et al., 1999). *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* foi isolado de amostras cloacais de Falconiformes, tais como o Penereiro (*Falco tinnunculus*) e a águia-de-asa-redonda (*Buteo buteo*) indicando que essas aves poderiam ser fontes de infecção e disseminadoras do agente no meio ambiente (CAFARCHIA et al., 2006b).

2.6 HEMATOLOGIA

A hematologia das aves constitui uma ferramenta capaz de auxiliar no diagnóstico de doenças, na avaliação das respostas de animais aos tratamentos empregados, no estabelecimento de prognósticos e também gerar informações que substanciem bancos de dados (). Esses bancos de dados hematológicos podem ser usados na determinação de valores de referência que contribuem para avaliação futura da saúde geral das espécies, sejam elas de populações cativas ou de vida livre (JONES, 2015).

2.6.1 Hemograma

O hemograma é composto pela coleção de testes utilizados para avaliar quantitativamente e qualitativamente os elementos sanguíneos. Dentre os testes que compõem o hemograma das aves do estudo enquadram-se: hematócrito, proteína plasmática total, hemoglobina, contagem de eritrócitos, leucócitos e trombócitos, índices hematimétricos e análise diferencial de leucócitos (CAMPBELL; ELLIS, 2007).

2.6.1.1 Hematócrito/Volume Globular

Separando o sangue em duas porções é possível calcular a proporção do volume da massa eritrocitária em relação ao volume plasmático em amostras sanguíneas; a esse tipo de medida dá-se o nome de hematócrito ou volume globular (CAMPBELL; ELLIS, 2007).

Diversas situações podem estar envolvidas nas variações do hematócrito em aves. Aves que vivem em altas altitudes tendem a ter hematócrito maior que àquelas que vivem em altitudes mais baixas (BORRAS et al., 2010). A desidratação também pode resultar na elevação do hematócrito, porém, neste caso, isso não ocorre em detrimento do aumento do volume da massa eritrocitária, mas, por diminuição do volume plasmático (aumento relativo do hematócrito). Em contrapartida, a diminuição dos valores de hematócrito está normalmente

relacionada a quadros de anemia, hemorragias, doenças crônicas e deficiências nutricionais (FUDGE, 2000).

2.6.1.2 Proteína Plasmática Total

O plasma sanguíneo é constituído por diversas proteínas tais como as globulinas, a albumina e o fibrinogênio. A albumina é a proteína mais abundante no plasma representando cerca de 40 a 50% de toda a proteína plasmática total (PPT). Essa proteína é sintetizada no fígado e é responsável pelo transporte de diversos compostos pelo sangue; a sua redução pode afetar também o transporte de outras substâncias pelo organismo (KANEKO et al., 1997).

As PPT são importantes na manutenção da homeostase do organismo e estão intimamente relacionadas com a manutenção da pressão sanguínea e a manutenção do potencial hidroeletrolítico (pH). Fatores como idade, sazonalidade e doenças podem alterar as concentrações de PPT em aves e; a diminuição de concentrações séricas pode decorrer de doenças hepáticas crônicas, afecções renais, má-nutrição e hiper-hidratação iatrogênica. Seu aumento (aumento relativo) está normalmente relacionado com os quadros de desidratação (LUMEIJ, 1997).

2.6.1.3 Hemoglobina

A hemoglobina é uma metaloproteína intra-eritrocitária formada por cadeia proteica ligada ao grupamento heme que contém íons de ferro. Ela é a principal proteína responsável pelo transporte de oxigênio pelos tecidos. Além de inferir sobre a capacidade de oxigenação dos tecidos, a determinação da concentração sérica de hemoglobina é usada no cálculo de índices hematimétricos que auxiliam a classificar diversos tipos de anemias (FUDGE, 2000).

2.6.1.4 Índices Hematimétricos

Os índices hematimétricos, VCM (volume corpuscular médio), CHGM (concentração de hemoglobina globular média) e HCM (hemoglobina corpuscular média), são parâmetros calculados com base nos valores do hematócrito, da hemoglobina e de eritrócitos totais e que permitem avaliar o volume eritrocitário e a distribuição da hemoglobina no sangue. Os cálculos utilizados na determinação destes índices são os mesmos empregados em hematologia de répteis e mamíferos (CAMPBELL; ELLIS, 2007).

O VCM é um resultado capaz de avaliar variações no tamanho dos eritrócitos e seu resultado pode ser expresso em fentolitros (fLs). Anemias com resultados de VCM acima, abaixo ou dentro do intervalo de referência são classificadas como macrocíticas, microcíticas e normocíticas, respectivamente (LASSEN; WEISER, 2007). A CHCM é calculada a partir da concentração de hemoglobina e do hematócrito indicando a quantidade de hemoglobina presente na massa eritrocitária compactada. Na maioria dos animais o aumento desse índice pode estar associado a quadro de hemólise e lipemia. Discretas diminuições podem indicar anemia regenerativa acentuada e deficiência de ferro. O HCM refere-se à proporção de hemoglobina pelo volume eritrocitário. Tanto a diminuição de HCM quanto a de CHCM caracterizam os quadros de hipocromasia e isso pode ocorrer por diferentes processos, como deficiência de ferro, doenças inflamatórias e crônicas e intoxicações por chumbo (CAMPBELL; ELLIS 2007; LASSEN; WEISER, 2007).

2.7 HEMOPARASITAS DE AVES

Dentre os parasitas comumente encontrados em esfregaço sanguíneo de aves incluem-se *Haemoproteus* sp., *Plasmodium* sp., *Leukocytozoon* sp. e microfilária (CAMPBELL, ELLIS, 2007). Os gêneros *Haemoproteus* sp., *Plasmodium* sp. e *Leukocytozoon* sp. são protozoários intraeritrocitários pertencentes a Ordem Haemosporida, Filo Apicomplexa; as microfilárias são formas larvais de nematóides filarídeos. Esses parasitas são inoculados na corrente sanguínea de aves por meio da picada de insetos hematófagos. Dípteros das famílias Hippoboscidae e Ceratopogonidae são os vetores mais importantes na transmissão dos hemosporídeos. A transmissão das microfilárias tem sido associada a dípteros das famílias

Simuliidae, Ceratopogonidae, Tabanidae e Culicidae (VALKIUNAS, 2005; BRAGA et al., 2010).

O gênero *Haemoproteus* sp. já foi identificado em várias espécies de aves silvestres, porém, a sua patogenicidade é frequentemente baixa. Sinais de doença causados por este parasita estão normalmente relacionados com doenças primárias que resultam em comprometimento imunológico da ave parasitada. O gênero *Plasmodium* sp. é conhecido por determinar a doença conhecida como malária das aves. Surtos dessa doença ocorrem esporadicamente, estando os rapinantes entre os grupos de aves altamente susceptíveis ao desenvolvimento da enfermidade clínica. As infecções por *Leukocytozoon* sp. e microfilárias são normalmente subclínicas ou pouco danosas ao hospedeiro, porém, não raramente, esses parasitas também são descritos em aves silvestres de vida livre (CAMPBELL; ELLIS, 2007).

As infecções por hemoparasitas em rapinantes podem causar doença, particularmente quando estes são submetidos a fatores estressantes (CHEBZ; AGUILAR, 2001). Uma nova espécie de *Haemoproteus*, *H. catharti*, foi descrita a partir de esfregaços sanguíneos de urubude-cabeça-vermelha (*Cathartes aura*) na Carolina do Sul (GREINER et al., 2011), no entanto, relatos deste e de outros hemoparasitas em *C. atratus* são raros.

2.8 MICROBIOTA CLOACAL DE AVES

O termo microbiota é usado para descrever toda a população de microrganismos que povoam um determinado tecido e englobam não apenas bactérias, mas também vírus, fungos e protozoários (QUIGLEY et al., 2013). A microbiota residente ou colonizadora consiste em microrganismos encontrados com alta regularidade no tecido e mesmo que por algum motivo se ausentem, tendem naturalmente a recolonizá-lo. Já a microbiota transitória ou contaminante é formada por microrganismos patogênicos ou não, que provêm do meio ambiente e que se estabelecem no tecido por um tempo menor que a microbiota residente (variando de horas a semanas). A presença de alguma microbiota transitória juntamente a uma microbiota residente bem estabelecida em geral não determina grandes consequências para o hospedeiro, porém, se por algum motivo ocorre o desequilíbrio da microbiota residente, a microbiota transitória pode se estabelecer no tecido e causar doença (TANNOCK, 1995).

O conhecimento da microbiota residente ou transitória que compõe as diferentes áreas do organismo é essencial para a compreensão das doenças infecciosas que acometem homens

e animais (TORTORA et al., 2012). Sabe-se que muitos dos agentes conhecidamente patogênicos para animais e humanos fazem parte da microbiota residente do trato gastrointestinal de aves (CAFARCHIA et al., 2006a; BRILHANTE et al., 2010). Por serem mantenedoras naturais de muitos desses agentes, as aves silvestres de vida livre são potencialmente capazes de transportar e disseminar estes agentes no meio ambiente (HUBÁLEK, 2004).

As culturas cloacais representam uma importante ferramenta de diagnóstico complementar na avaliação da saúde das aves, contudo, para que sejam interpretadas de forma adequada é necessário que as espécies de microrganismos isolados sejam comparadas com a microbiota normal da espécie (RUPLEY, 1999). É possível que a cloaca das aves seja a região do trato digestório com o maior número de bactérias. Estudos demonstram que a microbiota intestinal das aves varia conforme a porção do intestino, aumentando em densidade e diversidade nas regiões mais distais do trato (WISE; SIRAGUSA, 2007; ALEGRETTI, 2009).

A microbiota cloacal das aves é diretamente influenciada por fatores ecológicos, pela dieta e pelo habitat dos diferentes grupos de aves podendo variar entre espécies e até mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie (RUPLEY, 1999; CAFARCHIA et al., 2006a). Uma vez estabelecida, a manutenção da microbiota local dependerá de fatores físicos, químicos, imunológicos e microbiológicos (MELVILLE et al., 2004; CAFARCHIA et al., 2006a).

