SANDRA HELENA RAMIRO CORRÊA

**Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da
Fundação Parque Zoológico de São Paulo**

São Paulo
2007

SANDRA HELENA RAMIRO CORRÊA

**Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da
Fundação Parque Zoológico de São Paulo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto

São Paulo
2007

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.1928
FMVZ

Corrêa, Sandra Helena Ramiro

Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo / Sandra Helena Ramiro Corrêa. – São Paulo: S. H. R. Corrêa, 2007.
89 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2007.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto.

1. Zoológico. 2. Anatídeo. 3. Doenças infecciosas. 4. Aves migratórias. 5. Vigilância epidemiológica. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo epidemiológico de agentes de doenças na população de anseriformes da Fundação Parque Zoológico de SP", protocolado sob o nº976/2006, utilizando 311 (trezentos e onze) cisnes negros (coleta de material biológico), sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 12/12/06".

(We certify that the Research "Survey of infectious diseases in anseriforms of the Fundação Parque Zoológico de São Paulo", protocol number 976/2006, utilizing 311 (three hundred and eleven) anseriforms, under the responsibility of Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting of the day 12/12/2006).

São Paulo, 13 de dezembro de 2006

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CORRÊA, Sandra Helena Ramiro

Título: Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

Prof. Dr. _____	Instituição: _____
Assinatura: _____	Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

- À diretoria da Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Dr. Paulo Magalhães Bressan, Prof. Dr. João Batista da Cruz, Dr. Antonio Carlos de Carvalho Filho, Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias, pelo apoio e liberação, durante todo o período do projeto de doutorado, pelo incentivo e abertura ao aprimoramento científico e profissional.
- Ao Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, amigo muito querido e orientador deste trabalho, pela orientação e apoio de sempre, pela amizade, paciência e incentivo durante todo o período dos projetos de Mestrado e Doutorado. Também pela abertura e parceria científicas, em inúmeros trabalhos em conjunto na busca de diagnósticos e condutas na rotina da medicina de animais silvestres no Zoológico de São Paulo.
- À amiga querida Fernanda Junqueira Vaz Guida, bióloga chefe do Setor de Aves da Fundação Parque Zoológico de São Paulo, pela abertura à proposta de trabalho, pelo auxílio nas diferentes etapas, e principalmente pelo incentivo e generosidades sempre presentes, sem os quais este projeto não seria realizado.
- Aos amigos Profa. Dra. Cristiane Schilbach Pizzutto, Manuela G.F.G Sagai e Prof. Dr. Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães, pela absoluta amizade, força e suporte às dificuldades. Pelo apoio incondicional de sempre, pelas orientações e toda imensa paciência!
- Aos amigos do VPS, Zenaide Maria de Moraes, Viviane Cambuí Rocha, Mariana Matrone, Maria Del Pilar Vejarano, Laura Y.B.Villarreal, Giselle O. de Souza, César A. R. Rodriguez, André Saidenberg, Cybele, Cássia Ikuta, Patrícia Marques Ferreira, pelo auxílio imprescindível nas diferentes etapas deste trabalho e pela generosidade e amizade de sempre.
- Ao Prof. Dr. Nilson Roberti Benites e a Prof. Dr. Priscilla Anne Melville, pelo auxílio e atenção no processamento de amostras, na pesquisa microbiológica.
- À Profa. Dra. Caris Maroni Nunes, do Departamento de Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista, campus de Araçatuba, pelo auxílio no fornecimento da amostra de controle positivo para *Chlamydophila psittaci*.
- À Profa. Dra. Ilária Capua, do Instituto Zooprofilático de Veneza, pelo auxílio no fornecimento da amostra de controle positivo para Influenza aviária.
- À Simone Tenório (Pro - Aves), Oriel Nogali e a todos os funcionários, técnicos, aprimorandos, estagiários e voluntários envolvidos na fase inicial do projeto. Na busca de referências bibliográficas, e nas cansativas capturas e colheitas de material de todos os animais.
- Aos amigos da Divisão de Veterinária da FPZSP, Rodrigo Pinho Gomez Lopez, José Daniel Luzes Fedullo, Damiana Pimenta, André Nicolai E. Silva, Haroldo Soares Barbosa, Luiz Barbosa de Miranda Filho, Denise Martins Sanches e Carolina Chagas, pela amizade, incentivo e retaguarda de sempre.
- Aos queridos Ana Lúcia Gonçalves Novelini e Agnaldo Doná, amigos e orientadores de sempre na informática!

- À Maria José Caldeirane, Fátima A. Valente Roberti, e todos os amigos de longa data, na FPZSP, que em diferentes momentos sempre tiveram uma palavra de apoio, estímulo e expectativa nas muitas etapas, de tantos projetos.

- A meus queridos pais Lúcia e Renato, e a Tia Lena, pela força em qualquer momento, pela presença em qualquer lugar e pelo amor em qualquer tempo.

RESUMO

CORRÊA, S. H. R. **Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo.** [Epidemiological study of infectious diseases on waterfowls from Fundação Parque Zoológico de São Paulo]. 2007. 89 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Anseriformes mantidos em lagos de zôos e parques estão sob constante risco de exposição às doenças presentes nas populações de aves migratórias, que dividem com eles o mesmo local durante um determinado período todos os anos. São doenças que podem ter implicações para as aves cativas, para a população humana que tem contato com essas aves e para os plantéis de produção. Assim, ações de vigilância, com o objetivo de detectar rapidamente determinadas doenças, representam alternativas interessantes para se fazer gestão de risco. O objetivo do presente estudo foi pesquisar a presença de agentes etiológicos selecionados na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*), mantida nos lagos da FPZSP, visto que essa população tem contato com as seguintes aves migrantes que visitam a FPZSP todos os anos: irerês (*Dendrocygna viduata*), marreca caneleira (*Dendrocygna bicolor*) e marreca asa de seda (*Amazoneta brasiliensis*). Assim, foram colhidos suabes de traquéia e cloaca de uma amostra capaz de detectar doença com prevalência estimada em 1% para um nível de confiança de 95%. Além disso, foi realizado um estudo retrospectivo (2001 a 2006) das principais causas de morte nessa população. As principais causas de mortalidade registradas em 184 registros analisados foram: desvio de tendão extensor tarso-metatarsiano (37, 20,1%), desnutrição (20, 10,9%), problemas hepáticos (17, 9,2%), traumas (15, 8,2%), problemas respiratórios (8, 4,3%), septicemias (6, 3,3%), intoxicações (5, 2,7%) e problemas gastrointestinais (3, 1,6%). Um terço das carcaças (62, 33,7%) foi encontrado em estado de putrefação. A taxa de mortalidade foi decrescente de 2001 a 2006 e apresentou sazonalidade, sendo maior entre os meses de novembro a maio. No momento das coletas, não houve nenhuma evidência clínica ou laboratorial da presença dos seguintes agentes: *Pasteurella multocida*., *Salmonella* sp., *Chlamydophila psittaci*, Orthomixovírus (Influenza Aviária), Paramixovírus (Doença de Newcastle) e Coronavírus (Bronquite Infecciosa).

Palavras-chave: Zoológico. Anatídeo. Doenças infecciosas. Aves migratórias. Vigilância epidemiológica.

ABSTRACT

CORRÊA, S. H. R. **Epidemiological study of infectious diseases on waterfowls from Fundação Parque Zoológico de São Paulo.** [Estudo epidemiológico de doenças infecciosas em anatídeos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo]. 2007. 89 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Waterfowls housed in ponds of zoos and parks are under constant risk of exposure to pathogens of migratory birds that visit these places every year. Some of them involving zoo animals and humans. The spread of particular diseases may also become a serious threat for domestic poultry. So, surveillance, focused in early detection of some diseases, can be an interesting tool to do risk management. The goal of the present work was to search the presence of some select pathogens in the captive black swan population (*Cygnus atratus*) present in the ponds of the Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP), because these animals have contact with the following free-living waterfowls: white-faced whistling-duck (*Dendrocygna viduata*), fulvous whistling-duck (*Dendrocygna bicolor*) e brasilian teal (*Amazoneta brasiliensis*). Swabs of trachea and cloaca were sampled from 239 animals, the sample size required for detecting disease present in at least 1% of the animals (CI = 95%). Moreover, a retrospective study was done about the causes of death to the period from 2001 to 2006. The mainly causes of black swan death in FPZSP were: slipped tendon (37/184, 20,1%), malnutrition (20/184, 10,9%), hepatic problem (17/184, 9,2%), trauma (15/184, 8,2%), respiratory problem (8/184, 4,3%), septicemias (6/184, 3,3%), intoxication (5/184, 2,7%) e gastro-intestinal problems(3/184, 1,6%). One third of the carcass (62/184, 33,7%) was in autolysis. The mortality presented peaks of occurrence from november to may and a decreasing trend from 2001 to 2006. At the moment of the sampling, there was no clinical or laboratorial evidence of the infection by the following pathogens: *Pasteurella multocida*., *Salmonella* sp., *Chlamydophila psittaci*, Orthomixovírus (Avian Influenza), Paramixovirus (Newcastle Disease) e Coronavirus (Infectious Bronchitis).

Key words: Zoo. Waterfowl. Infectious diseases. Migratory birds. Epidemiology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2001. São Paulo, 2007.....	49
Tabela 2 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2002. São Paulo, 2007.....	51
Tabela 3 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2003. São Paulo, 2007.....	53
Tabela 4 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2004. São Paulo, 2007.....	54
Tabela 5 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2005. São Paulo, 2007.....	55
Tabela 6 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2006. São Paulo, 2007.....	57
Tabela 7 - Levantamento histórico das causas de morte na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) no período de 2001 a 2006, mantidos na FPZSP. São Paulo, 2007.....	57
Tabela 8 - Levantamento histórico das causas de morte na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) no período de 2001 a 2006, associado a sexo e idade, mantidos na FPZSP. São Paulo, 2007.....	58
Tabela 9 - Resultados microbiológicos obtidos da população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) alojada na FPZSP. São Paulo, 2007.....	60

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Primers para <i>Clamydia psitacci</i> descrito por HEWINSON et al. (1996).....	42
Quadro 2 - <i>Primers</i> para <i>Pasteurella multocida</i> descrito por Miflin e Blackall (2001).....	42
Quadro 3 - <i>Primers</i> para Paramyxovírus tipo 1 - Newcastle descrito por Tiwari et al. (2004).....	42
Quadro 4 - <i>Primers</i> para Influenza A descrito por Poddar (2002).....	43
Quadro 5 - <i>Primers</i> para Coronavírus descrito por Buitrago (2003).....	43

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2001. São Paulo, 2007.....	50
Gráfico 2 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2002. São Paulo, 2007.....	52
Gráfico 3 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2003. São Paulo, 2007.....	53
Gráfico 4 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2004. São Paulo, 2007.....	54
Gráfico 5 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2005. São Paulo, 2007.....	56
Gráfico 6 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) da FPZSP no ano de 2006. São Paulo, 2007.....	56
Gráfico 7 - Séria temporal para mortalidade de Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) no período de 2001 a 2006, na FPZSP. São Paulo, 2007.....	58
Gráfico 8 - Análise sazonal de registros de mortalidade em Cisnes Negros (<i>Cygnus atratus</i>) no período de 2001 a 2006, na FPZSP. São Paulo, 2007.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Animais estudados.....	35
Figura 2: Manejo dos Animais.....	36
Figura 3: Colheita de Material.....	37
Figura 4: Área de estudo na FPZSP.....	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 ANATÍDEOS	21
2.1.1 Cisne negro (<i>Cygnus atratus</i>)	21
2.1.2 Irerês (<i>Dendrocygna viduata</i>)	22
2.1.3 Marreca canelera (<i>Dendrocygna bicolor</i>)	22
2.1.4 Marreca asa de seda (<i>Amazoneta brasiliensis</i>)	22
2.2 DOENÇAS ESTUDADAS	23
2.2.1 Pasteurelose	23
2.2.2 Salmonelose	24
2.2.3 Clamidiose	26
2.2.4 Influenza aviária	27
2.2.5 Doença de Newcastle	29
2.2.6 Bronquite infecciosa das aves	30
3 MATERIAL E MÉTODO	33
3.1 ÁREA E POPULAÇÃO SOB ESTUDO	33
3.2 COLHEITA DO MATERIAL	34
3.3 DOENÇAS PESQUISADAS	39
3.4 PROCESSAMENTO DO MATERIAL	39
3.4.1 PCR	39
3.4.1.1 Pré-preparo das amostras para PCR	39
3.4.1.2 Eluição	39
3.4.1.3 Extração do RNA	40
3.4.1.4 Extração do DNA	41
3.4.1.5 Síntese de c-DNA (Transcriptase Reversa)	42
3.4.1.6 Primers	42
3.4.1.7 Amplificações	43
3.4.1.8 Análise do produto amplificado	45

3.4.1.9 Controles.....	46
3.4.2 Pesquisa de Salmonela.....	46
3.4.3 Estudo retrospectivo de mortalidade dos Cisnes Negros da FPZSP.....	47
 4 RESULTADOS.....	 49
4.1 REGISTROS DE DIAGNÓSTICO FINAL NAS FICHAS DE NECROPSIA DOS ANATÍDEOS DA FPZSP DE 2001 A 2006.....	49
4.2 EXAMES LABORATORIAIS REALIZADOS NAS AMOSTRAS COLETADAS.....	59
 5 DISCUSSÃO.....	 65
5.1 ANÁLISE DOS REGISTROS DE CAUSA DE MORTALIDADE.....	65
5.2 ANÁLISE DOS RESULTADOS DA PESQUISA DE AGENTES ETIOLÓGICOS.....	68
5.2.1 Pasteurela.....	68
5.2.2 Salmonelose.....	69
5.2.3 Clamidiose.....	70
5.2.4 Influenza aviária.....	71
5.2.5 Doença de Newcastle.....	72
5.2.6 Bronquite infecciosa.....	72
 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	 75
 7 COCLUSÕES.....	 77
 REFERÊNCIAS.....	 79

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O estudo de doenças transmissíveis em populações de animais silvestres é um tema complexo e desafiador, pois além da grande diversidade de espécies silvestres, tem que ser consideradas a enorme gama de agentes envolvidos e também a heterogeneidade de ambientes. Doenças infecciosas têm sido relacionadas a impactos importantes na fauna silvestres e muitas vezes a etiologia destes episódios é desconhecida. Diferentes epidemias são reportadas nestas populações e a dinâmica destes agentes infecciosos requer cada vez mais o entendimento de inúmeros fatores (DOBSON et al., 2001; WILLIAMS et al., 2002). O estudo de doenças em populações de animais silvestres auxilia o monitoramento de doenças emergentes, que desafiam programas integrados de controle sanitário em epidemias mundiais (MÖRNER et al., 2002; FRIEND, 2005).