Um quadro sugestivo de enterite bacteriana por desequilíbrio da microbiota residente intestinal em um abutre-indiano-de-dorso-branco (*Gyps bengalensis*) foi descrito na Índia (KUMAR, 2012). Dentre os grupos de microrganismos que fazem parte da microbiota cloacal das aves, as bactérias e os fungos são comumente isolados. As bactérias que compõem a microbiota cloacal da maioria das aves são compostas predominantemente por bactérias gram-positivas tais como *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. (não *S. aureus* e nem *Staphylococcus* β -hemolítico), *Corynebacterium* sp., *Bacillus* sp. e *Lactobacillus* sp., entretando, alguns gêneros de bactérias gram-negativas também podem ocorrer. Entre os fungos, *Cryptococcus* sp. e *Candida* sp. são os gêneros de leveduras comumente descritos nos diversos grupos de aves, inclusive em rapinantes (CAFARCHIA et al., 2006b).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Em vista da escassez de informações sobre a situação sanitária de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) no meio urbano, este estudo teve como objetivo pesquisar a ocorrência de alguns agentes infecciosos e avaliar o perfil hematológico desta espécie na cidade de São Paulo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a presença de anticorpos anti-*Salmonella* Pullorum/Gallinarum utilizando a reação de soroaglutinação rápida;
- Avaliar a presença de anticorpos anti-*Mycoplasma synoviae* e anti-*Mycoplasma gallisepticum* utilizando a reação de soroaglutinação rápida;
- Avaliar a presença de antígeno capsular de *Cryptococcus* sp. por meio do teste de aglutinação em látex;
- Avaliar o perfil hematológico de urubus;
- Avaliar a microbiota cloacal das aves;
- Adquirir dados que auxiliem no conhecimento dos aspectos sanitários da espécie.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

A Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP) ocupa uma área de aproximadamente 824.529 m² e compreende um grande lago originado das nascentes do histórico riacho do Ipiranga. O lago é utilizado na exposição de aves aquáticas pertencentes ao plantel de animais do zoológico atraindo aves de vida livre de diversas espécies, incluindo o urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*).

A FPZSP juntamente com outros parques e órgãos estaduais estão localizados no interior do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), na Região Sudeste do município de São Paulo e é completamente circundada por área densamente urbanizada (Figura 1) (CONDEFEPI, 2014).

Figura 1 – Vista aérea do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP

Fonte: www.googlemaps.com.br

4.2 CAPTURA DAS AVES E COLETA DAS AMOSTRAS

A captura dos urubus-de-cabeça-preta amostrados neste estudo foi realizada na área da FPZSP. Como local de captura das aves foi definido um ponto localizado à margem do lago principal onde foi colocada uma gaiola do tipo covo, armadilha utilizada na captura das aves (Figura 2). Além de um número abundante de urubus, o local escolhido foi priorizado por possuir fácil acesso, permitir a revisão periódica da armadilha, a realização dos procedimentos de coleta de material biológico no local de captura e estar distante do público. Para atrair as aves para a gaiola, iscas de carne de frango foram colocadas no interior da armadilha.

Figura 2 – Armadilha do tipo covo utilizada na captura de urubus-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) na FPZSP

Fonte: (BARBARA, 2015).

Equipamentos de proteção individual (EPI) foram utilizados por todos os membros da equipe durante todos os procedimentos. Os urubus capturados foram retirados das armadilhas com auxílio de puçás. Após a adequada contenção manual, as aves foram marcadas com o corte da 6ª e da 7ª pena primária da asa direita. Esse tipo de marcação possibilitou identificar

as aves recapturadas nas amostragens subsequentes para que não fossem novamente amostradas.

Com o uso de agulhas e seringas estéreis foram colhidas amostras de sangue por punção da veia metatarso-medial. Aproximadamente 2 mL de sangue coletado foram acondicionados em tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e outros 2 mL armazenados em tubo seco para obtenção posterior do soro. Esfregaços sanguíneos foram confeccionados no momento da coleta. Amostras de *swab* cloacal foram colhidas e armazenadas em meio semi-sólido de transporte (Stuart) para posterior isolamento de microrganismos.

As amostras biológicas foram adequadamente armazenadas em gelo e levadas até o laboratório. Amostras de sangue armazenadas em tubo seco foram centrifugadas a 2.000 rpm por 15 minutos e o soro armazenado em microtubos para uso nos testes sorológicos. As análises hematológicas e sorológicas foram realizadas em até 24 horas após a colheita.

4.3 DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-SALMONELLA

A detecção de anticorpos anti-*Salmonella* Pullorum/Gallinarum nas amostras de soro foi feita com o teste de soroaglutinação rápida em placa (SAR) utilizando antígeno comercial (Pulor test[®], Biovet, São Paulo). Os testes foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante do antígeno utilizando soros padrão controle negativo e positivo.

Para realização dos testes foi utilizada uma placa de vidro e os soros à temperatura ambiente. Para cada reação foram adicionados 50 µL de soro teste e 50 µL do antígeno, homogeneizando com movimentos circulares por cerca de cinco segundos com o auxílio de uma ponteira. Após dois minutos foi feita a leitura pela observação da formação ou não de grumos característicos. O soro foi considerado reagente quando havia formação de grumos e não-reagente quando a reação permanecia homogênea ou com grumos inespecíficos e grosseiros.

4.4 DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-MYCOPLASMA

A detecção de anticorpos anti-*Mycoplasma synoviae* e anti-*Mycoplasma gallisepticum* nas amostras de soro foi feita com o teste de soroaglutinação rápida em placa (SAR) utilizando antígeno comercial (Synovitest® e Myco-Galli Teste®, Biovet, São Paulo). Os testes foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante do antígeno, utilizando soros controle negativo e positivo.

Para realização dos testes foi utilizada uma placa de vidro e os soros à temperatura ambiente. Para cada reação foram adicionados 50 µL de soro teste e 50 µL do antígeno, homogeneizando com movimentos circulares por cerca de cinco segundos com o auxílio de uma ponteira. Após dois minutos foi feita a leitura pela observação da formação ou não de grumos característicos. O soro foi considerado reagente quando havia formação de grumos e não-reagente quando a reação permanecia homogênea ou com grumos inespecíficos e grosseiros.

4.5 DETECÇÃO DE ANTÍGENO CAPSULAR DE *CRIPTOCOCCUS* SP.

A pesquisa de antígeno polissacarídeo capsular de *Cryptococcus* sp. nas amostras de soro foi feita com kit comercial (*Latex-Cryptococcus antigen Detection System* Immy®, Immuno-Mycologics, EUA) seguindo as instruções do fabricante, com adaptações para o volume de soro teste utilizado. Inicialmente, 150 µL de cada soro teste foram adicionados à 25 µL de pronase e incubados a 56°C por 30 minutos. Em seguida, foram adicionados 25 µL de inibidor da pronase e homogeneizado levemente. Após este tratamento com a pronase, 25 µL de cada soro teste e 25 µL de látex foram adicionados na superfície do cartão de leitura presente no kit e homogeneizados por cinco minutos. A leitura do teste foi feita pela observação da formação ou não de grumos característicos. O soro foi considerado reagente quando houve formação de grumos e não-reagente quando a reação permaneceu uniforme ou com grumos inespecíficos e grosseiros. Amostras de soros controle positivo e negativo provenientes do kit foram utilizadas.

4.6 AVALIAÇÕES HEMATOLÓGICAS

A metodologia empregada nas avaliações hematológicas segue a descrita por Campbell e Ellis (2007).

4.6.1 Contagem total de eritrócitos e leucócitos

Para estimar eritrócitos e leucócitos totais o sangue colhido em EDTA foi inicialmente diluído (1:200) em Violeta-metil 2B (Solução de Natt e Herrick) e depois homogeneizado por 15 minutos. Em seguida, uma alíquota da amostra de sangue diluída foi transferida para câmara de Neubauer (hemocitômetro) e analisada em microscópio de luz convencional em aumento de 40X. Os eritrócitos foram quantificados em cinco dos 25 quadrantes centrais da câmara e os leucócitos em quatro quadrantes com área de 1 mm². Os valores obtidos na contagem dos eritrócitos e leucócitos foram utilizados em cálculos matemáticos que permitiram estimar o número total de eritrócitos e leucócitos por milímetro cúbico (mm³) de sangue, sendo:

$$\text{Eritrócitos totais} = \text{resultado da soma dos valores contados em 5 quadrantes} \times 10.000$$

$$\text{Leucócitos totais} = (\text{resultado da soma dos valores em 4 quadrantes} + 10\%) \times 200$$

Posteriormente, os valores de eritrócitos (células x10⁶/mm³) e de leucócitos (células/mm³) foram convertidos para 10¹²/L e 10⁹/L, respectivamente, de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (SI).

4.6.2 Avaliação do Hematócrito

O hematócrito foi determinado pelo Método do microhematócrito. Tubos capilares (1,2 x 75 mm) foram parcialmente preenchidos com sangue total, selados e centrifugados em

centrífuga de microhematócrito a 10.000 rpm por 10 minutos. Os resultados foram interpretados utilizando cartões de microhematócrito com escala de leitura. Observando na escala o limite de separação da massa eritrocitária com o plasma foi obtido o hematócrito em volume percentual.

4.6.3 Concentração de hemoglobina

A concentração de hemoglobina foi mensurada pelo Método da Cianometahemoglobina, onde 20 µL do sangue total foram adicionados a 5 mL de reagente de hemoglobina e centrifugados por 10 minutos a 20.000 rpm. Após a centrifugação, as amostras foram lidas em espectrofotômetro com absorbância de 540 nm.

4.6.4 Concentração de proteína total sérica

A dosagem de proteína plasmática total foi mensurada em refratômetro, utilizando alíquotas de plasma obtidas por centrifugação do sangue total.

4.6.5 Esfregaço sanguíneo

As lâminas de esfregaço sanguíneo feitas no momento da coleta foram coradas segundo a técnica de Rosenfeld (1947). Neste método de coloração, 1 mL do corante de Rosenfeld foi colocado sobre o esfregaço sanguíneo e após 3 minutos, 2 mL de água destilada foi acrescentada sobre o corante depositado na lâmina. Após 13 minutos a lâmina foi lavada e seca em temperatura ambiente, sendo analisadas em microscópio de luz convencional em aumento de 100X. A avaliação dos esfregaços permitiu a contagem diferencial de leucócitos e a contagem estimada de trombócitos; bem como a pesquisa de hemoparasitas.

4.6.6 Contagem diferencial de leucócitos

Em campos escolhidos de forma aleatória em diversas regiões da lâmina foram contabilizados 100 leucócitos diferenciando-os morfolologicamente em heterófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos. Dessa forma, a contagem diferencial dos leucócitos foi expressa em valores percentuais. Multiplicando os valores percentuais pelos valores de leucócitos totais, também foi possível estimar a quantidade de cada tipo celular.

4.6.7 Contagem estimada de trombócitos

A contagem estimada de trombócitos foi obtida através da avaliação aleatória de cinco campos do esfregaço sanguíneo em aumento de 100X com aproximadamente 200 células por campo. A média entre os campos contados foi multiplicada pelo número total de eritrócitos e em seguida dividida por 1.000. Os valores determinados em células/mm³ foram convertidos para 10⁹/L de acordo com o SI.

4.6.8 Índices Hematimétricos

Os índices hematimétricos, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração e Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) foram determinados com base nos parâmetros hematológicos relacionados:

$$\text{Volume Corpuscular Médio (VCM)} = \frac{\text{hematócrito} \times 10}{\text{total de eritrócitos}}$$

$$\text{Hemoglobina Corpuscular Média (HCM)} = \frac{\text{hemoglobina} \times 10}{\text{total de eritrócitos}}$$

$$\text{Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)} = \frac{\text{hemoglobina} \times 10}{\text{hematócrito}}$$

4.7 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Para realizar o isolamento bacteriano os *swabs* cloacais foram semeados em placas de Petri contendo Ágar Infusão Cérebro e Coração (Kasvi[®], Brasil) enriquecido com 8% de sangue desfibrinado de carneiro (Newprov[®], Brasil). Após a semeadura, as placas foram incubadas à 37°C e analisadas após 24, 28 e 72 horas. As colônias bacterianas que apresentaram crescimento no ágar foram avaliadas quanto a sua morfologia, coloração, capacidade de causar hemólise e o tipo de reação hemolítica que determinavam no ágar. Repiques das colônias individualizadas, nas mesmas condições do primo isolamento, foram feitos para manutenção dos isolados e amplificação do número de colônias para serem utilizadas em testes subsequentes.

Amostras das colônias isoladas foram colocadas sobre lâminas de vidro, coradas pelo método de Gram e analisadas. As colônias também foram avaliadas no teste de atividade da enzima citocromo oxidase utilizando teste comercial (Bactident[®] Oxidase, MERK, Alemanha).

Baseando-se nos resultados das provas anteriormente descritas e utilizando subcultivos puros das colônias isoladas, foi realizada a identificação bioquímica dos isolados pelo sistema API (APICoryne, API20E, APINE, APIStrep, APIStaph, BioMerriex[®]). Para realizar os ensaios bioquímicos, colônias puras foram inicialmente diluídas em solução salina, resuspensas e inoculadas nos microtubos da galeria API. As galerias inoculadas foram colocadas em caixas de incubação e mantidas a 37°C por 24 horas ou 48 horas como indicado pelo sistema API. A condição de anaerobiose foi obtida pelo sistema Anaerobac (Probac[®], Brasil). Após a incubação, a leitura dos testes foi feita por meio da observação da cor do conteúdo presente em cada um dos microtubos. Cada teste da galeria API foi interpretado como positivo ou negativo baseado nas instruções fornecidas pelo kit. As reações positivas ocorridas nos vários microtubos foram classificadas numericamente gerando códigos para identificação bacteriana. Por fim, os códigos obtidos foram localizados em catálogos analíticos de identificação que permitiram inferir sobre as espécies bacterianas isoladas.

Para maior precisão na identificação de algumas espécies de isolados, provas complementares foram realizadas depois da identificação pelo sistema API. O teste de coagulase foi empregado para auxiliar na diferenciação do Gênero *Staphylococcus* utilizando plasma de coelho (Newprov[®], Brasil). Amostras do primo isolamento também foram

subcultivadas em Caldo Infusão Cérebro e Coração (Kasvi®, Brasil) acrescido de 6,5% de cloreto de sódio para avaliar a tolerância de algumas colônias ao NaCl. Esses subcultivos foram incubados a 37°C por 48 horas e a constatação do crescimento bacteriano foi avaliada observando-se a turvação do meio de cultura.

O antibiograma foi realizado utilizando o método de Kirby e Bauer. Inicialmente amostras dos isolados identificados foram semeadas em placas de Petri com Ágar Mueller Hinton (Kasvi®, Brasil) e, nos casos de alguns isolados que apresentavam crescimento lento, a semeadura foi feita no mesmo ágar enriquecido com 8% de sangue desfibrinado de carneiro (Newprov®, Brasil). Na sequência, discos de papel-filtro impregnados com diferentes antibióticos (Oxoid®, Inglaterra) foram colocados sobre o ágar com auxílio de dispensador próprio. Os antibióticos testados foram enrofloxacina (5 µg), ampicilina (10 µg), amoxicilina clavulanato (30 µg), clotrimoxazol (associação de sulfametoxazole trimetoprim, 25 µg), cloranfenicol (30 µg), doxiciclina (30 µg), azitromicina (15 µg) e gentamicina (10 µg). Depois da colocação dos discos, as placas foram incubadas por 24 horas a 37°C. Após a incubação, a leitura foi feita avaliando as medidas dos halos de inibição ao redor dos discos conforme descrito no *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CSLI, 2013). Desta forma, de acordo com o tamanho do halo de inibição apresentado para cada disco com antibiótico, as culturas foram classificadas como sensíveis, intermediárias ou resistentes.

Para realizar o isolamento de leveduras, os *swabs* cloacais foram semeados em Ágar Sabouraud Dextrose (Kasvi®, Brasil) acrescido com 100 mg/L de cloranfenicol. Em seguida, as placas semeadas foram incubadas a 37°C por 10 dias. A leitura das placas foi feita após o tempo de incubação visualizando a superfície do ágar na tentativa de identificar colônias fúngicas em crescimento.

4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para determinação dos valores hematológicos médios e suas variações foram obtidas as medidas fundamentais: média e desvio-padrão utilizando o programa Excel®.

5 RESULTADOS

5.1 AVES AMOSTRADAS

Entre os meses de maio a agosto de 2014 foram amostrados 120 urubus-de-cabeça-preta de vida livre. As aves apresentam-se alertas e movimentando-se constantemente no interior da armadilha e, aparentemente, sem sinais clínicos evidentes de enfermidades. Com única exceção, uma ave que apresentava ligeiro edema na região da cabeça, sem outros sinais associados.

5.2 *SALMONELLA* SP. E *MYCOPLASMA* SP.

Das 119 amostras de soro utilizadas na SAR nenhuma (0%) foi reagente para os antígenos de *Salmonella* Pulum/Gallinarum e *Mycoplasma sinoviae*, no entanto, 15% (18/120) foram reagentes para o antígeno de *M. galisepicum*. Urubus soro-reagentes para *M. galisepicum* foram observados em todos os meses de coleta.

5.3 *CRYPTOCOCCUS* SP.

Das 100 amostras de soro submetidas ao teste de detecção de antígeno polissacarídeo capsular de *Cryptococcus* sp. nenhuma foi reagente (0%).

5.4 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

As médias e desvios padrões dos parâmetros hematológicos avaliados de 61 urubus-de-cabeça-preta estão exemplificados na tabela 1. A morfologia das diversas células sanguíneas está exemplificada na figura 3.

Tabela 1 - Valores hematológicos médios ($\pm$ desvio padrão) de 61 *Coragyps atratus* de vida livre em São Paulo

Parâmetros	Média $\pm$ Desvio Padrão
Hemoglobina (g/dl)*	10,4 $\pm$ 0,9
Hematócrito (%)	48,44 $\pm$ 3,1
VCM (fL)	275,1 $\pm$ 53,3
HCM (pg)	42,0 $\pm$ 12,5
CHCM (g/dL)	15,8 $\pm$ 4,4
Proteína plasmática total (g/dl)	3,76 $\pm$ 0,51
Eritrócitos totais ($10^{12}/L$)	1,8 $\pm$ 0,3
Leucócitos totais ($10^9/L$)	13,11 $\pm$ 5,44
Trombócitos ($10^9/L$)	14,14 $\pm$ 4,79
Heterófilos ($10^9/L$)	10,34 $\pm$ 4,63
Linfócitos ($10^9/L$)	1,71 $\pm$ 1,30
Eosinófilos ($10^9/L$)	0,76 $\pm$ 0,82
Monócitos ($10^9/L$)	0,36 $\pm$ 0,39
Basófilos ($10^9/L$)	0,01 $\pm$ 0,05
Heterófilos (%)	78,01 $\pm$ 12,83
Linfócitos (%)	13,55 $\pm$ 9,01
Eosinófilos (%)	5,49 $\pm$ 4,56
Monócitos (%)	2,84 $\pm$ 2,83
Basófilos (%)	0,1 $\pm$ 0,34

* Valor de hemoglobina avaliado em 20 urubus-de-cabeça-preta

Figura 3 - Esfregaço sanguíneo de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) corado pela Técnica de Rosenfeld
 Legenda: A) monocamada de eritrócitos; B) linfócito (seta preta) e trombócito (seta branca); C) heterófilo (seta branca) e monócito (seta preta); D) heterófilo (seta branca) e eosinófilo (seta preta); E) heterófilo (seta branca), eosinófilo (seta preta) e trombócito (seta cinza); F) heterófilo (seta branca), basófilo (seta preta) e trombócito (seta cinza).

Fonte: (BARBARA, 2015)

5.5 HEMOPARASITAS

Neste estudo não foi constatada a presença de hemoparasitas ou microfilárias em nenhum dos 117 esfregaços sanguíneos analisados.

5.6 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Foram isoladas 75 colônias bacterianas a partir de 20 *swabs* cloacais de urubus-de-cabeça-preta, sendo 78,7% (59/75) formadas por bactérias Gram-positivas e 21,3% (16/75) por Gram-negativas (Tabela 2). As análises bioquímicas e testes complementares permitiram a identificação de 10 famílias e 12 gêneros de bactérias, sendo, sete famílias, sete gêneros e 16 espécies de Gram-positivas e, três famílias, cinco gêneros e seis espécies de Gram-negativas. As famílias Enterococcaceae (23/75) e Corynebacteriaceae (15/75) foram as mais frequentes, seguidas das famílias Enterobacteriaceae (13/75) e Staphylococcaceae (8/75). Os gêneros de bactérias Gram-positivas mais isolados foram *Enterococcus* sp. (23/59), *Corynebacterium* sp. (15/59) e *Staphylococcus* sp. (8/59). Entre as bactérias Gram-negativas, os gêneros mais isolados foram *Escherichia* sp. (5/16) e *Proteus* sp. (5/16). Entre as espécies bacterianas que puderam ser identificadas, *Enterococcus casseliflavus* (oito isolados) e *Enterococcus faecium* (oito isolados) foram as mais frequentes.