Os animais silvestres são divididos em dois agrupamentos distintos: as populações cativas e as populações de vida livre. A logística para se estudar as populações cativas é bastante facilitada e as publicações, na imensa maioria das vezes, têm cunho eminentemente médico e curativo. São menos freqüentes as abordagens epidemiológicas, com vistas à prevenção ou ao controle futuros, em situações que não estejam associadas aos grandes impactos e mortalidades.

Estudos em populações de vida livre representam um desafio maior, pois requerem investimentos estruturais e logísticos mais elaborados. Ocorrem em operações de campo, que em sua maioria são multidisciplinares e podem envolver diferentes instituições. As razões que desencadeiam estudos nessas populações são principalmente os riscos de extinção de espécies estratégicas, riscos para a saúde pública ou riscos de propagação de doenças para espécies de interesse econômico.

Entre as espécies silvestres de vida livre, as populações de aves migratórias despertam grande interesse e preocupação, pois tem em seu comportamento migratório um excelente mecanismo de espalhamento de doenças ao longo de suas rotas de movimentação. Atravessam fronteiras nacionais e internacionais, podendo ser vetores de bactérias, vírus e parasitas. (ROCAN et al., 1979; OLSÉN et al., 1995; GREEN et al., 2002; REED et al., 2003; HUBÁLEK, 2004; LILLEHAUNG et al. 2005; HLINAK et al., 2006).

O potencial de transporte e disseminação de microorganismos patogênicos por aves migratórias, pode ser efetuado por mecanismos distintos associados ao tipo de inter-relação

entre o hospedeiro e o agente. As aves podem então se comportar como carreadores biológicos multiplicando o agente, carreadores mecânicos ou ainda como carreadores de hospedeiros infectados (HUBÁLEK, 2004).

Há décadas, essas populações são foco constante de projetos interessados particularmente no estudo de parâmetros biológicos e ecológicos, como os mecanismos de orientação, as rotas de migração, os hábitos reprodutivos e alimentares, as correntes de vento e as condições ambientais favoráveis e adversas. Comparativamente, poucos foram os estudos envolvendo aspectos sanitários nestas populações. Conhecer a dinâmica das populações de aves migratórias e sua inter-relação com potenciais agentes causadores de doença, torna cada vez mais eficientes às medidas de entendimento e prevenção dos surtos de doenças e a emergência de patógenos zoonóticos relacionados ao impacto ambiental de sua presença (POST et al., 1998; REED et al., 2003).

Dentro deste contexto, o sucesso na manutenção de aves silvestres em cativeiro e em criações industriais, também está associado ao conhecimento das doenças que podem acometer estes animais e sua relação com animais de vida livre. (POST et al., 1998; FIGUEROLA et al., 2000; PETERSON et al., 2002; KRUSE et al., 2004, MATSUI, 2005; CHOMEL et al., 2007).

Em meio urbano encontramos ainda muitos fragmentos de vegetação, compondo ecossistemas diversificados e mantenedores de uma grande variedade de fauna silvestre, como ocorre na maioria dos parques zoológicos, que propiciam condições favoráveis a estas populações, podendo ser entendidos como pequenas reservas em áreas de vegetação isoladas.

Apesar de poucos estudos realizados nestes ecossistemas, estes ambientes fornecem uma oportunidade bastante rica quanto ao conhecimento da dinâmica das populações cativas e visitantes, além do levantamento de informações e estudos biomédicos, em áreas capazes de manterem-se como refúgio e com condições de abrigo, alimentação e reprodução para diferentes tipos de aves.

O manejo e a manutenção das diversas espécies de anatídeos silvestres em zoológicos e criadouros, em muitas situações são feitos em recintos abertos, com áreas extensas de exposição e com coleções de água essenciais a biologia e ao comportamento destas espécies. Muitas destes locais servem de refúgio para animais silvestres que vêm suas áreas de distribuição cada vez mais limitadas.

Recintos com características de semiliberdade, sem barreiras físicas que impedem a visitação de outras aves, merecem especial atenção. Condições favoráveis de abrigo e

alimentação, e ausentes quanto ao risco de predadores, fazem destas áreas ponto de descanso em rotas migratórias.

Geralmente, recintos com coleções aquáticas extensas, recebem especialmente em determinadas épocas do ano, a visitação de anatídeos silvestres, que buscam condições satisfatórias à sua reprodução e manutenção.

A concentração de animais e matéria orgânica nestas situações de aumento de população e o contato intenso e direto entre animais habitantes, migratórios e o homem, fazem com que preocupações sanitárias em parques zoológicos, tornem-se presentes e um sistema de vigilância e monitoramento seja desencadeado. Desta forma o trabalho criterioso e intenso voltado à medicina preventiva, estruturado no conhecimento das necessidades biológicas das espécies, e em sua susceptibilidade às diferentes doenças que podem acometê-las, passa a ser à base de um planejamento de manutenção e preservação de espécies muitas vezes ameaçadas de extinção (FALLACARA et al., 2004).

A Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP), mantém em sua população de aves cativas, cerca de 25 espécies de anatídeos, perfazendo um total de cerca de 600 indivíduos, mantidos em uma extensa área de exposição, formada por dois lagos.

A estrutura de manutenção destes animais proporciona o contato com espécies migrantes que são recebidas pelo parque em determinadas épocas do ano. No período de maio a setembro, são avistadas três espécies visitantes: Irerês (*Dendrocygna viduata*), Marreca caneleira (*Dendrocygna bicolor*) e Marreca asa de seda (*Amazoneta brasiliensis*), que utilizam esses locais para descanso e alimentação em suas migrações anuais.

Assim, agentes de doenças presentes nessas populações migrantes podem ser introduzidos nos anatídeos mantidos na FPZSP. Portanto, o objetivo desse estudo é pesquisar a presença de agentes etiológicos selecionados na população cativa de anatídeos da FPZSP, levando em consideração as variantes ambientais a que estão expostas, especialmente o contato com aves migrantes que visitam estes ambientes de forma sazonal. Além disso, verificar as causas de morte registradas anteriormente nos animais que habitavam estas áreas e analisar uma possível relação com os resultados encontrados.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

Inúmeros trabalhos relatam a susceptibilidade de anatídeos silvestres a diferentes agentes etiológicos, sejam eles virais, bacterianos, fúngicos e parasitários, ressaltando a importância da vigilância epidemiológica em qualquer plano de medicina preventiva (KAPPERUD et al., 1983; DRAWN et al., 2004).

Aves migratórias de diversas espécies podem ser significativamente envolvidas na ecologia e circulação de agentes como a *Salmonella* sp. (REFSUN et al., 2002; STEELE et al., 2005), a *Chlamydophila psittaci* (FUDGE, 1996; WOLDEHIWET, 2001; ACHA; SZYFRES, 2003), a *Pasteurella multocida* (PEDERSEN et al., 2003; BLANCHONG et al., 2006), a *Pasteurella anatipestifer* (WOBESER et al., 1974), a *Borrelia burgdorferi* (MIYAMOTO et al., 1997), o *Mycoplasma gallisepticum* (DHONDT et al., 2005), e o *Campyobacter jejuni* (LUECHTEFELD et al., 1980; HUBÁLEK et al., 2004), entre outras.

Entre as viroses, destacam-se a o Herpesvirus da enterite viral dos patos (VENUGOPAL et al., 2001), o Orthomxovirus da Influenza Aviária (CHEN et al., 2006; GILBERT et al., 2006), o Coronavírus da Bronquite Infecciosa das Aves (COOK, 2001; GERLACH, 1994), o Paramixovírus da Doença de Newcastle (ALEXANDER; JONES, 2001; ACHA; SZYFRES, 2003), e o Flavivírus da Doença do Oeste do Nilo (RAPPOLE et al., 2000; RAPPOLE; HUBÁLEK, 2003).

No presente estudo, foram selecionados os seguintes agentes para pesquisa: *Chlamydophila psittaci*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella* sp., Orthomxovirus da Influenza aviária, Paramixovírus da Doença de Newcastle e o Coronavírus da Bronquite infecciosa das aves.

Os animais estudados foram os Cisnes negros (*Cygnus atratus*), espécie em maior número de indivíduos mantidos entre a população de anatídeos da Fundação Parque Zoológico de São Paulo.

As espécies avistadas como visitantes, no mesmo ambiente das espécies estudadas, são Irerês (*Dendrocygna viduata*), Marreca canelera (*Dendrocygna bicolor*) e Marreca asa de seda (*Amazoneta brasiliensis*).

Assim, a seguir abordam-se individualmente cada uma das espécies mencionadas como habitantes permanentes e visitantes no ambiente estudado e também as doenças estudadas.

2.1 ANATÍDEOS

Pertencem à ordem Anseriforme, família Anatidae. Habitam uma grande variedade de ambientes aquáticos, e cada espécie demonstra sua preferência entre ambientes como lagos, margem de rios e alagados, onde despendem a maior parte de seu tempo. As aves pertencentes a esta família apresentam particularidades morfológicas e adaptações importantes a sua biologia, ligadas a vida aquática, porém cada espécie tem suas características próprias à ecologia de seu habitat, método de alimentação e características reprodutivas. Possuem como característica importante, um bico em geral equipado com lâminas transversais, que auxiliadas pela língua grossa e sensível, formam um aparelho eficiente para filtrar seu alimento, composto de pequenas sementes, folhas, larvas de inseto e pequenos crustáceos, misturados a água e lama. Tem pernas curtas e seus dedos são providos de membranas natatórias (DEL HOYO et al., 1992).

Apresentam um forte comportamento gregário, com hábitos sociais ligados à alimentação, limpeza de penas, estratégias de defesa contra predadores, movimentação durante migrações e comportamento reprodutivo. Frequentemente são avistada em grandes grupos, dependendo da espécie, época do ano e capacidade dos locais de pouso. A natureza e o tipo de vegetação natural ao redor das águas ou emergindo delas constituem fator significativo afetando a capacidade dos mais variados ambientes em dar sustentação as diferentes espécies. Fatores como a qualidade da água e sua profundidade, a manutenção de níveis mínimos de água durante as estações do ano, o tipo de substrato no fundo de lagos e rios, e a disponibilidade de alimento, geralmente são decisivos na manutenção destas populações (DEL HOYO et al., 1992).

2.1.1 Cisne negro (*Cygnus atratus*)

Esta espécie é encontrada na Austrália, Tasmânia e Nova Zelândia. Habita grandes lagos e apresenta comportamento gregário. São aves que apresentam cerca de 140 cm de altura, pesando entre 3,7 e 8,7 quilos, e envergadura entre 160 a 200 cm, da ponta de uma asa

a outra. As penas do corpo são negras e brancas na extremidade das asas, em indivíduos adultos. Nos jovens o padrão cinza de coloração das penas é bem marcado. Alimentam-se de uma dieta vegetariana que consiste em diferentes plantas aquáticas e algas (DEL HOYO et al., 1992).

2.1.2 Irerês (*Dendrocygna viduata*)

A *Dendrocygna viduata*, pertence à subfamília Anserinae e ao gênero *Dendrocygna*. Também é chamada de Marreca piadeira, Paturi, Viuvinha ou Marreca viúva. De porte ereto, com cerca de 44 cm de altura, apresenta uma máscara branca e finas listas pretas e brancas pelo corpo. Habita a região tropical da América do Sul até a Bolívia, Argentina e Uruguai, todo o Brasil e também a África. Apresenta comportamento ativo nos períodos crepusculares, durante o dia descansa em bandos ficando à beira de banhados e campos inundáveis onde se alimenta. Assim como outros anatídeos, apresenta habito migratório em diferentes áreas, sendo avistados no sul, sudeste, centroeste e nordeste do Brasil em migração (SICK, 1997).

2.1.3 Marreca caneleira (*Dendrocygna bicolor*)

A *Dendrocygna bicolor* pertence à subfamília Anserinae e ao gênero *Dendrocygna*. É ainda conhecida como Marreca peba e Marreca xenxém. Apresenta plumagem parda-acanelada, flanco listrado de amarelo. As asas, bico e canelas são cor de chumbo. Vive em bandos e é encontrada deste a Califórnia até a Argentina e em todo o Brasil (SICK, 1997).

2.1.4 Marreca asa de seda (*Amazoneta brasiliensis*)

A *Amazonetta brasiliensis*, pertence à subfamília Anatinae e ao gênero *Amazonetta*. Também é conhecida como Marreca de pé vermelho, Marreca ananaí, Marreca espelho ou

Marreca assobiadeira. Apresenta dimorfismo sexual visível, onde no macho a coloração do bico é vermelha e na fêmea azulada. Esta presente em banhados e açudes, mesmo bem pequenos, porém ricos em vegetação baixa e densa. Ocorre das Guianas e Venezuela até a Argentina e todo o Brasil (SICK, 1997).