De todos os isolados obtidos no estudo, aproximadamente 86,7% (65/75) apresentaram resistência a pelo menos um dos oito antibióticos testados (Tabela 2). A maior taxa de resistência foi observada para os antibióticos ampicilina (39/75) e clotrimoxazol (associação de sulfametoxazol e trimetoprim) (36/75). Dez dos isolados de bactérias Gram-positivas (16,9%) foram sensíveis a todos os antibióticos testados neste estudo.

Um isolado de *Bacillus* sp. e dois isolados de *Enterococcus casseliflavus* apresentaram resistência a sete dos oito antibióticos testados, sendo este isolado de *Bacillus* sp. sensível apenas a doxiciclina e; os isolados de *Enterococcus casseliflavus* sensíveis apenas a amoxicilina clavulanato. Embora uma das cepas de *Bacillus* sp. tenha sido multirresistente, outras duas cepas do gênero foram sensíveis a todos os antibióticos.

Tabela 2 - Identificação de bactérias isoladas de swab cloacal de *Coragyps atratus* de vida livre e número de isolados resistentes a alguns antibióticos selecionados

Identificação dos isolados	Número de Isolados	Resistência antimicrobiana								
		enro	ampi	amox	sulfa	cloran	doxi	azi	genta	
Gram-positivo										
Bacillaceae										
<i>Bacillus</i> sp.	4	1/4	2/4	1/4	2/4	1/4	0/4	1/4	1/4	
Brevibacteriaceae										
<i>Brevibacterium avium</i>	3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Cellulomonadaceae										
<i>Oerskovia</i> sp.	3	1/3	1/3	1/3	0/3	2/3	0/3	1/3	1/3	1/3
Corynebacteriaceae										
<i>Corynebacterium</i> sp.	15	3/15	2/15	0/15	7/15	1/15	0/15	3/15	0/15	
Enterococcaceae										
<i>Enterococcus avium</i>	3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	8	5/8	7/8	0/8	4/8	5/8	7/8	5/8	7/8	7/8
<i>Enterococcus durans</i>	2	2/2	2/2	0/2	0/2	0/2	1/2	0/2	0/2	0/2
<i>Enterococcus faecium</i>	8	8/8	8/8	0/8	7/8	5/8	1/8	4/8	8/8	8/8
<i>Enterococcus pseudoavium</i>	2	1/2	2/2	1/2	0/2	2/2	1/2	1/2	1/2	1/2
Listeriaceae										
<i>Listeria</i> sp.	3	0/3	0/3	0/3	2/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Staphylococcaceae										
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	0/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	1/1	0/1	
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>Staphylococcus lentus</i>	1	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>Staphylococcus xylosus</i>	3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	
Total	59	22	29	6	24	17	10	18	18	
Gram-negativo										
Enterobacteriaceae										
<i>Escherichia coli</i>	5	1/5	3/5	1/5	3/5	0/5	4/5	1/5	2/5	
<i>Proteus mirabilis</i>	5	2/5	4/5	1/5	5/5	1/5	3/5	4/5	1/5	
<i>Serratia marcescens</i>	2	0/2	2/2	2/2	1/2	0/2	1/2	2/2	0/2	
<i>Serratia odorifera</i>	1	1/1	0/1	0/1	1/1	0/1	1/1	0/1	0/1	
Sphingomonadaceae										
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	2/2	0/2	
Xanthomonadaceae										
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1/1	1/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
Total	16	5	10	4	12	2	10	10	4	

*enr = enrofloxacin, amp = ampicilina, amox = amoxicilina clavulanato, sulfa = clotrimoxazol (associação de sulfametoxazol e trimetoprim), cloran = cloranfenicol, doxi = doxiciclina, azi = azitromicina, genta = gentamicina.

6 DISCUSSÃO

A espécie de urubu-de-cabeça-preta (*Coragyps atratus*) é uma ave comum no Brasil e grandes grupos têm sido cada vez mais observados em ambientes urbanos (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; RUXTON; HOUSTON, 2004). No presente estudo, exemplares de *C. atratus* foram observados durante todo o período de amostragem. Apesar da ampla ocorrência desta espécie no país, são raras as descrições na literatura sobre os seus aspectos sanitários. No entanto, implicações inerentes à presença de urubus no meio urbano, bem como o possível risco que essas aves poderiam oferecer a saúde das populações humanas e de animais domésticos já foram alvo de um estudo realizado nos Estados Unidos (LOWNEY, 1999). A avaliação sanitária constitui uma ferramenta essencial para que sejam delineadas medidas de controle e prevenção de doenças que tem como fonte de infecção os animais silvestres (PATZ, 2004). Além disso, estudos sanitários têm permitido a identificação de agentes infecciosos que resultam em impactos negativos para a conservação da vida selvagem (JONES et al., 2008).

Embora infecções por salmonelas sejam amplamente descritas em aves silvestres, no presente estudo não foi evidenciado urubus-de-cabeça-preta sororeagentes para *Salmonella* Pullorum/Gallinarum. Todavia, a exposição de aves carniceiras a outros sorovares tem sido descrita. Gangoso et al. (2009) utilizando o teste de aglutinação com sangue total encontraram uma prevalência de anticorpos de 20% e 26% para *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, respectivamente, em abutres-do-egito (*Neophron percnopterus*, Accipitridae) provenientes das Ilhas Canárias.

Ainda que provas sorológicas possam fornecer evidências da infecção por salmonelas, a cultura bacteriana é considerada a prova *gold standard* permitindo tanto o isolamento quanto a identificação das salmonelas (DAOUST; PRESCOTT, 2007). Todavia, *Salmonella* sp. não foi isolada de nenhuma das amostras de *swab* cloacal analisadas neste estudo (Tabela 2). Da mesma forma, Hidasi (2013) estudando 60 urubus-de-cabeça-preta de vida livre capturados na região metropolitana de Goiânia-GO, não isolou *Salmonella* sp. das amostras de fezes e *swabs* cloacais obtidas dessas aves. Apesar disso, cinco aves foram positivas para *Salmonella* sp. na rPCR (HIDASI, 2013). Embora os resultados da cultura microbiológica aqui apresentados não comprovem a infecção de *C. atratus* por salmonelas, deve-se considerar que resultados negativos na cultura não excluem a possibilidade de infecção. Sabe-

se que em infecções subclínicas as aves podem eliminar a bactéria de forma intermitente dificultando o diagnóstico por meio do isolamento (FLAMMER, 1999). Ainda, o sorovar *Salmonella* Typhimurium foi isolado de um exemplar de urubu-de-cabeça-preta com livre acesso a lixões em uma ilha em Trinidad e Tobago (EVERARD et al., 1979). Blanco et al. (2007) detectaram os sorotipos *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Gallinarum* da cloaca de abutres-do-egito de vida livre na Espanha.

As infecções causadas por *Mycoplasma* sp. foram por muito tempo consideradas de pouca importância em aves de vida livre, no entanto, sabe-se que em condições naturais muitas espécies podem desenvolver a doença (POVEDA et al., 1990; DHONDT et al., 1998). No atual estudo, 15% (18/120) dos urubus-de-cabeça-preta foram sororreagentes para *Mycoplasma gallisepticum*, permitindo sugerir que a espécie em vida livre foi exposta ao agente. As infecções por *M. gallisepticum* são conhecidas por serem patogênicas para aves de produção estando principalmente associadas a quadros respiratórios (LEY, 2008). O *M. gallisepticum* também já foi associado a falcões (*Falco peregrinus*) de vida livre que apresentavam doença respiratória com sinais semelhantes àqueles descritos em aves de produção (POVEDA et al., 1990). Em 1994 nos Estados Unidos, o *M. gallisepticum* foi associado a um surto de conjuntivite em Passeriformes de vida livre (DHONDT et al., 1998), desde então, o microrganismo passou a ser mais pesquisado em aves silvestres (LEY; BERKHOF; LEVISOHN, 1997). Hidasi (2013) utilizando a SAR e a rPCR, pesquisou *M. gallisepticum* e *M. synoviae* em 60 urubus-de-cabeça-preta em Goiás, todavia, as aves foram negativas em ambas técnicas.

Os exemplares de urubus amostrados neste estudo, apesar de positivos na SAR, não apresentaram sinais clínicos de doença. Acredita-se que as infecções possam ser mais severas quando ocorrem concomitantemente com outros agentes infecciosos ou fatores desencadeadores (SPICKLER et al., 2009). Apesar das evidências de contato, a SAR é uma técnica de alta sensibilidade, sendo utilizada como técnica de triagem, podendo ocorrer resultados falso-positivos. Deve ser considerado que algumas espécies de micoplasmas podem possuir determinantes antigênicos comuns permitindo a ocorrência de reações inespecíficas entre as diversas espécies de *Mycoplasma* (NASCIMENTO; PEREIRA, 2009). Portanto, para que a infecção por esse agente seja comprovada, técnicas mais específicas devem ser incorporadas em estudos posteriores.

A espécie *M. synoviae* também tem sido isolada em aves silvestres de vida livre sem manifestação de sinais respiratórios ou articulares, demonstrando que alguns grupos de aves

silvestres podem se infectar e não desenvolver doença (PROVEDA et al., 1990). Embora não tenha sido encontrada evidência de infecção por *M. synoviae* nos urubus aqui estudados, lesões articulares bastante parecidas com as determinadas por *M. synoviae* em galinhas tem sido descrita em urubus-de-cabeça-preta infectados por *Mycoplasma corogypsi*. Panangala et al. (1993) descreveram e caracterizaram pela primeira vez a espécie *M. corogypsi* depois de a ter isolado a partir de um abscesso de coxim plantar de um *C. atratus* de vida livre capturado nos Estados Unidos. Em 2009, *M. corogypsi* foi isolado da articulação de um urubu-de-cabeça-preta encaminhado para um centro de tratamento norte-americano por apresentar incapacidade de voar e distensão das articulações do tarso, carpo e jarrete (RUDER et al., 2009). Ainda que uma alta similaridade genética (de até 92%) tenha sido observada entre cepas de *M. synoviae* e de *M. corogypsi* e ambas as espécies serem capazes de determinar doenças similares, *M. corogypsi* parece não apresentar reação sorológica cruzada com os demais micoplasmas aviários (PANANGALA et al., 1993). Apesar do número crescente de estudos sobre as micoplasmoses em aves silvestres, ainda pouco se sabe sobre a ocorrência, patogenicidade e distribuição de muitas espécies de *Mycoplasma* sp. em vida livre (RUDER et al., 2009).

Tendo em vista a importância de leveduras do gênero *Cryptococcus* sp. para alguns grupos de aves silvestres, esse agente tem sido cada vez mais pesquisado em vida livre. No atual estudo não foi evidenciado o contato de urubus-de-cabeça-preta com *Cryptococcus neoformans*, nem por meio da pesquisa de antígeno capsular da levedura no soro, nem por meio do isolamento de amostras provenientes da cloaca. Apesar disso, este fungo é comumente encontrado no meio ambiente e potencialmente capaz de infectar várias espécies de aves (KHAWCHAROENPORN et al., 2007). Cafarchia et al. (2006b) trabalhando com isolamento de fungos leveduriformes em rapinantes de cativeiro, isolaram *C. neoformans* da cloaca e do viveiro de *Falco tinnunculus* e *Buteo buteo* que apresentavam sinais inespecíficos de doença e incapacidade de voar. Apesar de ter sido relacionado com doença em algumas espécies de aves silvestres (MALIK et al., 2003; RASO et al., 2004), sinais clínicos em aves de rapina são pouco descritos.

Além dos testes sorológicos, análises hematológicas também contribuem para avaliar o perfil sanitário de diversas espécies permitindo inferir sobre processos de doença. Essa ferramenta diagnóstica é comumente utilizada em mamíferos e devido a sua importante contribuição na avaliação da saúde dos animais, ela vem cada vez mais sendo utilizada em aves (CAMPBELL, ELLIS, 2007). Entretanto, para que seja feita a devida interpretação, é

necessário que os resultados obtidos sejam comparados com valores padrões para a espécie em questão; contudo, esses valores nem sempre estão disponíveis na literatura. Dessa forma, o presente estudo forneceu dados hematológicos importantes para a espécie uma vez que este tipo de informação sobre *C. atratus* é escassa.

Alguns dos valores hematológicos obtidos no presente estudo puderam ser comparados com valores encontrados para outros rapinantes. O valor médio do hematócrito ($48,44\% \pm 3,1\%$) observado em *C. atratus* adultos (Tabela 1) situou-se dentro do intervalo esperado para aves (entre 35% e 55%) (CAMPBELL, ELLIS, 2007). O hematócrito e a concentração de proteína plasmática total ($3,76 \pm 0,51$ g/dL) encontrados no atual estudo apresentaram grande semelhança com valor médio de hematócrito ($49,8\% \pm 0,53\%$) e de proteína plasmática total ($4,2 \pm 0,07$ g/dL) encontrada em 44 urubus-de-cabeça-preta em um estudo desenvolvido nos Estados Unidos (COLEMAN et al., 1988). Além destes, Coleman et al. (1988) também analisaram quatro urubus-de-cabeça-vermelha (*Cathartes aura*) que apresentaram valor médio de hematócrito de $49,8\% \pm 2,03\%$ e de proteína plasmática total de $4,1 \pm 0,08$ g/dL, sendo esses também bem próximos dos observados em *C. atratus*. Ainda, valores hematológicos similares foram observados em oito exemplares de abutres-negro (*Aegypius monachus*) de vida livre ($49,5\% \pm 6,1\%$) (VILLEGAS et al., 2002); em 12 exemplares de abutres-barbudo (*Gypaetus barbatus*) ($47,1\% \pm 3,39\%$) de vida livre (HERNÁNDEZ; MARGALIDA, 2010). Diferenças no hematócrito de abutres foram associadas à idade e às condições de vida dessas aves (cativeiro ou vida livre).

Comparando-se o valor de eritrócitos totais aqui obtidos para urubus-de-cabeça-preta ($1,8 \pm 0,3 \times 10^{12}/L$) (Tabela 1) com valores de outras aves carniceiras, podemos observar que estes são similares àqueles encontrados para abutres-negro ($1,84 \pm 0,56 \times 10^6$ células/mm³) de cativeiro (VIANA, 2010). Porém, diferenças nos valores podem ser observadas em comparações com abutres-barbudo de vida livre ($2,95 \pm 3,0 \times 10^{12}/L$) (HERNÁNDEZ; MARGALIDA, 2010) e abutre-fouveiro (*Gyps fulvus*) ($2,21 \pm 0,23 \times 10^6$ células/mm³) (VIANA, 2010).

O valor de hemoglobina encontrado para urubus-de-cabeça-preta ($10,4 \pm 0,9$ g/dL) (Tabela 1) pôde ser comparado com um estudo realizado na Espanha em que Hernández e Margalida (2010) observaram uma maior concentração de hemoglobina em abutre-barbudo ($16,48 \pm 1,36$ g/dL) de vida livre. Já a quantidade de leucócitos totais de urubus-de-cabeça-preta ($13,11 \pm 5,44 \times 10^9/L$) (Tabela 1) foi maior que a observada em abutre-barbudo ($10,17 \pm 2,18 \times 10^9/L$) (HERNÁNDEZ; MARGALIDA, 2010).

Como esperado para a maioria das espécies aviárias, os heterófilos foram o tipo leucocitário mais abundante nos esfregaços sanguíneos, seguido dos linfócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos (Tabela 1) (CAMPBELL, ELLIS, 2007).

Na avaliação dos esfregaços sanguíneos não foram observados hemoparasitas. Embora esses resultados possam indicar ausência de parasitismo, é possível que aves em baixa parasitemia possam não ser identificadas por meio da avaliação do esfregaço sanguíneo. Dessa forma, técnicas diagnósticas de maior sensibilidade devem ser incorporadas em estudos de prevalência. Mesmo não havendo evidências da presença de hemoparasitas em *C. atratus* de vida livre, sabe-se que em países tropicais, como o Brasil, a maior proliferação dos vetores artrópodes favorece a transmissão de hemoparasitas para diversos hospedeiros aviários de vida livre (VALKIUNAS, 2005).

No presente estudo, 75 colônias de bactérias foram obtidas a partir de amostras de *swab* cloacal de 20 urubus-de-cabeça-preta por meio de técnicas convencionais de isolamento microbiológico. No entanto, nenhum isolado fúngico foi obtido. Dentre os isolados bacterianos, verificou-se o predomínio de colônias Gram-positivas (78,7%) em relação a Gram-negativas (21,3%) (Tabela 2). Carvalho et al. (2003) estudando seis urubus-de-cabeça-preta de vida livre capturados em Minas Gerais, isolaram 45 diferentes tipos de bactérias de diferentes partes do trato digestivo das aves (língua, estômago, intestino proximal, intestino médio e intestino distal). Entre os isolados intestinais os autores observaram um número médio maior de unidades formadoras de colônias (UFC/gramas) de bactérias Gram-positivas em relação a Gram-negativas. Dentre os microrganismos isolados do intestino foram identificados: *Actinomyces bovis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Micrococcus luteus*, *Clostridium bifermentans*, *Enterobacter agglomerans*, *Peptostreptococcus* sp., *Sarcina* sp., *Serratia odorifera* e *Shigella flexneri*, que não haviam sido descritos anteriormente em urubus-de-cabeça-preta, e *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Clostridium* sp., *Escherichia coli* e *Escherichia fergusonii* (CARVALHO et al., 2003). Contudo, com exceção de *Serratia odorifera* e *Escherichia coli*, as demais espécies bacterianas citadas anteriormente não foram identificadas no presente estudo (Tabela 2).

Uma maior diversidade de bactérias Gram-positivas (7 gêneros e 16 espécies) em relação a bactérias Gram-negativas (5 gêneros e 6 espécies) também foi observada neste estudo (Tabela 2). Em uma pesquisa conduzida na Espanha, Vela et al. (2014) isolaram da cloaca de abutre-fouveiro (*Gyps fulvus*, Accipitridae) de vida livre uma maior diversidade de bactérias Gram-positivas (18 gêneros e 27 espécies) em relação à Gram-negativas (14 gêneros

e 12 espécies). Por outro lado, Blanco et al. (2007) estudando abutres-do-egito (*Neophron percnopterus*, Accipitridae) de vida livre, provenientes de outras quatro localidades da Espanha, obtiveram uma maior diversidade de bactérias Gram-negativas (14 gêneros) do que Gram-positivas (3 gêneros).

Aproximadamente 30,6% (23/75) dos isolados aqui obtidos de urubus-de-cabeça-preta pertencem ao gênero *Enterococcus* sp., sendo este o mais isolado (Tabela 2). Este gênero já havia sido descrito anteriormente em outros grupos de aves carniceiras. Vela et al. (2014) descreveram o *Enterococcus* sp. como sendo o gênero mais isolado da cloaca de abutre-fouheiro (52% dos isolados) na Espanha. Embora estes microrganismos possam estar envolvidos em infecções como agentes secundários ou desencadearem doença na presença de fatores estressantes, de uma forma geral, eles são considerados parte da microbiota residente da pele, das superfícies mucosas do trato digestivo, reprodutivo e respiratório das aves (GERLACH, 1994). *Enterococcus casseliflavus* e *Enterococcus faecium* foram as espécies predominantemente isoladas dos urubus-de-cabeça-preta (Tabela 2). Em contrapartida, Vela et al. (2014) observaram *Enterococcus faecalis* como sendo a espécie mais isolada em abutre-fouheiro, embora as espécies *E. casseliflavus* e *E. faecium* também tenham sido isoladas. Blanco et al. (2007) também encontraram *Enterococcus faecalis* como sendo a espécie de bactéria Gram-positiva mais isolada em duas populações de abutres-do-egito estudadas na Espanha. Além de *E. faecalis*, as espécies *E. faecium* e *E. durans* também foram isoladas em algumas populações de abutres (BLANCO et al., 2007). Embora alguns estudos demonstrem que *E. faecalis* venha sendo a espécie de *Enterococcus* sp. predominantemente isolada em abutres, a mesma não foi isolada dos urubus-de-cabeça-preta amostrados no atual estudo.

Corynebacterium sp. e *Staphylococcus* sp. foram os outros dois gêneros de bactérias Gram-positivas mais isolados de urubus-de-cabeça-preta (Tabela 2). Embora o gênero *Corynebacterium* sp. já tenha sido associado a quadros de doenças em aves silvestre, essa bactéria é normalmente apatogênica, sendo comumente encontrada em fezes de aves sadias (GERLACH, 1994; TULLY JR.; HARRISSON, 1994). Em 2007, *Corynebacterium* sp. foi descrito como parte da microbiota cloacal de filhotes e adultos de abutre-do-egito de vida livre amostrados na Espanha (BLANCO et al., 2007).