2.2 DOENÇAS ESTUDADAS

2.2.1 Pasteurelose

Pasteurelose aviária, também conhecida como Cólera Aviária ou Septicemia Hemorrágica, é uma doença altamente infecciosa, caracterizada por processos agudos e septicêmicos. É causada pela *Pasteurella multocida*, uma bactéria gram negativa, aeróbia e anaeróbia facultativa, não móvel, não formadora de esporos (GERLACH, 1994; GOODERHAM, 2001; ACHA; SZYFRES, 2003).

É responsável por taxas de mortalidade em cerca de 180 espécies de aves aquáticas, acomete também o homem e mamíferos domésticos. A transmissão ocorre através do contato com mucosas digestivas, respiratórias, conjuntivas e lesões cutâneas, ou ainda através da água de bebida, alimentos, instalações, aerossóis e fômites contaminados (FRIEND, 1989; BOTZLER, 1991; ASTERINO, 1996; LABONDE, 1996; GOODERHAM, 2001; ACHA; SZYFRES, 2003; SAMUEL et al., 2005).

A *Pasteurela* apresenta ainda a capacidade de permanecer por longos períodos em ambientes aquáticos, característica esta relatada em estudos de campo, como fator importante em situações epidêmicas entre anatídeos (WINDINGSTAD et al., 1984; PRICE; BRAND, 1984; BACKSTRAND; BOTZELER, 1986; BREDY; BOTZLER, 1989; BOTZELER, 1991; PRICE et al., 1992; SAMUEL et al., 2003; LEHR et al., 2005; BLANCHONG et al., 2006).

A dispersão da doença entre as aves aquáticas e migratórias é aumentada devido a seus hábitos gregários, densidade de população e infecções concomitantes. As aves doentes demonstram apatia e prostração, sinais respiratórios, entéricos e neurológicos (KORSCHEN et al., 1978; BOTZELER, 1991; WOBESER, 1992; SAMUEL et al., 1997; GOODERHAM,

2001; SONGSERM et al., 2003). Quando sobrevivem, podem tornar-se reservatórios sadios do agente (SAMUEL et al., 2005).

Wobeser et al.(1979) no Canadá, descreveu um dos primeiros surtos de cólera aviária, em aves migratórias de vida livre, com isolamento de *Pasteurella multocida*, em Ganso das neves (*Chen caerulescens caerulescens*) e Ganso de Ross (*Chen rossii*).

Na Ásia, Kwon e Kang (2003) descreveram na Baía de Cheonsoo, Coreia, um grande surto em Pato de Baikal (*Anas formosa*), com mortalidade de cerca de 13.000 animais, em uma população estimada de 100.000 indivíduos que visitam esta área na primavera. A *Pasteurella multocida*, foi isolada a partir de diferentes órgãos destes animais.

Pedersen (2003), na Dinamarca, descreveu em seu estudo um levantamento histórico entre os anos de 1996 a 2003, analisando índices de mortalidade e espécies envolvidas nos diferentes surtos ocorridos neste período. A *Pasteurella multocida* foi isolada em espécies silvestres de vida livre e cativas. Em criações comerciais de faisões (*Phasianus colchicus*), perdizes (*Perdix perdix*) e patos (*Somateria somateria*), foram relacionados isolamentos positivos. Da mesma forma, entre as aves migratórias os Cisnes brancos (*Cygnus olor*), Gaivotas (*Larus argentatus*), Gaivotas grandes pretas (*Larus marinus*) e Cormourões (*Phalacrocorax carbo*), apresentaram isolamento positivo.

Blanchong et al.(2006) descreveram no estado do Nebraska, EUA, áreas endêmicas para *Pasteurella multocida*. Relataram em seu estudo altos índices de mortalidade em Ganso das neves (*Chen caerulescens caerulescens*).

2.2.2 Salmonelose

O gênero *Salmonella* encontra-se dentro da família Enterobacteriaceae, trata-se de um microorganismo gram negativo, móvel, anaeróbio facultativo. Resiste a desidratação por longos períodos nas fezes, alimentos e meio ambiente (ACHA; SZYFRES, 2003). Alguns sorotipos estão associados a formas mais severas de doença, portanto a sorotipagem é importante para a investigação epidemiológica. Os sorotipos *S. enteritidis* e *S. typhimurium* apresentam as maiores prevalências e são encontrados tanto no homem quanto em aves (LOCKE et al., 1973; REFSUN et al., 2000; REFSUN et al., 2003; ACHA; SZYFRES, 2003; LEVENT et al., 2006). Dois sorotipos, o *S. pullorum* e o *S. gallinarum*, são adaptados às aves

domésticas e silvestres. Exceto os sorotipos *S. typhi*, *S. paratyphi* A e *S. paratyphi* C, os quais são estritamente humanos e onde o reservatório é somente o homem, todos os sorotipos podem ser considerados zoonóticos ou potencialmente zoonóticos (GERLACH, 1994).

A principal via de transmissão da salmonela é oro-fecal, através do contato com animais infectados, ou pela ingestão de alimentos e água contaminados ou ainda pelo contato com superfícies contaminadas. Os animais podem desenvolver a condição de portadores e eliminarem o agente no meio ambiente sem manifestarem sinais clínicos. De forma geral, como em outros agentes de doenças em aves, fatores estressantes, o sorotipo envolvido, a dose infectante ingerida, a espécie acometida e a idade são fatores que contribuem para o desencadeamento do quadro clínico (REFSUN et al., 2002; ACHA; SZYFRES, 2003).

Entre as aves encontramos uma grande variedade de espécies domésticas e silvestres como hospedeiros do agente. Os animais infectados podem ou não desenvolver sintomas; os assintomáticos podem agir como disseminadores do agente (ACHA; SZYFRES, 2003).

As aves apresentam um quadro clínico inespecífico com depressão e apatia, asas caídas, desidratação, diarreia e morte súbita. As lesões mais significativas apresentadas são indicativas de um quadro septicêmico e entérico (GERLACH, 1994; LABONDE, 1996; WRAY; DAVIES, 2001; ACHA; SZYFRES, 2003). Altas densidades populacionais predispõem à doença (ABULREESH et al., 2004; FALLACARA et al., 2004).

Existem vários relatos da presença do agente em perus selvagens (*Meleagris gallopavo*), corvos (*Corvus corone cornix*) e pombas domésticas (*Columba livia*) (KAPPERUD et al., 1983; HOWERTH, 1985; REFSUN et al., 2002).

A *Salmonella typhimurium* foi associada a surtos com importante mortalidade em passeriformes (LOCKE, 1973; ASTERINO, 1996; PENNYCOTT et al., 1998; REFSUN et al., 2002; D'AOUST et al., 2000; REFSUN et al., 2003).

Em aves de rapina, a *Salmonella enteritidis* foi associada à mortalidade em corujas Bufo-real (*Bubo bubo*), produzindo quadros entéricos agravados por outros agentes concomitantes como a coccidiose (KOCABIYIK et al., 2006).

A *Salmonella typhimurium* foi responsável pela mortalidade de araras azul (*Anodorhynchus hyacinthinus*) apreendidas, e relatada no estudo de Menão et al. (2000).

Diferentes estudos epidemiológicos têm relatado a *Salmonella* sp. em aves aquáticas (ABULREESH et al., 2004; FALLACARA et al., 2004). A prevalência em aves marinhas parece ser baixa em diferentes espécies de gaivotas (*Larus* sp.) têm sido descritas como carreadoras sadias do agente, contribuindo para a infecção de outras espécies de aves

(KAPPERUD et al., 1983; QUESSY et al., 1992; REFSUN et al., 2002; STEELE et al., 2005; DRAW et al., 2004).

Abulreesh et al. (2004) e Verdugo et al. (2006), estudando grandes grupos de anatídeos de vida livre, verificaram baixas prevalências de animais infectados por salmonelas e reportaram a existência de indivíduos que se comportavam como hospedeiros saudáveis desse agente.

2.2.3 Clamidiose

O agente etiológico da clamidiose pertence ao gênero *Chlamydophila*, onde três espécies são mais comumente descritas, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* e *C. psittaci*. A *Chlamydophila psittaci* é o agente etiológico da clamidiose nas aves. Um microorganismo intracelular obrigatório, altamente infeccioso, que apresenta virulência e patogenicidade dependentes da idade e da espécie de ave acometida, do estado imunológico da ave, do sorotipo envolvido, da presença de infecções concomitantes. São suscetíveis um grande número de animais domésticos e silvestres, inclusive o homem (FUDGE, 1996; SIMPSON, 2002; ACHA; FLAMMER, 2003; SZYFRES, 2003).

A doença é transmitida através de aerossóis de exsudato respiratório ou fezes. Aves infectadas podem não apresentar sinal clínico da doença, disseminando a infecção a outras aves e ao homem (WOLDEHIWET, 2001; ACHA; SZYFRES, 2003).

Fatores estressantes como super população, infecções concomitantes, condições sanitárias inadequadas e deficiências nutricionais estão associados ao desencadeamento de manifestações clínicas. Sinais clínicos característicos apresentados pelas aves doentes são desidratação, dispnéia, sinusite, rinite, blefarite, conjuntivite, descarga nasal e conjuntival mucopurulenta, diarreia e enfraquecimento. Alterações reprodutivas como infertilidade e mortalidade embrionária são também observadas (FUDGE, 1996; WOLDEHIWET, 2001).

Um grande número de aves silvestres é considerado como reservatório da *C. psittaci*, incluindo espécies migratórias (BRAND, 1989; METEYER et al., 1992; KALETA et al., 2003). Alguns estudos evidenciam a presença do agente em Charadriiformes, Passeriformes, Anseriformes (FARMER et al., 1982; BRAND, 1989; SIMPSON, 2002; HUBÁLEK, 2004) e

aves de rapina (SCHETTLER et al., 2003). Page (1976); Grimes et al.(1979) e Peterson et al. (2002) relataram a presença do agente em perus selvagens (*Melleagridis gallopavo*).

São freqüentes os relatos da infecção entre pombos domésticos (*Columbia livia*), que também atuam como dispersores do agente (BRAND, 1989; EMINA et al., 2006).

A maioria dos estudos limita-se a relatar a presença do agente em aves de vida livre, sem relacioná-lo a altas taxas de mortalidade (BRAND, 1989; EMINA et al., 2006). Franson et al. (1995), realizaram um dos poucos estudos que relata mortalidade importante em aves aquáticas de vida livre, atribuindo ao agente a morte de 400 gaivotas das espécies *Larus californicus* e *Larus delawarensis* na Dakota do Norte, EUA.

2.2.4 Influenza aviária

A influenza aviária tem sido citada como uma das mais importantes infecções de caráter zoonótico e distribuição mundial, envolvendo aves silvestres. Causada por um RNA vírus, da família Orthomyxoviridae, onde são identificados os seguintes gêneros: vírus influenza tipo A, vírus influenza tipo B, vírus influenza tipo C, Thogovírus e Isavírus. Os tipos A, B e C são classificados segundo seus antígenos de superfície e particularidades imunogênicas e epidemiológicas. O vírus da influenza do tipo A, tem maior significado quanto à ecologia e aspectos imunológicos, sendo responsável pela dispersão da doença no homem, animais domésticos e silvestres, especialmente nas aves. O vírus da influenza do tipo B ocorre exclusivamente no homem e está associado a endemias localizadas, tendo alta morbidade e baixa mortalidade. O tipo C acomete o homem e os suínos e é menos conhecido e estudado que os outros dois tipos anteriores (EARN et al., 2002; ACHA; SZYFRES, 2003; ALEXANDER, 2006).

A Influenza A é dividida em dois subtipos de acordo com as características de suas proteínas de membrana, Hemaglutinina (HA) e Neuraminidase (NA), importantes marcadores para o sistema imune. São conhecidas 16 HA (H1-H16) e nove NA (N1-N9). Esses subtipos podem sofrer alterações em sua estrutura, propiciando o surgimento de novas cepas, dando à infecção característica de epidêmica e por vezes pandêmica. Todos os subtipos de Influenza A têm sido descritos nas aves (ALEXANDER, 2006). Os subtipos H5 e H7 são as formas

altamente patogênicas e causadoras das recentes epidemias da doença nas várias espécies suscetíveis, incluindo as aves aquáticas (EARN et al., 2002; ALEXANDER, 2006).

Os mecanismos pelos quais o vírus da influenza transmite-se de uma ave para outra são complexos e estão relacionados à amostra viral, espécie suscetível e fatores ambientais. O vírus é eliminado pelas secreções orais e respiratórias e também pelas fezes, que contaminam ambiente, alimento, água e fomites, atingindo novos suscetíveis (SALLKNECHT et al., 1990; HUBÁLEK, 2004; ALEXANDER, 2006; BROWN, 2006; FERGUS et al., 2006; GILBERT et al., 2006).

O consumo de carcaças de aves contaminadas, também é relatado como via importante de transmissão da doença, afetando animais carnívoros e onívoros e o homem (TUMPEY et al., 2002). Keawcharoen et al.(2004) relataram a morte de dois tigres (*Panthera tigris*) e dois leopardos (*Panthera pardus*) por Influenza Aviária em um Zoológico na Tailândia. Songserm et al. (2006), também na Tailândia, relataram a morte de um cão conseqüente ao consumo de carcaça de ave contaminada.

A doença acomete os sistemas respiratório, digestivo e nervoso das aves. Os sinais clínicos incluem depressão, incoordenação, anorexia, dispnéia, sinusites e diarreias (ALEXANDER, 2001).

A capacidade de dispersão do agente tem levado a epidemias com altos índices de mortalidade entre animais e à exposição de seres humanos (SIMPSON, 2002; ACHA; SZYFRES, 2003; ALEXANDER, 2006; GILL et al., 2006; WANG et al., 2006). A dispersão do vírus em regiões como a Europa, Ásia e África sugerem fortemente o envolvimento de aves aquáticas migratórias devido às características epidemiológicas dos surtos e as rotas migratórias dessas espécies (ROCAN et al.,1979; FERGUS et al., 2006; DE MARCO et al., 2006; HAFIZ, 2006).