O gênero *Staphylococcus* sp. pode ser comumente encontrado em pele, trato respiratório e digestivo das aves, contudo, em algumas ocasiões a bactéria pode ser patogênica, estando associada a diversos tipos de infecções (QUESENBERY; HILLYER, 1994; CARVALHO et al., 2003). Esta bactéria tem sido isolada de várias porções intestinais de urubus-de-cabeça-

preta aparentemente fazendo parte da microbiota dominante de diversas partes do trato digestivo (CARVALHO et al., 2003). Algumas das espécies de *Staphylococcus* sp., como *S. capitis*, *S. lentus*, *S. xylosus* e *S. sciuri* isoladas neste estudo (Tabela 2) também já haviam sido descritas em abutre-fouveiros, entretanto, as espécies *S. capitis*, *S. lentus* foram isoladas de faringe e não da cloaca dos abutres, enquanto que *S. xylosus* e *S. sciuri* puderam ser isoladas dos dois sítios anatômicos (VELA et al., 2014).

Entre as bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* foram as espécies mais isoladas em urubus-de-cabeça-preta (Tabela 2). *E. coli* pode fazer parte da microbiota residente das aves silvestres, entretanto, alguns de seus sorovares e cepas podem ser virulentos para aves (GERLACH, 1994). O gênero *Proteus* sp. é considerado, na maioria das vezes, de baixa patogenicidade para as aves silvestres, porém, quando isolado de aves doentes costuma ter importância clínica (GERLACH, 1994; RUPPLEY, 1999). Em um estudo conduzido nos Estados Unidos, *E. coli* e *P. mirabilis* foram as espécies mais isoladas de 20 espécimes de urubus-de-cabeça-vermelha (*Cathartes aura*, Cathartidae) (WINSOR et al., 1981). Vela et al. (2014) também isolaram *Escherichia* sp. e *Proteus* sp. tanto da cloaca quanto da faringe de duas populações de abutre-fouveiro na Espanha, sendo *Escherichia* sp. o gênero de bactérias Gram-negativas mais isolado da cloaca das duas populações. Já *Proteus* sp., foi o segundo gênero de Gram-negativas mais frequentemente isolado das amostras faringiais (VELA et al., 2014). Blanco et al. (2007) também isolaram *E.coli* da cloaca de abutres-do-egito como sendo a bactéria Gram-negativa mais predominantemente encontrada tanto em aves jovens quanto aves adultas de quatro localidades da Espanha. Hidasi (2013) objetivando isolar *E. coli* da cloaca de 60 urubus-de-cabeça-preta em Goiás, detectou a bactéria em 81,6% (49/60) das amostras de *swabs* cloacais analisadas.

Serratia odorifera, isolada em menor frequência no presente estudo, já havia sido isolada de seis exemplares de urubus-de-cabeça-preta no Brasil (CARVALHO et al., 2003); todavia, outras bactérias isoladas no presente estudo (Tabela 2) como por exemplo, *Enterococcus* sp., *Corynebacterium* sp. e *Proteus* sp., não foram descritas por estes pesquisadores. A maior parte dos gêneros e espécies bacterianas isoladas de *C. atratus* é conhecida por fazer parte de microbiota normal de várias espécies de aves (GERLACH, 1994). Deste modo, estudos mais amplos são necessários para se confirmar o real papel dos urubus-de-cabeça-preta como disseminadores de agentes infecciosos e a importância desses microrganismos para a espécie.

Dos isolados bacterianos obtidos de urubus-de-cabeça-preta, uma cepa de *Bacillus* sp. e duas cepas de *Enterococcus casseliflavus* foram resistentes a sete dos oito antibióticos utilizados neste estudo. Embora as aves de vida livre não entrem naturalmente em contato com antibióticos, estudos demonstraram que essas aves podem estar infectadas com bactérias resistentes sem que tenham sido submetidas à antibioticoterapia (COLE et al., 2005; HUDSON et al., 2005). Essas infecções podem ocorrer quando as aves são expostas a ambientes contaminados com cepas já resistentes (COLE et al., 2005). Embora os urubus-de-cabeça-preta amostrados neste estudo tenham sido capturados nas dependências do Parque Zoológico de São Paulo, a espécie pode ser frequentemente observada em outros locais da região metropolitana de São Paulo, inclusive em lixões. Devido à grande capacidade de dispersão das aves e da sua presença nos mais diferentes ambientes urbanos, fica difícil determinar possíveis fontes de contaminação com microrganismos resistentes. Além disso, a resistência contra antimicrobianos podem estar associadas a genes de virulência adquiridos pelas bactérias por mecanismos genéticos que podem ocorrer sem a influência da exposição a antibióticos (HUDSON et al., 2005). Deste modo, outros estudos são necessários para avaliar a causa e a origem de microrganismos resistentes em urubus-de-cabeça-preta.

Além do problema sanitário representado pelo grande número de urubus-de-cabeça-preta nas cidades, a presença dessas aves em locais de recreação e visitação de pessoas pode causar um certo incômodo à população, já que essas aves são bastante discriminadas por sua aparência e pelo seu hábito alimentar (DEL HOYO et al., 2003). No entanto, devido a sua importância em diversos ecossistemas e por serem protegidos por leis ambientais, o controle de urubus-de-cabeça-preta nas cidades depende de ações conjuntas que envolvam diversas entidades e órgãos governamentais.

O presente estudo contribuiu para o conhecimento da ocorrência de alguns patógenos e da saúde da população de *C. atratus* que possuem acesso ao Parque Zoológico de São Paulo. Estudos com a população de urubus deste local não haviam sido realizados até o momento. Embora a importância dos urubus na transmissão e disseminação de diversos agentes não esteja bem esclarecida, a avaliação sanitária de animais sinantrópicos que tem acesso ao parque é de extrema importância para prevenir possíveis doenças que possam ser transmitidas para o plantel de animais cativos. Além disso, é possível que os urubus se infectem com patógenos oriundos dos animais cativos disseminando-os entre os recintos do parque e, até mesmo, carreando-os para outras localidades fora do zoológico. Dessa forma, uma monitoria

constante e ativa da população de urubus-de-cabeça-preta e de outras aves de vida livre que frequentam o parque, seria uma importante medida preventiva a ser instituída.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na avaliação sanitária de urubus-de-cabeça-preta em área urbana na cidade de São Paulo permitem às seguintes conclusões:

- Não houve evidências da ocorrência de *Salmonella Pullorum/Gallinarum*, *M. synoviae* e *Cryptococcus neoformans* na população de urubus-de-cabeça-preta estudada.
- Foram encontradas evidências do contato (anticorpos) de urubus-de-cabeça-preta com *M. gallisepticum*, entretanto, testes mais específicos são necessários para confirmar a infecção por esse agente.
- Os valores hematológicos apresentados neste estudo são oriundos de um número amostral representativo, fornecendo parâmetros de referência para a espécie.
- O predomínio de bactérias Gram-positivas isoladas da cloaca dos urubus-de-cabeça-preta está de acordo com a maioria das espécies de aves, bem como as principais espécies bacterianas isoladas.
- O isolamento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos comumente empregados no tratamento de infecções em humanos e animais ressalta a importância de se estudar a sensibilidade desses microrganismos na fauna silvestre.

REFERÊNCIAS

- ALLEGRETTI, L. **Isolamento e identificação de *Lactobacillus* spp. e *Lactococcus* spp. da microbiota intestinal de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*)**. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- AVISE, J. C.; NELSON, W. S.; SIBLEY, C. G. DNA sequence support for a close phylogenetic relationship between some storks and New World vultures. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 11, p. 5173-5177, 1994.
- BARROW, P. A.; JONES, M. A.; THOMSON, N. *Salmonella*. In: GYLES, C. L.; PRESCOTT J. F.; SONGER, G.; THOEN C. O. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 4 ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. p. 231-265.
- BAUCK, L. Mycoses. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing. 1994. p. 997-1005.
- BLANCO, G.; LEMUS, J. A.; GRANDE, J.; GANGOSO, L.; GRANDE, J. M.; DONÁZAR, J. A.; ARROYO, B.; FRÍAS, O.; HIRALDO, F. Geographical variation in cloacal microflora and bacterial antibiotic resistance in a threatened avian scavenger in relation to diet and livestock farming practices. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 7, p. 1738–1749, 2007.
- BORRAS, A.; CABRERA, J.; SENAR, J. C. Hematocrit variation in response to altitude changes in wild birds: a repeated-measures design. **The Condor**, v. 112, n. 3, p. 622-626, 2010.
- BRAGA, E. M.; BELO, N. O. PINHEIRO, R. T. Técnicas para o estudo de hemoparasitas em aves. In: MATTER, S. V.; STRAUBER, F. C.; ACCORDI, I.; PIACENTINI, V.; CÂNDIDO-JR, J. F. **Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento**. Rio de Janeiro: Technical Books Editora. 2010. p. 395-412.
- BRILHANTE, R. S. N.; CASTELO-BRANCO, D. S. C. M.; SOARES, G. D. P.; ASTETE-MEDRANO, D. J.; MONTEIRO, A. J.; CORDEIRO, R. A.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Characterization of the gastrointestinal yeast microbiota of cockatiels (*Nymphicus hollandicus*): a potential hazard to human health. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 6, p. 718-723, 2010.

BRITO, G. R. R. **Análises filogenéticas de Cathartidae (Aves) com base em caracteres osteológicos**. 2008. 331 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BROWNING, G. F.; MAREDA, M. S.; MARKHAN, P. F.; NOORMOHAAMMADI, A. H.; WHITHEAR, K. G. Mycoplasma. In: GYLES, C. L.; PRESCOTT J. F.; SONGER, G.; THOEN C. O. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 4. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. p. 549-573.

CAFARCHIA, C.; CAMARDA, A.; ROMITO, D.; CAMPOLO, M.; QUAGLIA, N. C.; TULLIO, D.; OTRANTO, D. Occurrence of yeasts in cloacae of migratory birds. **Mycopathologia**, v. 161, n. 3, p. 229–234, 2006a.

CAFARCHIA, C.; ROMITO, D.; IATTA, R.; CAMARDA, A.; MONTAGNA, M. T. OTRANTO, D. Role of birds of prey as carriers and spreaders of *Cryptococcus neoformans* and other zoonotic yeasts. **Medical Mycology**, v. 44, n. 6, p. 485-492, 2006b.

CAICEDO, L. D.; ALVAREZ, M. I.; DELGADO, M.; CÁRDENAS, A. *Cryptococcus neoformans* in bird excreta in the city zoo of Cali, Colombia. **Mycopathologia**, v. 147, n. 3, p. 121-124, 1999.