O primeiro isolamento do vírus da influenza em aves de vida livre foi feito em 1961, em andorinhas comuns (*Sterna hirundo*) na África do Sul (BECKER, 1966).

As aves migratórias, incluindo as aquáticas, têm grande participação na disseminação dos vários subtipos de vírus da Influenza Aviária (KAWAOKA et al., 1988; SHARP et al., 1993; GILBERT et al. 2006). As cepas de baixa virulência são descritas com freqüência em espécies silvestres, o que demonstra a capacidade de sobrevivência à infecção apresentada por algumas delas, tornando-se portadoras sem sintomatologia clínica (ALEXANDER, 2006; FEARE et al., 2006).

Espécies das ordens Anseriforme (patos, gansos e cisnes) e Charadriiforme (maçaricos e gaivotas), são importantes reservatórios assintomáticos e disseminadores do vírus da Influenza (ALFONSO et al., 1995; ALEXANDER, 2000; CHEN et al., 2005; BROWN et al., 2006; REDROBE, 2007).

Em ambiente de cativeiro, o vírus H5N1 foi detectado em Cisne Negro no zoológico de Desdren, Alemanha em agosto de 2006, desencadeando uma série de medidas sanitárias (DEFRA, 2007). A hipótese mais provável para a introdução do vírus H5N1 nesse zôo foi através de aves migratórias.

2.2.5 Doença de Newcastle

Também conhecida como Parainfluenza aviária, é causada pelo Paramixovírus tipo1, um RNA vírus, da família Paramyxoviridae. Apresenta sinais clínicos e susceptibilidade altamente variável entre as espécies (ALEXANDER; JONES, 2001; ACHA; SZYFRES, 2003).

Aves demonstrando doença respiratória eliminam o vírus através de aerossóis e secreções nasais, que podem ser inaladas por outras aves. Quadros virais que estão principalmente restritos ao trato intestinal podem ser transmitidos pela ingestão de alimento e água contaminados por fezes de animal infectado e também pela inalação de pequenas partículas de fezes secas. Vetores mecânicos como insetos, fômites e o próprio homem podem fazer parte da cadeia de transmissão da doença (ALEXANDER; JONES, 2001).

A gravidade da infecção varia com relação a amostras viral envolvida, classificada quanto a sua patogenicidade em velogênica (altamente patogênicas), mesogênica (patogenicidade intermediária ou moderada) e lentogênica (baixa patogenicidade). A espécie acometida, seu *status* imunitário, sua idade e as condições ambientais e sanitárias às quais o animal está exposto, modulam a severidade da doença. Os sinais clínicos podem variar entre quadros gastrointestinais agudos, acompanhados de anorexia, letargia e cianose, até doença respiratória aguda com exudatos em trato respiratório superior e dispnéia, ou ainda doença crônica de sistema nervoso central com opistótono, torcicolo, tremores e paralisia de membros (ALEXANDER; JONES, 2001; ZANETTI et al., 2005).

A doença de Newcastle é um sério problema sanitário da indústria avícola e, o fato do vírus também ser isolado em grande variedade de aves silvestres, incluindo as aquáticas e de rapina (SIMPSON, 2002; SCHETTLER, 2003; HUBÁLEK, 2004; PAULILLO et al., 2005), por vezes justifica ações de monitoramento em aves silvestres para minimizar o risco de introdução da doença no ambiente produtivo avícola (HECKERT, 1993).

Wobeser et al. (1990) no Canadá, descreveram a presença do vírus em gaivotas (*Larus* sp.), pelicanos (*Pelecanus erythrorhynchos*) e em cormorões (*Phalacrocorax auritus*).

Zanetti et al. (2005) conduziu um estudo para determinar o perfil sanitário em aves silvestres de vida livre e seus resultados ressaltaram a importância de medidas de segurança quanto à doença de Newcastle, demonstrando positividade em aves sadias de diferentes espécies incluindo cisnes. Hesse et al. (2004) relatam mortalidade substancial em patos e gansos silvestres em vida livre.

Verdugo et al. (2006) consideraram o Cisne de Pescoço Preto (*Cygnus melanocoryphus*) uma espécie que desenvolve a condição de portador sadio do agente.

2.2.6 Bronquite infecciosa das aves

O agente etiológico da Bronquite infecciosa é um Coronavírus, membro da família Coronaviridae, que infecta um grande número de hospedeiros e tem sido classificado em três grupos com base em sua organização genômica. Os grupos I e II têm sido encontrados em mamíferos, incluindo o homem. As aves apresentam o grupo III (LIU et al., 2005). A severidade da infecção pode variar dependendo de diferentes fatores, como a amostra viral envolvida, idade das aves, nutrição e fatores ambientais (CAVANAGH, 2005).

As secreções oro-nasais e as fezes das aves infectadas contaminam alimentos, água e fômites, que atingem novos suscetíveis; além disso existe a transmissão por aerossóis e por vetores mecânicos contaminados (CAVANAGH, 2007).

O vírus replica-se no epitélio do trato respiratório superior e inferior, afetando inicialmente as células ciliadas secretoras de muco, atingindo concentrações virais importantes em secreções nasais e traqueais, pulmões e sacos aéreos, provocando a doença respiratória. Pode ser detectado ainda em outros epitélios superficiais como nos rins (associado a quadros de nefrite), ovidutos e testículos. A replicação em superfícies entéricas é

considerada como de menor incidência, embora resulte em secreção fecal (DHINAKER et al., 1997; BOLTZ et al., 2004; CAVANAGH, 2007; LIU et al., 2004).

As manifestações clínicas podem ainda ser diferenciadas em função de infecções bacterianas secundárias facilitadas pela presença do vírus. Aves que sobrevivem à infecção clínica podem ainda apresentar o vírus e comportam-se como disseminadoras da doença entre os suscetíveis (COOK, 2001; GERLACH, 2004; CAVANAGH, 2005).

Em aves silvestres tem sido relatada em psitacídeos (GOUGH et al., 2006) e em avestruzes jovens (GERLACH, 2004). Jonassen et al. (2005) e Liu et al. (2005) demonstraram a presença do coronavírus da bronquite infecciosa em amostras fecais e suabes cloacais de faisões (*Phasianus colchius*), perdizes (*Alectoris* sp.), pavões (*Pavo cristatus*) e pombas (*Columba livia*).

Em anatídeos, são citados isolados de Ganso comum (*Anser anser*) e do Pato comum (*Anas platyrhynchos*) (JONASSEN et al., 2005; LIU et al., 2005; CAVANAGH, 2007).

MATERIAL E MÉTODO

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 ÁREA E POPULAÇÃO SOB ESTUDO

A Fundação Parque Zoológico de São Paulo está localizada em um importante segmento remanescente de mata atlântica, o Parque do Estado e ocupa uma área de cerca de 824.000m².

Dentro deste espaço existem dois importantes lagos destinados à manutenção e exposição de aves aquáticas pertencentes ao Parque. Um lago maior com uma área de cerca de 35.000 m², e um lago menor, com cerca de 18.000 m² (Figura 4).

Nestes dois ambientes são mantidas diferentes aves aquáticas, porém os anseriformes são o grupo majoritário entre eles, pelos registros e identificações pertencentes à FPZSP.

Os Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) – (Figura 1a), compõem o maior grupo, com cerca de 400 indivíduos, seguidos dos Irerês (*Dendrocygna viduata*) – (Figura 1d) cerca de 220 indivíduos, Marreca carolina (*Aix sponsa*) 117 indivíduos, Marreca asa de seda (*Amazoneta brasiliensis*) – (Figura 1b) 109 indivíduos, Marreca caneleira (*Dendrocygna bicolor*) – (Figura 1c) 102 indivíduos, Cisne de Pescoço Negro (*Cygnus melanocoryphus*) 10 indivíduos.

Além de aves habitantes permanentes nos lagos estudados, um número estimado em torno de 3000 aves visitantes, em sua maioria principalmente anatídeos, pousa nas margens a procura de alimento e abrigo durante o período de maio a setembro.

Por representarem a espécie em maior número no ambiente de estudo, os Cisnes negros (*Cygnus atratus*) foram eleitos como espécie alvo deste estudo.

Durante procedimento de rotina para avaliação clínica e conferência de população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*), colheu-se material biológico de uma amostra capaz de detectar doença com prevalência estimada de 1% para um nível de confiança de 95%. Foi calculada uma amostra para cada um dos dois lagos existentes na FPZSP. A escolha dos indivíduos foi aleatória sistemática.

3. 2 COLHEITA DO MATERIAL

Os indivíduos foram contidos fisicamente e então foram colhidas amostras de material biológico de traquéia e cloaca.

Uma amostra de cada ave foi colhida a partir da porção inicial de sua traquéia, através do uso de suabe de algodão estéril (Figura 3a). Esta amostra foi devolvida à sua embalagem plástica estéril e mantida a -15°C até o momento do processamento em laboratório.

De maneira análoga, outras duas amostras de material de porção inicial de cloaca foram colhidas com uso de suabes de algodão estéreis (Figura 3b). Uma delas foi mantida sob refrigeração e processada para pesquisa de *Salmonella sp* em até 6 horas após a colheita. A amostra restante foi mantida a -15°C até o momento do processamento em laboratório.

**Figura 1a: Cisne negro (*Cygnus atratus*)
espécie residente**

**Figura 1b: Marreca asa de seda
(*Amazonetta brasiliensis*)
espécie migrante**

**Figura 1c: Marreca caneleira
(*Dendrocygna bicolor*)
espécie migrante**

**Figura 1 d: Irerê (*Dendrocygna viduata*)
espécie migrante**

Figura 1: Espécies estudadas

Figura 2 a: Alinhamento de bóias

Figura 2 b: Agrupamento dos Animais

Figura 2 c: Contenção dos Animais

Figura 2: Manejo dos Animais

Figura 3a: Suabe de Traquéia

Figura 3 b: Suabe de Cloaca

Figura 3: Colheita de Material

Figura 4 a: Vista aérea da FPZSP

Figura 4 b: Vista aérea dos lagos estudados

Figura 4 c: Lago maior

Figura 4 d: Lago menor

Figura 4 e: Animais migrantes e residentes

Figura 4: Área de estudo na FPZSP

3.3 DOENÇAS PESQUISADAS

A partir das amostras colhidas, foram pesquisadas as seguintes doenças:

Agente etiológico	Doença	Teste direto
<i>Pasteurella multocida</i>	Pasteurelose	PCR
<i>Samonella</i> sp.	Salmonelose	isolamento
<i>Chlamydophila psittaci</i>	Clamidiose	PCR
Orthomixovírus	Influenza Aviária	PCR
Paramixovírus	Doença de Newcastle	PCR
Coronavírus	Bronquite Infecciosa	PCR

3.4 PROCESSAMENTO DO MATERIAL

3.4.1 PCR

3.4.1.1 Pré-preparo das amostras para PCR

Inicialmente as amostras foram eluídas em PBS (protocolo abaixo) e posteriormente organizadas de *pools* reunindo 5 amostras. Esses *pools* foram submetidos aos exames laboratoriais (extração de DNA e RNA e PCRs).

3.4.1.2 Eluição

1. Colocar cada suabe em um tubo de 1,5 ml com 1 ml de PBS pH 7,2 – 7,4;
2. Agitar por 15 segundos em vórtex;
3. Congelar por 10 minutos;
4. Descongelar;
5. Agitar por 15 segundos em vórtex;
6. Congelar por 10 minutos;
7. Descongelar;
8. Agitar por 15 segundos em vórtex;
9. Congelar por 10 segundos;
10. Descongelar e agitar;
11. Coletar 200 µl de cada tubo e transferir para respectivos pools.

Observação: Entre cada corte de suabe é feita desinfecção com água sanitária e água DEPEC.

3.4.1.3 Extração do RNA

1. 750 µl de Triazol + 250 µl de amostra (primeiro o reagente , depois a amostra);
2. Vórtex;
3. Descartar por 5 minutos;
4. Adicionar 200 µl de clorofórmio ultrapura;
5. Vórtex;
6. Descartar 10 minutos no congelador;
7. Centrifugar 12000/16 minutos a 4°C;
8. Colocar em um tubo limpo de 500 µl de propanol + 500 µl de sobrenadante;
9. Vórtex;
10. Descansar por 15 minutos;
11. Centrifugar 12000 g/16 minutos a 4°C;
12. Descartar o sobrenadante e deixar os tubos secarem em papel toalha limpo;
13. Ressuspender com 950 µl de etanol 75 %;
14. Centrifugar 12000 g/11 minutos a 4°C;
15. Desprezar o sobrenadante e secar no papel toalha;

16. Secar no banho-maria seco a 56°C;
17. Diluir em 17 µl de água DEPEC;
18. Aquecer a 56°C por 10 minutos;

3.4.1.4 Extração do DNA

1. Colocar 600 µl de GT em cada tubo marcado + 200 µl de amostra;
2. Vórtex por 15 segundos – Deixar 10 minutos no ambiente;
3. Adicionar 100 µl de clorofórmio;
4. Vórtex por 15 segundos – Deixar 10 minutos no ambiente;
5. Centrifugar 12000 x g por 5 minutos a 4°C;
6. Transferir o sobrenadante (+/- 400 µl) para o outro tubo com 600 µl de propanol;
7. Vórtex por 15 segundos;
8. Freezer a - 20°C por 2 horas;
9. Centrifugar 12000 x g por 20 minutos a 4°C;
10. Descartar o sobrenadante;
11. Adicionar 500 µl de etanol a 70% ;
12. Vórtex por 15 segundos;
13. Centrifugar 12000 x g por 10 minutos a 4°C;
14. Descartar o sobrenadante e secar;
15. Ressuspender p pellet com 30 µl de TE;
16. Incubar a 56°C por 15 minutos.

Observação: preparo do Tiocianato de guanidina 5M / Fenol pH 7,5 para extração de DNA

1. Preparar tiocianato de guanidina 5M: 60g de GT, 5ml Tris HCl 1M pH 7,5, 10 ml EDTA 0,25M pH 8,0, 100 ml de água qsp.
2. 100 ml GT 5M + 100 ml fenol pH 7,5;
3. Azul de ortoluidina (“pitada”, só para dar cor);
4. 1,4 mg glicogênio;

5. Aguardar 24h antes de usar.

3.4.1.5 Síntese de c-DNA (Transcriptase Reversa)

A síntese de c-DNA (transcrição reversa) feito para os RNA vírus, foi realizada a 42°C/60 em um mix contendo 1 x First Strand Buffer (InvitrogenTM), 1mM de cada dNTP, 10 mM DTT, 1pmol/μL de cada primer, 7 μL de RNA extraído pelo método do Trizol (InvitrogenTM) (de acordo com as instruções do fabricante e desnaturados a 95°C/5') e 200U de M-MLV Reverse Transcriptase (InvitrogenTM) para uma reação final de 20 μL

3.4.1.6 Primers

Os *primers* que seguem descritos nos quadros abaixo (Quadros 1, 2, 3, 4 e 5) foram utilizados nas PCRs.

PRIMERS	SEQUÊNCIA
CPF:	5' GCAAGACACTCCTCAAAGCC 3'
CPR:	5' CCTTCCCACATAGTGCCATC 3'

Quadro 1 - Primers para *Clamydia psitacii* descrito por HEWINSON et al.,1996

PRIMERS	SEQUÊNCIA
PM23F1	5' GGCTGGGAAGCCAAATCAAAG 3'
PM23R2	5' CGAGGGACTACAATTACTGTA 3'

Quadro 2 - Primers para *Pasteurella multocida* descrito por Miflin e Blackall, 2001

PRIMERS	SEQUÊNCIA
NCF	5' TTGATGGCAGGCCTCTTGC 3'
NCR	5' AGCGT(C/T)TCTGTCTCCT 3'

Quadro 3 - Primers para Paramyxovírus tipo 1 - Newcastle descrito por Tiwari et al., 2004

PRIMERS	SEQUÊNCIA
AIF	5' CCGAGATCGCACAGAGACTTGAAGAT 3'
AIR	5' GGCAAGTGCACCAGCAGAATAACT 3'

Quadro 4 - *Primers* para Influenza A descrito por Poddar, 2002

PRIMERS	SEQUÊNCIA
4BM	5' TCACAYTTWGGATARTCCCA 3'
2BP	5' ACTCARWTRAATYTNAAATAYGC 3'
CV2U	5' TACTATCACTGGCAGAATGTTTCA 3'
CV2L	5' AACATCTTTAATAAGGCGRCGTAA 3'

Quadro 5 - *Primers* para Coronavírus descrito por Buitrago, 2003

3.4.1.7 Amplificações

PCR para pesquisa de *Pasteurella multocida*

- 15 µL de água ultrapura;
- 5 µL de tampão de reação 10 X (500 nM KCL; 15 nM MgCl₂, 100 nM Tris- HCL, pH 9,0)
- 8,0 µL da mistura de dNTPs (200 µM de cada nucleotídeo [dCTP, dATP, dGTP, dTTP])
- 1,5 µL de MgCl₂ (50 nM)
- 5 µL de cada *primer* (10 pmol/ µL)
- 0,5 µL de *Taq* DNA polimerase (5 unidades por µL)
- 10 µL da amostra de DNA extraído

Será adotado para a amplificação o seguinte ciclo descrito por Miflin e Blackall (2001):

- Desnaturação do DNA: 93° C por 1 minuto (30 ciclos)
- Hibridização: 52°C por 45 segundos (30 ciclos)
- Extensão: 72°C por 2 minutos (30 ciclos)
- Extensão Final: 10 minutos

PCR para pesquisa de *Chlamydophila psittaci*

- 15 µL de água ultrapura
- 5 µL de tampão de reação 10 X (500 nM KCL; 15 nM MgCl₂, 100 nM Tris- HCL, pH 9,0)
- 8,0 µL da mistura de dNTPs (200 µM de cada nucleotídeo [dCTP, dATP, dGTP, dTTP])
- 1,5 µL de MgCl₂ (50 nM)
- 5 µL de cada *primer* (10 pmol/ µL)
- 0,5 µL de *Taq* DNA polimerase (5 unidades por µL)
- 10 µL da amostra de DNA extraído

Será adotado para a amplificação o seguinte ciclo descrito por Hewinson et al. (1996):

- Desnaturação inicial: 94°C por 3 minutos
- Desnaturação do DNA: 94° C por 30 segundos (40 ciclos)
- Hibridização: 50°C por 30 segundos (40 ciclos)
- Extensão: 72°C por 45 segundos (40 ciclos)
- Extensão Final: 72° C por 2 minutos

PCR para pesquisa de Herpesvírus

5 µL de cDNA assim obtidos foram adicionados ao PCR mix (1 x PCR Buffer (InvitrogenTM), 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 pmol/µL de cada primer, 1,5 mM MgCl₂ 25,25 µL de água ultrapura e 1,25 U Taq DNA polimerase para uma reação final de 50µL

PCR para pesquisa de *Orthomixovírus* (Influenza A) – descrito por Buitrago (2003).

5 µL de cDNA assim obtidos foram adicionados ao PCR mix (1 x PCR Buffer (InvitrogenTM), 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 pmol/µL de cada primer, 1,5 mM MgCl₂ 25,25 µL de água ultrapura e 1,25 U Taq DNA polimerase para uma reação final de 50µL

Será adotado para a amplificação o seguinte ciclo descrito por Poddar (2002):

- Desnaturação: 94° C por 15 segundos (40 ciclos)
- Hibridização: 55°C por 15 segundos (40 ciclos)
- Extensão: 72°C por 15 segundos (40 ciclos)
- Extensão Final: 72° C por 30 segundos

Nested PCR para pesquisa de Coronavírus – descrito por BUITRAGO (2003).

PCR- 5 µL de cDNA assim obtidos foram adicionados ao PCR mix (1 x PCR Buffer (InvitrogenTM), 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 pmol/µL de cada primer, 1,5 mM MgCl₂ 25,25 µL de água ultrapura e 1,25 U Taq DNA polimerase para uma reação final de 50µL

Nested - Foi realizado com 5 µL do produto da primeira PCR assim obtido adicionados ao mix contendo 1 x PCR Buffer (InvitrogenTM), 0,2mM de cada dNTP, 0,5 pmol/L de cada primer CV2L e CV2U, 1,5 mM MgCl₂ 25,25 µL de água ultrapura e 1,25U Taq polymerase e submetidos a 26 ciclos de 94°C/ 1 minuto, 54,8°C/ 1,5 minuto e 72°C/ 1 minuto seguidos por 72°C por 10 minutos para extensão final. Nesta etapa, foram incluídas amostras de água ultrapura a cada três amostras para avaliarem-se contaminações por DNA amplificado.

Paramixovírus tipo 1 – Newcastle

- 5 µL de cDNA assim obtidos foram adicionados ao PCR mix (1 x PCR Buffer (InvitrogenTM), 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 pmol/µL de cada primer, 1,5 mM MgCl₂ 25,25 µL de água ultrapura e 1,25 U Taq DNA polimerase para uma reação final de 50µL

Será adotado para a amplificação o seguinte ciclo descrito por Tiwari et al (2004):

- Desnaturação inicial: 94°C por 3 minutos
- Desnaturação: 94° C por 1 minuto (35 ciclos)
- Hibridização: 50°C por 1 minuto (35 ciclos)
- Extensão: 72°C por 1 minuto (35 ciclos)
- Extensão Final: 72° C por 5 minutos

3.4.1.8 Análise do produto amplificado

A visualização do produto amplificado será realizada através da técnica de eletroforese, em uma cuba horizontal, usando tampão de corrida TBE (0,04 M tris-acetato e 0,001 M EDTA, pH 8,0) agarose a 2,5% (p/v). Em uma solução de 5 µg/mL de brometo de etídio por 5 minutos, os géis serão corados, visualizados e fotografados em transiluminador ultravioleta.

3.4.1.9 Controles

Serão tomadas precauções para evitar a contaminação de utensílios e equipamentos de laboratório com material genético (DIEFFENBACH et al., 1995), diminuindo-se dessa forma o risco de falsos positivos na reação. Controles positivos e negativos serão utilizados em todas as reações.

3.4.2 Pesquisa de Salmonella

O material colhido para pesquisa de Salmonella foi submetido ao procedimento microbiológico clássico para este agente. Os suabes foram inoculados em caldo tetracionato, os quais foram incubados a 37°C por 24 horas. Paralelamente as amostras foram semeadas em ágar verde brilhante, Agar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT 4) e Agar Salmonella-Shigella, com incubação em anaerobiose a 37°C com leituras a cada 24-96 horas. Após a incubação as amostras que inicialmente foram inoculadas em caldo tetracionato também foram semeadas em ágar verde brilhante, ágar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT4) e ágar Salmonella-Shigella, com incubação destas realizada de forma similar à descrita anteriormente para o cultivo inicial.

3.4.3 Estudo retrospectivo de mortalidade dos Cisnes Negros da FPZSP

Foram estudados os registros de mortalidade dos cisnes negros mantidos na FPZSP para os anos de 2001 a 2006. Esses dados foram organizados em tabelas e gráficos para se conhecer as principais causas e verificar se a mortalidade tem comportamento sazonal com o auxílio do programa Minitab.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 REGISTROS DE DIAGNÓSTICO FINAL NAS FICHAS DE NECROPSIA DOS ANATÍDEOS DA FPZSP DE 2001 A 2006

As tabelas e gráficos de 1 a 6 trazem os registros de diagnóstico final de morte nas fichas de necropsia dos Cisnes Negros da FPZSP, tabulados ano a ano, para o período de 2001 a 2006. Embora a putrefação não seja uma causa de óbito, foi tabulada como tal para preservar a integridade da informação contida nas fichas da FPZSP.

Tabela 1 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2001- São Paulo - 2007

MÊS	CAUSA DE MORTE	TOTAL DE ANIMAIS
Janeiro	desnutrição, hemorragia intracelomática	01
	hepatite - desnutrição	01
Fevereiro		00
Março	eutanásia	02
	putrefação	01
	trauma - fratura vértebra cervical	01
Abril	desnutrição	01
	eutanásia	01
	putrefação	06
Mai		00
Junho	afogamento	01
	putrefação	01
Julho	putrefação	01
Agosto	Pneumonia - aerosaculite - desnutrição	01
Setembro	putrefação	01
Outubro	desnutrição	01
	eutanásia	02
	putrefação	04
Novembro	choque traumático - hemorragia cerebral	01
	colapso - cardio - respiratório (cirurgia - óbito)	01
	desnutrição - desidratação	01
	desnutrição - desvio de tendão extensor	01
	eutanásia	03
Dezembro	desvio de tendão extensor - desnutrição	03
	eutanásia	01
	putrefação	01
Total		38

Gráfico 1 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2001 - São Paulo - 2007

Tabela 2 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2002
- São Paulo - 2007

MÊS	CAUSA DE MORTE	TOTAL DE ANIMAIS
Janeiro	(cirurgia - desestabilização) - eutanásia	01
	afogamento	01
	desnutrição	01
	desnutrição - desidratação	02
	desnutrição - hipoglicemia	01
	eutanásia	05
	peritonite - ruptura de oviduto	01
	putrefação	01
Fevereiro	celomite - E.coli	01
	desnutrição	01
	endotoxemia - retenção de ovo	01
	eutanásia	01
	putrefação	01
Março	trauma - choque hipovolêmico	01
Abril		00
Mai	insuficiência hepática - desnutrição	01
	putrefação	01
	septicemia - ruptura de ovo em oviduto	01
Junho	desnutrição	01
	desnutrição - desidratação	01
	eutanásia	01
Julho	amiloidose	01
	putrefação	01
	septicemia - ruptura de ovo em oviduto	01
Agosto	colite caseosa	01
	degeneração hepática - esteatose	01
	desnutrição - hipoglicemia	01
	eutanásia	02
	nefrite	01
	pneumonia - amiloidose	01
	putrefação	01
	trauma - choque hipovolêmico	01
Setembro	enterite	01
	eutanásia	01
	hepatite - nefrite - gota visceral - amiloidose	01
	hepatite - nefrite - ruptura hepática - amiloidose	01
	insuficiência respiratória - esplenite - nefrite - aerosaculite	01
Outubro	hepatite - pneumonia - miocardite	01
Novembro	amiloidose	01
	enterite	01
Dezembro	desnutrição	01
	putrefação	03
Total		49

Gráfico 2 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2002- São Paulo - 2007

Tabela 3 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2003- São Paulo - 2007

MÊS	CAUSA DE MORTE	TOTAL DE ANIMAIS
Janeiro	inanição	01
	traumatismo craniano	01
Fevereiro		00
Março	putrefação	02
Abril	eutanásia	01
Mai	insuficiência respiratória	01
	putrefação	01
Junho	amiloidose	01
	trauma	01
Julho	putrefação	01
Agosto		00
Setembro	trauma - afogamento	01
Outubro	edema pulmonar - colite caseosa	01
	eutanásia	02
	putrefação	01
Novembro		00
Dezembro	botulismo - suspeita (pesquisa para toxina botulinica - .negativa)	03
	celomite - ovo atrésico no oviduto	01
	putrefação	08
Total		27

Gráfico 3 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2003- São Paulo - 2007

Tabela 4 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2004- São Paulo - 2007