CAMPBELL, T. W.; ELLIS, C. K. **Avian & exotic animal hematology & cytology**. 3. ed. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2007. 287 p.

CARVALHO, L. R.; FARIAS, L. M.; NICOLI, J. R.; SILVA, M. C. F.; CORSINO, A. T. S. M.; LIMA, L. A.; REDONDO, R. A. F.; FERREIRA, P. C. P.; PINTO, M. E. B. M. Dominant culturable bacterial microbiota in the digestive tract of the American black vulture (*Coragyps atratus* BECHSTEIS 1793) and search for antagonistic substances. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 218-224, 2003.

COMITÊ BRASILEIRO DE REGISTROS ORNITOLÓGICOS. (CBRO). **Listas das Aves do Brasil**. 11. ed. 2014. Disponível em <<http://www.cbro.org.br>>. Acesso em: 23 jan. 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. (CDC). Multistate Outbreak of human *Salmonella* infections linked to live poultry from a mail-order hatchery in Ohio – March-September 2013. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 63, n. 10, p. 222, 2014.

CHEBZ, J. C.; AGUILAR, R. F. Order Falconiformes (Hawks, eagle, falcons, vultures). In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. C. **Biology, medicine and surgery of South American wild animals**. Iowa: Ame, 2001. p. 115-124.

CHESSER, T.; BANKS, R. C.; BARKER, F. K.; CICERO, C.; DUNN, J. L.; KRATTER, A. W.; LOVETTE, I. J.; RASMUSSEN, P. C.; REMSEN JÚNIOR, J. V.; RISING, J. D.; STOTZ, D. F.; WINKER, K. Fifty-First supplement to the American Ornithologists' Union check list of North American birds. **The Auk**, v. 127, n. 3, p. 726-744, 2010.

CHIN, R. P.; GHAZIKHANIAN, Y.; KEMPF, I. *Mycoplasma meleagridis* infection. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. **Disease of poultry**. 12. ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, 2008. p. 834-845.

CLARK, R. A.; GREER, D.; ATKINSON, W.; VALAINIS, G. T.; HYSTOP, N. Spectrum of *Cryptococcus neoformans* infection in 68 patients infected with human immunodeficiency virus. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 12, n. 5, p. 768-777, 1990.

COLE, D.; DRUM, D. J. V.; STALLKNECHT, D. E.; WHITE, D. J.; LEE, M. D.; AYERS, S.; SOBSEY, M.; MAURERT, J. J. Free-living Canada Geese and antimicrobial resistance. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 6, p. 935-938, 2005.

COLEMAN, J. S.; FRASER, J. D.; SCANLON, P. F. Hematocrit and protein concentration of Black Vulture and Turkey Vulture blood. **The Condor**, v. 90, n. 4, p. 937-938, 1988.

CONSELHO DE DEFESA PARQUE ESTADUAL DAS FONTES DO IPIRANGA. (CONDEFEPI). **Governo do Estado de São Paulo**. 2014. Instituições do Parque Nacional das Fontes do Ipiranga. Disponível em: <http://www.condepefi.sp.gov.br/instituicoes/instituicoes_fontes_ipiranga.htm>. Acesso em: 23 jan. 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDART INSTITUTE. (CSLI). **CSLI M-100-S23**. 2013. Disponível em: <http://reflab.yums.ac.ir/uploads/clsi_m100-s23-2013.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2015.

DAOUST, P.; PRESCOTT, J. J. Salmonellosis. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B. H.; ATKINSON, T. **Infectious diseases of wild birds**. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 270-288.

DEVAULT, T. L.; RHODES JUNIOR, O. E.; SHIVIK, J. A. Scavenging by vertebrate: behavioral, ecological, and evolutionary perspectives on an important energy transfer pathway in terrestrial ecosystems. **Oikos**, v. 102, n. 2, p. 225-234, 2003.

DE QUADROS, A. H. **Filogenia de Falconiformes (Aves) baseadas no comportamento de autolimpeza**. 2008. 193 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

DHONDT, A. A.; TESSAGLIA, D. L.; SLOTHOWER, R. L. Epidemic mycoplasmal conjunctivitis in House Finches from Eastern North America. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 2, p. 265-280, 1998.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 177-155.

EVERARD, C. O. R.; TOTA B.; BASSET, D.; ALI, C. *Salmonella* in wildlife from Trinidad and Grenada, W.I. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 15, n. 4, p. 213-219, 1979.

FERGUSON-LEES, J.; CHRISTIE, D. A. Order Ciconiformes, family Cathartidae (New world vultures). In: FERGUSON-LEES, J.; CHRISTIE, D. A. **Raptors of the world**. Boston: Houghton Mifflin Company, 2001. 320 p.

FERNIE, K. J.; REYNOLDS, S. J. The effects of electromagnetic fields from power lines on avian reproductive biology and physiology: a review. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 8, n. 2, p. 127-140, 2005.

FLAMMER, K. Zoonosis acquired from birds. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and Wild animal medicine: current therapy**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1999. p. 151-156.

FRIEND, M.; FRASON, C. F. Mycoplasmosis. In: _____. **Field manual of wildlife diseases: general field procedures and diseases of birds**. Washington, D.C: USGS, 2001. p. 114-119.

FUDGE, A. M. Avian complete blood. In: FUDGE, A. M. **Laboratory medicine avian and exotic pets**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000. p. 9-18.

GAST, R. K. Salmonella infection. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. **Disease of poultry**. 12. ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, 2008. p. 619-674.

GANGOSO, L.; GRANDE, J. M.; LEMUS, J. A.; BLANCO, G.; GRANDE, J.; DONÁZAR, J. A. Susceptibility to infection and immune response in insular and continental populations of Egyptian vulture. **PLoS One**, v. 4, n. 7, p. 1-7, 2009.

GERLACH, H. Bacteria. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISSON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, 1994a. p. 949-983.

GERLACH, H. Mycoplasma and rickettsia. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISSON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, 1994b. p. 1053-1065.

GREINER, E. C. FEDYNICH, A. M.; WEBB, S. L.; DEVAULT, T. L.; RHODES JR., O. E. Hematozoa and a new hemoproteid species from Cathartidae (New World Vulture) in South Carolina. **The Journal of Parasitology**, v. 97, n. 6, p.1137-1139, 2011.

GRIFFITHS, C. S. Monophyly of the falconiformes based on syringeal morphology. **The Auk**, v. 111, n. 4, p. 787-805, 1994.

HERNÁNDEZ, M.; MARGALIDA, A. Hematology and blood chemistry reference values and age-related changes in wild Bearded Vultures (*Gypaetus barbatus*). **Journal Wildlife Diseases**, v. 46, n. 2, p. 390-400, 2010.

HIDASI, H. W. **Detecção de *Salmonella* sp., *Mycoplasma* spp. e *Escherichia coli* de aves sinantrópicas da região metropolitana de Goiânia-Goiás**. 2013. 116 f. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2013.

HOUSTON, D. C.; COOPER, J. E. The digestive tract of the white back griffon vulture and its role in disease transmission among wild ungulates. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 11, n. 3, p. 306-313, 1975.

HOUSTON, D. C.; MEE, A.; McGRADY, M. Why do condors and vultures eat junk? The implications for conservation. **Journal of Raptor Research**, v. 41, n. 3, p. 235-238, 2007.

HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.

HUDSON, C. R.; QUIST, C.; LEE, M. D.; KEYES, K.; DODSON, S. V.; MORALES, C.; SANCHEZ, S.; WHITE, D. G.; MAURER, J. J. Genetic relatedness of *Salmonella* isolates from nondomestic birds in Southeastern United States. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 38, n. 5, p. 1860-1865, 2000.

JONES, E. K.; PATEL, N. G.; LEVY, M. A.; STOREYGARD, A.; BALK, D.; GITTLEMAN, J. L.; DASZAK, P. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 21, p. 990-994, 2008.

JONES, M. P. Avian hematology. **Veterinary Clinics: exotic animal practice.** v. 18, n. 1, p. 51-61, 2015.

KAHN, L. H. Confronting zoonoses, linking human and veterinary medicine. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 556-561, 2006.

KALMBACK, E. R. American vulture and the toxin of *Clostridium botulinum*. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 94, p. 187-191, 1939.

KELLY, T. R.; JOHNSON, C. K. Lead exposure in free-flying turkey vultures is associated with big game hunting in California. **PLoS One**, v. 6, n. 4, p. 1-7, 2011.

KHAWCHAROENPORN, T.; APISARNTHANARAK, A.; MUNDY, L. M. Non-neoformans cryptococcal infections: a systematic review. **Infection**. v. 35, n. 2, p. 51-58, 2007.

KLEVEN, S. H. Mycoplasmosis. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. **Diseases of poultry**. 12. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2008. p. 805-807.

KLEVEN, S. H.; FERGUSON-NOEL, N. *Mycoplasma synoviae* infection. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. **Diseases of poultry**. 12. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2008. p. 845-856.

KUMAR, V.; DHAR, P.; SHARMA, M.; RAJ, A. Bacterial enteritis in an oriental white backed vulture (*Gyps bengalensis*) and its successful management. **Veterinary Science Development**, v. 2, n. 1, p. 1-3, 2012.

LASSEN, E. D.; WEISER, G. Tecnologia laboratorial em medicina veterinária. In: THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 3-36.

LEDGER, J. A.; ANNEGARN H. J. Electrocution hazards to the cape vulture *Gyps coprotheres* in South Africa. **Biological Conservation**, v. 20, n. 1, p. 15-24, 1981.

LEVITZ, S. M.; BOEKHOUT, T. *Cryptococcus*: The once-sleeping giant is fully awake. **FEMS Yeast Research**, v. 6, n. 4, p. 461-462, 2006.

LEY, D. H.; BERKHOFF, J. E.; LEVISOHN, S. Molecular epidemiologic investigations of *Mycoplasma gallisepticum* conjunctivitis in songbirds by random amplified polymorphic DNA analyses. **Emerging Infectious Disease**, v. 3, n. 3, p. 375-380, 1997.

LEY, D. H. *Mycoplasma gallisepticum* Infection. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D.E. **Diseases of poultry**. 12. ed. Iowa: Blackwell Publishing. 2008. p. 807- 834.

LIERZ, M.; HAGEN, N.; HERNANDEZ-DIVERS, S. J.; HAFEZ, H. M. Occurrence of Mycoplasmas in free-ranging birds of prey in Germany. **Journal of Wildlife Disease**, v. 44, n. 4, p. 845-850, 2008.