MÊS	CAUSA DE MORTE	TOTAL DE ANIMAIS
Janeiro	Botulismo - suspeita (pesquisa para toxina botulinica - negativa)	01
Fevereiro	amiloidose	01
	putrefação	01
Março	aspergilose	01
	hipoglicemia	01
Abril	desvio de tendão extensor	01
	enterite	01
	putrefação	01
	trauma - fratura vértebra cervical	01
Maiο	eutanásia	01
Junho	putrefação	02
Julho	putrefação	02
	trauma - fratura vértebra cervical	01
Agosto	caquexia - hepatite - pneumonia	01
	putrefação	01
Setembro		00
Outubro	eutanásia	01
Novembro		00
Dezembro	putrefação	01
Total		19

Gráfico 4 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2004- São Paulo - 2007

Tabela 5 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2005- São Paulo – 2007

MÊS	CAUSA DE MORTE	TOTAL DE ANIMAIS
Janeiro	choque hipovolêmico - ruptura hepática	01
	desnutrição	01
	desvio de tendão extensor - eutanásia	01
	hipoglicemia	01
	insuficiência. respiratória - aerosaculite	01
	septicemia - hepatite - enterite	01
Fevereiro		00
Março	desvio de tendão extensor - eutanásia	01
Abril	amiloidose - pododermatite	01
	desnutrição	01
	putrefação	02
Maiο	desvio de tendão extensor - eutanásia	02
	hipoglicemia	02
Junho	amiloidose	01
	hipoglicemia - desnutrição	01
Julho	putrefação	01
Agosto	amiloidose	01
	desvio de tendão extensor - eutanásia	01
	hipoglicemia - desnutrição	01
Setembro	amiloidose hepática e esplênica - esplenite caseosa	01
	insuficiência respiratória - conjuntivite - aerosaculite	01
Outubro	amiloidose	01
Novembro	eutanásia - paralisia membros pélvicos	01
	eutanásia - artrite	01
Dezembro	putrefação	03
Total		29

Gráfico 5 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2005- São Paulo - 2007

Gráfico 6 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2006- São Paulo - 2007

Tabela 6 - Causas de óbito na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP no ano de 2006- São Paulo - 2007

MÊS	CAUSA DE MORTE	TOTAL DE ANIMAIS
Janeiro	onfaloflebite	01
Fevereiro	botulismo - suspeita (pesquisa para toxina botulinica - negativa).	01
	hepatite - amiloidose - esteatose	02
	putrefação	01
Março	putrefação	03
Abril	putrefação	01
Mai	putrefação	01
Junho	colapso cardio - respiratório	01
	colapso cardio - respiratório - aerosaculite fúngica	01
	insuficiência hepática - amiloidose	01
	putrefação	01
Julho	colapso cardio - respiratório	01
	insuficiência hepática - amiloidose	01
	putrefação	01
Agosto	putrefação	01
Setembro	congestão pulmonar - amiloidose hepática e renal	01
	ooforite	01
	putrefação	01
Outubro	putrefação	01
Novembro		00
Dezembro		00
Total		22

Tabela 7 - Levantamento histórico das causas de morte na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) no período de 2001 a 2006, mantidos na FPZSP- São Paulo - 2007

CAUSA DE MORTE	TOTAL	%
Putrefação	62	33,7
Ortopédico / Desvio de tendão	37	20,1
Desnutrição	20	10,9
Hepático	17	9,2
Trauma	15	8,2
Respiratório	08	4,3
Septicemia / Reprodutivo	06	3,3
Intoxicação	05	2,7
Septicemia	04	2,2
Hepático / Respiratório	04	2,2
Gastrointestinal	03	1,6
Renal	01	0,5
Neurológico	01	0,5
Colapso cardio-respiratório	01	0,5
TOTAL	184	

Tabela 8 - Levantamento histórico das causas de morte na população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) no período de 2001 a 2006, associado a sexo e idade, mantidos na FPZSP- São Paulo - 2007

CLASSIFICAÇÃO	SEXO				IDADE*			
	femea	macho	Indet.	total	filhote	jovem	adulto	total
Colápsio cardio-respiratório	01	-	-	01	-	-	01	01
Neurológico	01	-	-	01	-	-	01	01
Renal	01	-	-	01	01	-	-	01
Gastrointestinal	-	03	-	03	03	-	-	03
Hepático-respiratório	03	01	-	04	-	-	04	04
Septicemia	01	02	01	04	01	-	03	04
Intoxicação	03	-	02	05	-	-	05	05
Septicemia-reprodutivo	06	-	-	06	-	-	06	06
Respiratório	03	05	-	08	02	01	05	08
Trauma	06	08	01	15	03	05	07	15
Hepático	04	13	-	17	01	-	16	17
Desnutrição	06	10	04	20	13	02	05	20
Ortopédico - desvio de tendão	10	14	13	37	22	15	-	37
Putrefação	10	19	33	62	07	04	51	62
TOTAL	55	75	54	184	53	27	104	184

* filhote: menos de 1 ano de idade, jovem: de 1 a 3 anos de idade; adulto: a partir de 3 anos.

Gráfico 7 - Série temporal para mortalidade de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) no período de 2001 a 2006, na FPZSP - São Paulo - 2007

Gráfico 8 - Análise sazonal de registros de mortalidade em Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) no período de 2001 a 2006, na FPZSP- São Paulo – 2007

4.2 EXAMES LABORATORIAIS REALIZADOS NAS AMOSTRAS COLETADAS

Foram amostrados 239 exemplares de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*), sendo 211 provenientes do Lago Grande e 28 (total de animais ali existentes) do Lago Pequeno. A escolha dos animais no Lago Grande foi casual sistemática. Nenhum animal manejado apresentou sinal clínico de doença no momento da coleta ou nos meses subsequentes. Os resultados obtidos nas análises laboratoriais estão organizados na tabela 9.

Tabela 9 - Resultados microbiológicos obtidos da população de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) alojada na FPZSP- São Paulo – 2007

n. suabe	n. eppendorf	n. pool	RESULTADO					
			DNA		RNA			Isolamento
			<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Chlamydomphila psittaci</i>	Orthomixovírus	Paramixovírus	Coronavírus	<i>Salmonella</i> sp.
			Pasteurelose	Clamidiose	Influenza aviária	Newcastle	Bronquite infecciosa	Salmonelose
01	01	P1	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
02	02							
03	03							
04	04							
05	05							
06	06	P2	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
07	07							
08	08							
09	09							
10	10							
11	11	P3	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
12	12							
13	13							
14	14							
15	15							
16	16	P4	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
17	17							
18	18							
19	19							
20	20							
21	21	P5	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
22	22							
23	23							
24	24							
25	25							
26	26	P6	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
27	27							
28	28							
29	29							
30	30							
31	31	P7	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
32	32							
33	33							
34	34							
35	35							
36	36	P8	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
37	37							
38	38							
39	39							
40	40							
41	41	P9	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
42	42							
43	43							
44	44							
45	45							
46	46	P10	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
47	47							
48	48							
49	49							
50	50							
51	51	P11	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
52	52							
53	53							
54	54							
55	55							
56	56	P12	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
57	57							
58	58							
59	59							
60	60							
61	61	P13	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
62	62							
63	63							
64	64							
65	65							
66	66	P14	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
67	67							
68	68							
69	69							
70	70							

(Continua)

(Continuação)

n. suabe	n. eppendorf	n. pool	RESULTADO					
			DNA		RNA			Isolamento
			<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Chlamydomphila psittaci</i>	Orthomixovírus	Paramixovírus	Coronavírus	<i>Salmonella</i> sp.
			Pasteurelose	Clamidiose	Influenza aviária	Newcastle	Bronquite infecciosa	Salmonelose
71	71	P15	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
72	72							
73	73							
74	74							
75	75							
76	76	P16	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
77	77							
78	78							
79	79							
80	80							
81	81	P17	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
82	82							
83	83							
84	84							
85	85							
86	86	P18	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
87	87							
88	88							
89	89							
90	90							
91	91	P19	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
92	92							
93	93							
94	94							
95	95							
96	96	P20	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
97	97							
98	98							
99	99							
100	100							
101	101	P21	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
102	102							
103	103							
104	104							
105	105							
106	106	P22	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
107	107							
108	108							
109	109							
110	110							
111	111	P23	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
112	112							
113	113							
114	114							
115	115							
116	116	P24	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
117	117							
118	118							
119	119							
120	120							
121	121	P25	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
122	122							
123	123							
124	124							
125	125							
126	126	P26	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
127	127							
128	128							
129	129							
130	130							
131	131	P27	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
132	132							
133	133							
134	134							
135	135							
136	136	P28	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
137	137							
138	138							
139	139							
140	140							

(Continua)

(Continuação)

n. suabe	n. eppendorf	n. pool	RESULTADO					
			DNA		RNA			Isolamento
			<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Chlamydomphila psittaci</i>	Orthomixovírus	Paramixovírus	Coronavírus	<i>Salmonella</i> sp.
			Pasteurelose	Clamidiose	Influenza aviária	Newcastle	Bronquite infecciosa	Salmonelose
141	141	P29	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
142	142							
143	143							
144	144							
145	145							
146	146	P30	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
147	147							
148	148							
149	149							
150	150							
151	151	P31	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
152	152							
153	153							
154	154							
155	155							
156	156	P32	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
157	157							
158	158							
159	159							
160	160							
161	161	P33	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
162	162							
163	163							
164	164							
165	165							
166	166	P34	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
167	167							
168	168							
169	169							
170	170							
171	171	P35	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
172	172							
173	173							
174	174							
175	175							
176	176	P36	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
177	177							
178	178							
179	179							
180	180							
181	181	P37	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
182	182							
183	183							
184	184							
185	185							
186	186	P38	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
187	187							
188	188							
189	189							
190	190							
191	191	P39	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
192	192							
193	193							
194	194							
195	195							
196	196	P40	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
197	197							
198	198							
199	199							
200	200							
201	201	P41	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
202	202							
203	203							
204	204							
205	205							
206	206	P42	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
207	207							
208	208							
209	209							
210	210							

(Continua)

(Continuação)

n. suabe	n. eppendorf	n. pool	RESULTADO					
			DNA		RNA			Isolamento
			<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Chlamydomphila psittaci</i>	Orthomixovírus	Paramixovírus	Coronavírus	<i>Salmonella</i> sp.
			Pasteurelose	Clamidiose	Influenza aviária	Newcastle	Bronquite infecciosa	Salmonelose
211	211	P43	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
212	212							
213	213							
214	214							
215	215							
216	216	P44	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
217	217							
218	218							
219	219							
220	220							
221	221	P45	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
222	222							
223	223							
224	224							
225	225							
226	226	P46	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
227	227							
228	228							
229	229							
230	230							
231	231	P47	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
232	232							
233	233							
234	234							
235	235							
236	236	P48	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca neg traquéia	neg cloaca
237	237							
238	238							
239	239							

Ependörff: nº1 a 211: lago maior; nº 212 a 239: lago menor

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DOS REGISTROS DE CAUSA DE MORTALIDADE

Os resultados da análise temporal mostraram que de 2001 a 2006 os Cisnes Negros da FPZSP morreram em consequência de uma grande variedade de causas, desde quadros nutricionais até metabólicos (Tabela 7).

Karstad e Sileo (1970) em estudo semelhante, pesquisando as causas de mortalidade em aves aquáticas no Kortright Waterfowl Park, em Ontário, Canadá, fizeram um levantamento histórico no período de 1967 a 1970. Analisaram registros de morte de 285 animais, e encontraram também uma variedade grande de doenças. Classificaram as causas de morte em cinco grupos distintos: doenças do sistema cardiovascular (83/285, 29,12%), infecções bacterianas (72/285, 25,26%), infecções fungicas (52/285, 18,24%), infecções parasitárias (24/285, 8,42%) e doenças do sistema genito urinário (18/285, 6,31%).

Entre as 184 necropsias realizadas no período do estudo, praticamente a metade (101, 54,89%) foi realizada em carcaças de animais encontrados mortos. Essa é uma situação freqüente em medicina de animais silvestres, especialmente em recintos coletivos e grandes, onde a observação individual e detecção de algum sinal clínico de doença, muitas vezes são prejudicadas. Em países de clima quente, como o Brasil, esse fato pode comprometer o resultado final da necropsia. A putrefação foi registrada em 62 animais (Tabela 7), ou seja, 61,4% das carcaças necropsiadas estavam apresentavam sinais de putrefação.

A principal causa de mortalidade registrada foi o desvio do tendão extensor tarso-metatarsiano (37, 20,1%, Tabela 7), acometendo apenas filhotes (22/37, 59,5%, Tab.8) e animais jovens (15/37, 40,5%, Tabela 8).

O deslocamento de tendão, também conhecido como perose, é caracterizado por um aumento de volume da articulação tarso-metatarseana, levando a deformidade dos ossos do mediotarso e tarsometatarso, com luxação do chamado tendão de Aquiles. Essa doença tem como sugerida uma etiologia multifatorial, ligada a componentes nutricionais e genéticos. Os filhotes propensos ao problema, quando em fase de crescimento, muitas vezes apresentam dificuldade na deambulação, tendo comprometido seu aceso ao alimento, e conseqüentemente uma debilidade sistêmica progressiva torna-se fator complicante a sua capacidade de sobrevivência (OLSEN, 1994).

Embora o tratamento cirúrgico tenha indicação, o sucesso na conduta terapêutica destes filhotes na FPZSP, não é significativo e geralmente os indivíduos vem a óbito ou são eutanasiados.

A segunda maior causa de óbito foi a desnutrição (20, 10,9%, Tabela 7), acometendo principalmente filhotes (13/20, 65%, Tabela 8). Na FPZSP, o óbito por desnutrição tem sido observado em filhotes com poucos dias de vida, e que receberam poucos cuidados maternos.