LIMA, L. A.; LIMA, C. D. L. C.; CARVALHO, L. R.; MARGUTTI-PINTO, M. E. B. Heteroantagonismo entre estirpes de *Enterobacter agglomerans* isoladas de urubu (*Coragyps atratus*) como produtoras de *Pseudomonas aeruginosa* como reveladoras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 595-599, 2011.

LOWNEY, M. S. Damage by black and turkey vultures in Virginia, 1990-1996. **Wildlife Society Bulletin**, v. 27, n. 3, p. 715-719, 1999.

LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, p. 839-872.

LUTTRELL, P.; FISCHER, J. R. Mycoplasmosis. In: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. **Infectious diseases of wild birds**. Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 317 - 331.

MALIK, R.; KROCKENGERG, M. B.; CROSS, G.; DONELEY, R.; MADILL, N. D.; BLACK, D.; MCWHIRTER, P.; ROZENWAX, A.; ROSE, K.; ALLEY, M.; FORSHAW, D.; RUSSELL-BROWN, I.; JOHNSTONE, A. C.; MARTIN, P.; O'BRIEN, C. R.; LOVE, D. N. Avian cryptococcosis. **Medical Mycology**, v. 41, n. 2, p. 115-124, 2003.

MCATTE, W. L. Relation of the turkey-buzzard to disease of stock. **The Auk**, v. 30, n. 2, p. 285-298, 1913.

MELVILLE, P. A.; COGLIATI, B.; MANGIATERRA, M. B. B. C. D.; PERES, M. R.; MOURA, S. C. A.; MATSUDA, L.; KIM, A.; BENITES, N. R. Determinação da microbiota presente na cloaca e orofaringe de avestruzes (*Struthio camelus*) clinicamente sadios. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1871-1876, 2004.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER M. A. **Microbiologia médica**. 6. ed. Iowa: Mosby. 2009. 4393 p.

NAIDOO, V.; DIEKMANN, M.; WOLTERS, K.; SWAN, G. E. Establishment of selected baseline blood chemistry and hematologic parameters in captive and wild-caught African White-backed Vultures (*Gyps africanus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n. 3, p. 649-654, 2008.

NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A. Micoplasmoses. In: FABIO, D. I.; ROSSINI, L. I. **Doença das aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologias Avícolas, 2009. p. 485-496.

OHISHI, I.; SAKAGUCHI, G.; RIEMANN H.; BEHYMANN, D.; HURVELL, B. Antibodies to *Clostridium botulinum* toxins in free-living birds and mammals. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 15, n. 1, p. 3-9, 1979.

OGADA, D. L.; TORCHIN, M. E.; KINNAIRD, M. F.; EZENWA, V. O. Effects of vulture declines on facultative scavengers and potential implications for mammalian disease transmission. **Conservation Biology**, v. 26, n. 3, p. 453-460, 2012.

PAIN, D. J.; CUNNINGHAM, A. A.; DONALD, P. F.; DUCKWORTH, J. W.; HOUSTON, D. C.; KATZNER, T.; PARRY-JONES, J.; POOLE, C.; PRAKASH, V.; ROUND, P.; TIMMINS, R. Cause and effects of temporospatial declines of *Gyps vultures* in Asia. **Conservation Biology**, v. 17, n. 3, p. 661-671, 2003.

PANANGALA, V. S.; STRIGFELLOW, J. S.; DYBVID, K.; WOODARD, A.; SUN, F.; ROSE, D. L.; GRESHAM, M. M. *Mycoplasma corogypsi* sp. Nov., a new species from the footpad abscess of a black vulture, *Coragyps atratus*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 43, n. 3, p. 585-590, 1993.

PATZ, J. A.; DASZAK, P.; TABOR, G. M.; AGUIRRE, A. A.; PEARL, M.; EPSTEIN, J.; WOLFE, N. D.; KILPATRICK, A. M.; FOUFOPOULOS, J.; MOLYNEUX, D.; BRADLEY, D. J. Unhealthy Landscapes: Policy Recommendations on land use change and infectious disease emergence. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 10, p. 1092-1098, 2004.

PENNYCOTT, T. W.; PARK, A.; MATHER, H. A.; Isolation of different serovars of *Salmonella enterica* from wild birds in Great Britain between 1995 and 2003. **Veterinary Record**, v. 158, n. 24, p. 817-820, 2006.

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**. São Paulo: Roca, 2007. p. 252-256.

PIPER, S. E.; MUNDY, P. J.; LEDGER, J. A. Estimates of survival in the cape vulture *Gyps coprotheres*. **Journal of Animal Ecology**, v. 50, n. 3, p. 815-825, 1981.

PROVEDA, J. B.; CARRANZA, J.; MIRANDA, A.; GARRIDO, A.; HERMOSO, M.; FERNANDEZ, A.; DOMENECH, J. An epizootiological study of avian mycoplasmas in southern Spain. **Avian Pathology**, v. 19, n. 4, p. 627-633, 1990.

PROVEDA, J. B.; GIEBEL, J.; FLOSSDORF, J.; MEIER, J.; KIRCHHOFF, H. *Mycoplasma buteonis* sp. nov., *Mycoplasma falconis* sp. nov., and *Mycoplasma gypis* sp. nov., three species from birds of prey. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 44, n. 1, p. 94-98, 1994.

QUESENBERRY, K. E.; HILLYER, E. V. RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 382-398.

QUIGLEY, E. M. M.; STANTON, C.; MURPHY, E. F. The gut microbiota and the liver. Pathophysiological and clinical implications. **Journal of Hepatology**. v. 58, n. 5, p. 1020-1027, 2013.

RASO, T. F.; WERTHER, K.; MIRANDA, E. T.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Cryptococcosis outbreak in psittacine birds in Brasil. **Medical Mycology**, v. 42, n. 4, p. 355-362, 2004.

REAVIL, D. Bacterial diseases. In: ROSSKOPF, W.; WOERPEL, R. **Diseases of cage and aviary birds**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 600-605.

ROSARIO, I.; ACOSTA B.; COLOM, F. La paloma y otras aves como reservatorio de *Cryptococcus* sp. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 25, n. 1, p. 13-18, 2008.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica: nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Memórias do Instituto Butantan**, v. 20, n. 1, p. 329-334, 1947.

RUDER, M. G.; FELDMAN, S. H.; WÜNSCHMANN, A.; MCRUER, D. L. Association of *Mycoplasma corogypsi* and polyarthritis in a black vulture (*C. atratus*) in Virginia. **Journal of Wildlife Disease**, v. 45, n. 3, p. 808-816, 2009.

RUPLEY, A. E. **Manual de clínica aviária**. São Paulo: Roca, 1999. 582 p.

RUXTON, G. D.; HOUSTON, D. C. obligate vertebrate scavengers must be large soaring fliers. **Journal Theoretical Biology**, v. 228, n. 3, p. 431-436, 2004.

SATHEESAN, S. M.; SATHEESAN, M. **Serious vulture-hits to aircraft over the world**. Amsterdam, Holanda: International Birds Strike Committee, 2000. p. 114-126.

SEKERCIOGLU, C. H. Increasing awareness of avian ecological function. **Ecology and Evolution**, v. 21, n. 8, p. 464-471, 2006.

SHIVAPRASAD, H. L. BARROW, P. A. Pullorum disease and fowl typhoid. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDOUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. **Diseases of poultry**. 12. ed. Iowa: Blackwell, 2008. p. 620-634.

SIBLEY, C. G.; AHLQUIST, J. E. **Phylogeny and classification of birds: a study in molecular evolution**. New Haven: Yale University Press, 1990. 976 p.

SICK, H. **Ornitopatologia brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 224 p.

SIGRIST, T. **Aves do Brasil: uma visão artística**. São Paulo: Avis Brasilis, 2006. 156 p.

SILVA, J. O.; CAPUANO, D. M. Occurrence of *cryptococcus* spp and parasites of interest in public health in pigeons excrement in the city of Ribeirão Preto, Sp, Brazil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 67, n.2, p. 137-141, 2008.

SILVA, M. A.; MARVULO, M. F. V.; MOTA, R. A.; SILVA, J. C. R. A importância da ordem ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 7, p. 573-580, 2010.

SMITH, W. A.; MAZET, J. A. K.; HIRSH, D. C. Salmonella in california wildlife species: prevalence in rehabilitation centers and characterization of isolates. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 3, p. 228-235, 2002.

SPICKLER, A. R.; ROTH, J. A.; GALYON, J.; LOFSTEDT, J. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). In: SPICKLER, A. R.; ROTH, J. A.; GALYON, J.; LOFSTEDT, J. **Emerging and Exotic Diseases of Animals**. 4. ed. Iowa: The Center for Food Security and Public Health, 2009. p. 96-97.

TANNOCK, G. W. **Normal microflora**. Londres: Chapman & Hall, 1995. 128 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. p. 428-447.

TULLY JR., T. N.; HARRISSON, G. J. Pneumonology. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISSON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers, 1994. p. 556-574.

VELA, A. I.; CASAS-DÍAZ, E.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F.; SERRANO, E.; AGUSTÍ, S.; PORRERO, M. C.; DEL REY, V. S.; MARCO, I.; LAVÍN, S.; DOMÍNGUEZ, L. Estimation of cultivable bacterial diversity in the cloacae and pharynx in eurasian griffon vultures (*Gyps fulvus*). **Microbial Ecology**, v. 69, n. 3, p. 597-607, 2014.

VIANA, M. S. S. B. **Características hematológicas e ocorrência de hemoparasitas em aves de rapina**. 2010. 111 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica De Lisboa, Lisboa, 2010.

VILLEGAS, A.; SÁNCHEZ, J. M.; COSTILLO, E.; CORBACHO C. Blood chemistry and haematocrit of the black vulture (*Aegypius monachus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 132, n. 2, p. 489-497, 2002.

WAGNER C.; HENSEL M. Adhesive mechanisms of *salmonella enterica*. In: LINKE, D.; GOLDMAN, A. **Bacterial adhesion – chemistry, biology and physics**. Dordrecht, Heidelberg; London and New York: Springer, 2011. p. 17-34.

WAITES, K. B.; TALKINGTON, D. F. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 4, p. 697-728, 2004.

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

WINSOR, D. K.; BLOEBAUM, A. P.; MATHEWSON, J. J. Gram-negative, aerobic, enteric pathogens among intestinal microflora of wild turkey vultures (*cathartes aura*) in west central texas. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 1123-1124, 1981

WISE, M. G.; SIRAGUSA, G. R. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one to three-week-old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetable-based diets. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n. 4, p. 1138-1149, 2007.