Nos registros analisados, as mortes decorrentes de problemas exclusivamente hepáticos, apareceram em terceiro lugar (17, 9,2%, Tabela 7), curiosamente com frequência maior em machos (13/17, 76,5%, Tabela 8) adultos (16/17, 94%, Tab. 8), sugerindo um processo crônico. Entre os registros, há também a descrição do quadro hepático associado ao quadro respiratório, presente em fêmeas (3/17, 75%) e machos (1/4, 25%), ambos adultos.

Causas hepáticas relacionadas a perdas em anatídeos são descritas em diferentes estudos, e a amiloidose neste grupo de animais tem sido citada com relativa frequência em levantamentos sobre causas de morte (BRASSARD, 1965; KARSTAD et al., 1971; MEYERHOLZ et al., 2005).

Freqüentemente associada a anseriformes domésticos e cativos, raramente a animais de vida livre, a doença é caracterizada por um infiltrado eosinofílico amorfo, fibrinoso, que pode acometer órgãos como fígado, rins e baço. É um processo considerado degenerativo, com etiologia complexa e pouco entendida, porém com descrição comumente associada a doenças primárias crônicas como pododermatites, tuberculose e aspergilose (LUMEIJ, 1994; MEYERHOLZ et al., 2005). Meyerholz et al. (2005) e Speckmann et al. (1974) descreveram a doença em Cisne trombeteiro (*Cygnus buccinator*) e Cisne Branco (*Cygnus olor*) respectivamente.

No estudo de Karstad e Sileo (1970) no Kortright Waterfowl Park, a doença foi diagnosticada em 58 (20,35%) das 285 aves necropsiadas. Na FPZSP, a amiloidose foi descrita como causa de 15 óbitos (15/184, 8,15%) no período estudado.

Os traumas apareceram em quarto lugar (15, 8,2%, Tabela 7), sendo que todos os registros diziam respeito a fraturas, principalmente de membros pélvicos e asas, e também em vértebra cervical. Na literatura, a grande maioria dos estudos descreve doenças infecciosas ou metabólicas como causa de morte, poucos citam os traumas como causa importante de mortalidade entre as aves aquáticas. Meyerholz et al. (2005), verificou apenas uma morte por trauma entre 31 necropsias realizadas em Cisnes Trombeteiros na Universidade de Yowa, EUA.

Em quinto lugar apareceram os problemas respiratórios (8, 4,3%, Tabela 7), com citação para aspergilose em um registro (1/8, 12,5%).

A aspergilose é uma doença de importante impacto na criação de aves, pode apresentar-se de forma crônica e insidiosa, ou ainda causar o óbito agudo. O *Aspergillus fumigatus* é o agente etiológico mais comum, seguido pelo *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* (BAUCK, 1994).

Karstad e Sileo (1970) verificaram 52 registros de aspergilose em seu estudo (52/285, 18,24%), entre as infecções fungicas como causa de morte. A doença é relatada também por Meyerholz et al. (2005), em seu estudo sobre as causas de morte em Cisnes Trombeteiros (*Cygnus buccinator*) (4/31, 12,90%).

O pequeno número de registros relacionados a quadros respiratórios permite supor que esta condição teve pouca importância como causa de mortalidade para a população de cisnes negros na FPZSP. Neste contexto, apesar de existirem entre os sinais respiratórios, citações referentes a aerosaculites, embora sem etiologia definida, a aspergilose também pareceu ser pouco significativa entre este grupo de animais.

As septicemias apareceram em sexto lugar (6, 3,3%, Tabela 7). A totalidade é advinda de quadros de retenção de ovo ou dificuldade de postura, portanto com origem em problema classificado como reprodutivo. Os problemas reprodutivos ocorrem com relativa frequência em aves, e em muitos casos podem apresentar etiologias multifatoriais, associados em algumas situações com predisposições individuais ou mesmo fatores ambientais, que podem tornar-se complicantes ao diagnóstico. Condições como retenção de ovos, distocias, salpingites, ovulação ectópica, rupturas de oviduto e peritonites são alguns dos quadros descritos como desordens reprodutivas. Agentes bacterianos como *Salmonella* sp., *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma gallisepticum* ou *E. coli*, são citados em desordens reprodutivas, especialmente relacionados as salpingites e peritonites (JOYNER, 1994).

Em sétimo lugar figuraram as intoxicações (5, 2,7%, Tabela 7), acometendo apenas animais adultos (Tab. 8). O baixo número de casos sugere que as intoxicações têm sido esporádicas, a menos que tenha havido erro de classificação com os processos hepáticos. Se os casos forem realmente baixos, o processo de eutrofização dos lagos da FPZSP tem pouca participação no fenômeno, pois se esperaria um número maior de óbitos por intoxicação, visto que todos os animais estariam expostos ao risco.

As demais causas de óbito podem ser classificadas de esporádicas. Chama a atenção o baixo número de casos de óbitos por causas gastrintestinais (3, 1,6%, Tabela 7). Karstad e Sileo (1970) verificaram em seu levantamento infecções parasitárias (24/285, 8,42%), e

bacterianas (72/285, 25,26%), que eventualmente poderiam ser relacionadas ao quadro gastroentérico.

O gráfico 7 mostra que a mortalidade de Cisnes Negros na FPZSP está decrescendo com o passar dos anos. Embora não tenha havido nenhuma grande mudança no ambiente desses animais, no decorrer do período analisado foram introduzidas melhorias constantes de práticas de manejo e também sanitárias.

Em complemento a estas medidas, houve ainda a conclusão de uma grande obra de infra-estrutura, para o tratamento das águas dos lagos a partir de meados de 2007. Embora as águas dos lagos não sejam responsáveis diretamente pela mortalidade da população de cisnes, a eutrofização destas águas pode predispor os animais às doenças ou mesmo facilitar a difusão delas. Essa teoria é corroborada pelos dados do Gráfico 8, que mostra um número de óbitos superior à média entre os meses de novembro a maio, período mais quente do ano e de maior movimento migratório com conseqüente acentuação do processo de eutrofização.

5.2 ANÁLISE DOS RESULTADOS DA PESQUISA DE AGENTES ETIOLÓGICOS

5.2.1 *Pasteurela*

Embora a *pasteurela* possa produzir nos anatídeos quadros clínicos caracterizados por comprometimento respiratório, que pode evoluir para septicemia, esses animais também podem comportar-se como hospedeiros sadios do agente, eliminando-o para o ambiente sem jamais apresentar sinais clínicos de doença (KORSCHEN et al., 1978; SNIPES, 1988; BOTZELER, 1991; PETTERSEM, 1991; SAMUEL et al., 1997; KWON et al., 2003; SAMUEL et al., 2005).

No presente estudo, não houve detecção da presença de *pasteurela* em nenhum dos 239 animais examinados. Foram examinados dois suabes de cada animal, um de traquéia e outro de cloaca. Nenhum animal manejado no momento da coleta apresentou sintomas compatíveis com *pasteurelose*. Assim, se o agente estivesse presente na população examinada, infectaria apenas animais assintomáticos sua prevalência aparente seria de no máximo 1,72% no Lago Grande. No Lago Pequeno, sua prevalência real seria determinada pela proporção de falsos negativos à PCR utilizada.

Karstad e Sileo (1970), descreveram a pasteurelose como causa de morte em aves aquáticas em cativeiro. Wobeser et al. (1974) relatou a *Pasteurella anatipestifer*, em Cisnes negros (*Cygnus atratus*) e Cisne pequeno (*Olor colombianus*) e Pedersen (2003), cita a *Pasteurella multocida* acometendo Cisnes brancos (*Cygnus olor*) em surtos com mortalidade.

Espécies como o Ganso das neves (*Chen caerulescens caerulescens*), Ganso de Ross (*Chen rossii*), Ganso canadense (*Branta canadensis*), Pato comum (*Anas platyrhynchos*), Marreca arrebio (*Anas acuta*), são descritas com frequência em diferentes estudos, sugerindo uma maior sensibilidade a *Pasteurella* (WOBESER et al., 1979; KWON et al., 2003, PEDERSEN, 2003; SONGSERM et al., 2003; BLANCHONG et al., 2005; SAMUEL et al., 2005).

Donahue e Olson (1969), na Universidade do Missouri, em seu estudo porém, realizado em 400 aves aquáticas, a partir de suabes de nasofaringe, cultivados para presença de *Pasteurella multocida*, entre patos (*Anas platyrhynchos*) e gansos canadenses (*Branta canadensis*) de vida livre e 37 pombos (*Columba livia*), não obtiveram nenhum isolamento positivo. Para os gansos canadenses (50 indivíduos) a *Pasteurella anatipestifer*, também foi pesquisada, e somente 4 animais foram positivos.

A ausência de sinais clínicos e óbitos significativos nos grupos estudados neste trabalho, passa a ser um dado concordante com a baixa prevalência do agente (inferior a 1,72%). Esta condição sugere que o ambiente de manutenção dos Cisnes negros na FPZSP tem sido favorável aos animais.

5.2.2 Salmonelose

Para se conhecer a importância da infecção por salmonelas em populações de aves migratórias é importante levar em consideração a biologia do agente e das aves hospedeiras (HERNANDEZ et al., 2003).

No presente estudo, nenhuma *Salmonella* spp foi isolada dos 239 suabes cloacais examinados. No momento da coleta, os animais examinados estavam hígidos, sem nenhum sinal de doença. Nenhum sinal clínico de infecção que pudesse sugerir a presença salmonelas, como prostração, incoordenação, diarreia ou emagrecimento foi observado. Verdugo et al. (2006) relata que anatídeos podem ser hospedeiros saudáveis desse agente. Em seus estudos em populações de vida livre de Cisnes de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*), no Chile,

verificou uma baixa prevalência de animais infectados por salmonelas (0%), entre 17 indivíduos analisados para este agente.

Os resultados do estudo na FPZSP demonstraram que se houvessem animais infectados nas duas populações estudadas, seriam assintomáticos. Além disso, o planejamento amostral adotado permitiu afirmar que se existissem animais infectados assintomáticos no lago grande (211 animais amostrados), sua prevalência aparente seria de no máximo 1,72% (IC=95%) no Lago Grande. No Lago Pequeno, como foram amostrados todos os animais existentes, sua prevalência real seria determinada pela proporção de falsos negativos ao método de isolamento utilizado.

Concluindo, se houvessem Cisnes Negros infectados por salmonelas na FPZSP, a prevalência seria muito baixa (inferior a 1,72%). Supondo que a doença existisse em baixos níveis, o fato de não haver nenhum animal sintomático significou que as condições de manutenção desses animais não eram tão ruins quanto se imaginava.

5.2.3 Clamidiose

Entre as aves, a *C. psittaci* é responsável pela infecção em cerca de trinta ordens, incluindo espécies de anatídeos silvestres (KALETA et al., 2003). A doença apresenta um caráter intermitente de eliminação do agente e a presença de aves assintomáticas à infecção é uma característica importante. Aves sadias podem apresentar este agente de forma assintomática e eliminá-lo através das fezes (GERLACH, 1994). Os sinais clínicos podem ser inespecíficos, como acentuada prostração, penas arrepiadas e os quadros respiratórios e entéricos crônicos (BRAND, 1989; SIMPSON, 2002; HUBÁLEK, 2004).

Diferentes espécies de aves silvestres de vida livre, entre elas pombos (*Columba livia*) e psitacídeos, são consideradas reservatórios naturais da *C. psittaci* (FUDGE, 1996; WOLDEHIWET, 2001; EMINA et al., 2006). Alguns estudos evidenciam a presença do agente em Charadriiformes, Passeriformes, Anseriformes (FARMER et al., 1982; BRAND, 1989; SIMPSON, 2002; HUBÁLEK, 2004) e aves de rapina (SCHETTLER et al., 2003). Page (1976); Grimes et al. (1979) e Peterson et al. (2002) evidenciaram ainda a presença do agente em perus selvagens (*Melleagris gallopavo*).

No presente estudo, nenhum animal avaliado apresentou sinais clínicos sugestivos de clamidiose e os resultados laboratoriais, a partir dos suabes de traquéia e cloaca examinados de cada um dos 239 animais estudados, foram todos negativos para pesquisa de *C. psittaci*.

Caso o agente estivesse presente na população examinada, infectaria apenas animais assintomáticos sua prevalência aparente seria de no máximo 1,72% no Lago Grande. No Lago Pequeno, sua prevalência real seria determinada pela proporção de falsos negativos à PCR utilizada.

5.2.4 Influenza aviária

Entre as aves silvestres, os anatídeos são importantes reservatórios do vírus da influenza aviária. Diferentes espécies entre gansos, patos e cisnes são descritos em grandes episódios da doença e também identificados como portadores sadios da doença e disseminadores do vírus (ALFONSO et al., 1995; ALEXANDER, 2000; CHEN et al., 2005; BROWN et al., 2006, FEARE et al., 2006).

Sinais respiratórios, digestivos e nervosos são os sinais clínicos dessa doença, e geralmente as aves demonstram prostração, anorexia, dispnéia, sinusite e diarreia (ALEXANDER, 2001).

Entre os 239 anseriformes estudados, nenhum sinal clínico sugestivo da doença foi verificado no momento da colheita de material biológico. Todas as amostras examinadas pela PCR para detecção do vírus resultaram negativas. Caso houvesse animais infectados com o H5N1, seriam assintomáticos. O planejamento amostral adotado permitiu afirmar que se existissem animais infectados assintomáticos no lago grande (211 animais amostrados), sua prevalência aparente seria de no máximo 1,72% no Lago Grande. No Lago Pequeno, sua prevalência real seria determinada pela proporção de falsos negativos à PCR utilizada.

Em agosto de 2006, a detecção do vírus H5N1 em um exemplar de Cisne Negro no zoológico de Desdren, Alemanha, desencadeou na instituição um rigoroso protocolo sanitário para a área envolvida e reforçou a importância dos sistemas de vigilância para esta doença em ambiente de zôo (DEFRA, 2007). A hipótese mais provável para a introdução do vírus H5N1 nesse zôo foi através de aves migratórias.

A não detecção do vírus H5N1 nos 239 Cisnes Negros amostrados no presente estudo reveste-se de importância estratégica, pois esses animais encontram-se em ambiente vulnerável à constante visitação de aves aquáticas migratórias e as aves aquáticas têm sido fortemente associadas ao espalhamento da Influenza Aviária.

5.2.5 Doença de Newcastle

Aves aquáticas migratórias têm participação importante na dispersão de alguns vírus como o paramixovírus aviário tipo I, causador da doença de Newcastle (HESSE et al., 2004; HLINAK et al., 2006).

Verdugo et al. (2006), estudaram as causas de mortalidade em Cisnes de Pescoço Preto (*Cygnus melanocoryphus*) de vida livre no Chile no período de 2003 a 2005 e verificaram que a doença de Newcastle foi responsável por 27% (33/123) das mortes. Esses autores consideram que esses animais comportam-se como portadores sadios do agente.

Assim, é razoável supor que os Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) examinados no presente estudo possam também desenvolver a condição de portadores sadios do paramixovírus aviário tipo I. No momento da colheita de material, nenhum dos 239 animais amostrados apresentou sinais clínicos de doença. Dessa forma existem duas possibilidades de interpretação para os resultados obtidos, quais sejam, todos os animais examinados foram negativos à PCR. A primeira é que o vírus não está presente no ambiente do zôo e a segunda, decorrente da possibilidade de existir sadios assintomáticos, é que no lago grande (211 animais amostrados), sua prevalência aparente seria de no máximo 1,72% no Lago Grande. No Lago Pequeno, sua prevalência real seria determinada pela proporção de falsos negativos à PCR utilizada.

5.2.6 Bronquite infecciosa

Entre os anatídeos silvestres poucos são os relatos associados à doença, porém espécies como o Ganso comum (*Anser anser*), o Pato comum (*Anas platyrhynchos*) e o Cisne Negro (*Cygnus atratus*) apresentaram positividade em diferentes estudos epidemiológicos, porém sem exibir sintomatologia clínica (COOK, 2001; JONASSEN et al., 2005; LIU et al., 2005; CAVANAGH et al., 2007).

Quadros respiratórios ou gastroentéricos em aves podem ser sugestivos de bronquite infecciosa (CAVANAGH et al., 2005).

Nenhum dos 239 animais examinados no presente estudo apresentou sintomas compatíveis com bronquite infecciosa.

Isso demonstra que se houvessem animais infectados nas duas populações estudadas, seriam assintomáticos. Além disso, o planejamento amostral adotado permitiu afirmar que se existissem animais infectados assintomáticos sua prevalência aparente seria de no máximo 1,72% no Lago Grande. No Lago Pequeno, sua prevalência real seria determinada pela proporção de falsos negativos à PCR utilizada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura demonstra que os Cisnes Negros desenvolvem a condição de hospedeiros sadios para todas as doenças aqui estudadas. Como nenhum dos indivíduos examinados exibiu resultado positivo para os agentes pesquisados e todos eles eram indivíduos hígidos, sem nenhum sinal de doença, se os agentes pesquisados estivessem presentes, infectariam apenas animais assintomáticos.

Assim, caso o agente estivesse presente na população examinada, infectaria apenas animais assintomáticos e sua prevalência aparente seria de no máximo 1,72%. No Lago Pequeno, sua prevalência real seria determinada pela proporção de falsos negativos aos testes de diagnóstico utilizados.

Todavia, examinando-se os dados retrospectivos verifica-se que são muito baixos os registros de morte por causas infecciosas e não há nenhum registro de doença ocorrendo de forma epidêmica, acometendo um grande número de animais em curto espaço de tempo. Além disso, as causas de mortalidade registradas são muito parecidas quando se comparam os anos entre si. Então, é bastante razoável concluir que as doenças pesquisadas não existem nas populações de Cisnes Negros dos dois lagos da FPZSP.

Vale lembrar que a grande maioria dos estudos sobre o tema diz respeito à descrição de surtos de doenças em populações de aves aquáticas migratórias de vida livre, onde a migração expõe os indivíduos a uma grande diversidade de fatores ambientais e, por consequência, a uma também grande diversidade de agentes de doenças (FIGUEROLA et al., 2000; GREEN, 1996).

Densas concentrações de aves aquáticas em zoológicos produzem importantes desequilíbrios ambientais, favorecendo a dispersão de enfermidades (POST et al., 1998; ALBULREESH et al., 2004; FALLACARA et al., 2004). Assim, nesses ambientes, sobretudo naqueles que recebem aves migratórias, tornam-se importantes ações de vigilância para detecção precoce da introdução de patógenos (REED et al., 2003).

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Em relação às populações de Cisnes Negros (*Cygnus atratus*) da FPZSP foi possível concluir que:

A taxa de mortalidade no período de 2001 a 2006 apresentou uma tendência decrescente, mostrando que nesse período houve evolução em relação ao manejo sanitário.

A taxa de mortalidade no período de 2001 a 2006 apresentou tendência sazonal, sendo maior entre os meses de novembro a maio, período mais quente do ano e de maior movimento migratório com conseqüente acentuação do processo de eutrofização.

A análise quantitativa das causas de óbito foi seriamente prejudicada pelo fato de 1/3 das carcaças terem sido encontradas em estado de putrefação.

A qualidade da informação a respeito das causas de óbito desses animais deve ser melhorada.

No momento das coletas, não houve nenhuma evidência clínica ou laboratorial da presença dos seguintes agentes: *Pasteurella multocida*., *Salmonella* sp., *Chlamydophila psittaci*, Orthomixovírus (Influenza Aviária), Paramixovírus (Doença de Newcastle) e Coronavírus (Bronquite Infecciosa).

O manejo já realizado de forma rotineira, que tem por finalidade a avaliação clínica e controle censitário, permite a incorporação de ações de vigilância sem prejuízo algum para a coleção.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABULREESH, H. H.; PAGET, T. A.; GOULDER, R. Waterfowl and bacterial quality of amenity ponds. **Journal of Water and Health**, v. 2, p. 183-189, 2004.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Influenza. In: _____. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3. ed. Washington, D.C: Pan American Health Organization, 2003. v. 2, p. 155-172.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Chlamidiose. In: _____. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3. ed. Pan American Health Organization, v. 2, 2003. p. 45-51.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Pasteurellosis. In: _____. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3ed. Washington, D.C: Pan American Health Organization, 2003. v.1, p. 199-206.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Salmonellosis. In: _____. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3. ed. Washington, D.C: Pan American Health Organization, 2003. v.1, p. 233-246.

ALEXANDER, D. J. An overview of the epidemiology of avian influenza. **Vaccine**, 2006.

ALEXANDER, D. J. A review of avian influenza in different bird species. **Veterinary Microbiology**, v. 74, p. 3-13, 2000.

ALEXANDER, D. J. Orthomyxoviridae – Avian influenza. In: JORDAN, F.; PATTISON, M.; ALEXANDER, D.; FARAGHER, T. **Poultry diseases**. 5. ed. Hardcover: W.B. Saunders, 2001. p. 281-290.

ALEXANDER, D. J.; JONES, R. C. Paramyxoviridae. In: JORDAN, F.; PATTISON, M.; ALEXANDER, D.; FARAGHER, T. **Poultry diseases**. 5. ed. Hardcover: W.B. Saunders, 2001. p. 257- 279.

ALFONSO, C. P.; COWEN, B. S.; CAMPEN, H. V. Influenza a viruses isolated from waterfowl in two wildlife management areas of Pennsylvania. **Journal of Wildlife Disease**, v. 31, n. 2, p. 179-185, 1995.

ASTERINO, R. Diseases and care of wild passerines. In: ROSSKOPF, W.; WOERPEL, R. **Diseases of cage and aviary birds**. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1996. p. 965-980.

BACKSTRAND, J. M.; BOTZLER, R. G. Survival of *Pasteurella multocida* in soil and water in an area where avian cholera is enzootic. **Journal of Wildlife Disease**, v. 22, p. 257-259, 1986.

- BAUCK, L. Mycoses. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. 2. ed. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 997-1006.
- BECKER, W. B. The isolation and classification of tern virus A/Tern/South Africa/1961. **Journal Hygiene**, v. 64, p. 309-320, 1966.
- BLANCHONG, J. A.; SAMUEL, M. D.; MACK, G. Multi-species patters of avian cholera mortality in Nebraska's rainwater basin. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 42, n. 1, p. 81-91, 2006.
- BLANCHONG, J. A.; SAMUEL, M. D.; GOLDBERG, D. R.; SHADDUCK, D. J.; LEHR, M. A. Persistence of *Pasteurella multocida* in wetlands following avian cholera outbreaks. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 42, n. 1, p. 33-39, 2006.
- BLANCHONG, J. A.; SAMUEL, M. D.; GOLDBERG, D. R.; SHADDUCK, D. J.; CREEKMORE, L. H. Wetland environmental conditions associated whit the risk of avian cholera outbreak and the abundance of *Pasteurella multocida*. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 70, n. 1, p. 54-60, 2006.
- BOTZLER, R. G. Epizootiology of avian cholera in wildfowl. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 27, p. 367-395, 1991.
- BOLTZ, D. A.; NAKAI, M.; BAHRA, J. M. Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduce fertility in the rooster. **Avian Disease**, v. 48, p. 909-915, 2004.
- BRAND, C. J. Chlamydia infections in free-living birds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 195, p. 1531-1535, 1989.
- BRASSARD, A. Amyloidosis in captive anseriformes. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 29, p. 253-258, 1965.
- BREDY, J.; BOTZLER, R. G. The effects of six environment variables on the survival of *Pasteurella multocida* in water. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 25, p. 232-239, 1991.
- BROWN, J. D.; STALLNECHT, D. E.; BECK, J. R.; SUAREZ, S. D. Susceptibility of north American ducks and gulls to H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses. **Emerging Infectious Disease**, v. 12, n. 11, p. 1663-1670, 2006.
- BROWN, J. D. Persistence of H5 and H7 Avian Influenza viruses. In: WATER ANNUAL MEETING OF THE WILDLIFE DISEASE ASSOCIATION, v. 55, p. 154, 2006.
- CAVANAGH, D. Coronavirus in poultry and other birds. **Avian Pathology**, v. 34, n. 6, p. 439-448, 2005.
- CAVANAGH, D. Coronavírus avian infectious bronchitis virus. Review article. **Veterinary Research**, v. 38, p. 281-297, 2007.
- CHEN, H.; DENG, G.; LI, Z.; TIAN, G.; LI, Y.; JIAO, P.; ZHANG, L.; LIU, Z.; WEBSTER, R. G.; YU, K. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in Southern China.

Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, v. 101, p. 10452-10457, 2004.

CHRISTENSEN, J. P.; DIETZ, H. H.; BISGARD, M. Phenotypic and genotypic characteristic of isolated of *Pasteurella multocida* obtained from back-yard poultry and from two outbreaks of cholera in avifauna in Denmark. **Avian Pathology**, n. 27, p. 373-381, 1998.

CHRISTENSEN, J. P.; BRENGBALLE, T.; ANDERSON, T. H.; DIETZ, H. H. Outbreak of pasteurellosis among wintering and breeding common eiders *Somateria mollissima* in Denmark. **Wildlife Biology**, v. 3, p. 125-128, 1997.

COOK, J. Coronaviridae In: JORDAN, F.; PATTISON, M.; ALEXANDER, D.; FARAGHER, T. **Poultry diseases**. 5. ed. Hardcover: W.B. Saunders, 2001. p. 298-306.

DEFRA. **Highly pathogenic avian influenza (HPAI H5N1) in Dresden Zoo in Germany**. London: Department for environmental, food and rural affairs, International Animal Health Division, v. 1, p. 1-26, 2006. Disponível em: <<http://defra.gov.uk/animalh/diseases/monitoring/pdf/h5n1-dresden-swan-germany-060806.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2007.

DEL HOYO, J.; ELLIOTT, A.; SARGATAL, S. Order Anseriformes, In: _____. **Handbook of birds of the world**. Barcelona: Lynx Editions 1992. , v. 1, p. 536-628.

DE MARCO, M. A.; FONI, G. E.; CAMPITELLI, L.; RAFFINI, E.; DI TRANI, L.; DELOGU, M.; GUBERTI, V.; BARIGAZZI, G.; DONATELLI, I. Circulation of influenza viruses in wild waterfowl wintering in Italy during the 1993-1999. Period: evidence of virus shedding and seroconversion in wild duck. **Avian Disease**, v. 47, n. 3, p. 861-866, 2003.

DHINAKER, R. G.; JONES, R. C. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken. **Avian Pathology**, v. 26, p. 677-706, 1997.

DONAHUE, J. M.; OLSON, L. D. Survey of wildlife ducks and geese for *Pasteurella* spp. **Bulletin of Wildlife Disease Association. Proceeding Annual Conference**, v. 5, p. 201-205, 1969.

EMINA, R.; AIDA, K.; GAGIC, A.; AINDA, K.; GOLETIC, T.; KSENIJA, V.; SATROVIC, E.; ALENKA, D. The prevalence of avian chlamydiosis (*Chlamydophila psittaci*) in Bosnia and Herzegovina. **Acta Veterinaria**, v. 56, n. 5-6, p. 507-514, 2006.

EARN, D. J. D.; DUSHOFF, J.; LEVIN, S. A. Ecology and evolution of the flu. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 17, n. 7, p. 334-340, 2002.

FALLACARA, D. M.; CLIFFON, M. M.; MORISHITA, T. Y.; BREMER, C. A.; WACK, R. F. Survey of parasites and bacterial pathogens from free-living waterfowl in zoological settings. **Avian Diseases**, v. 48, p. 759-767, 2004.

FARMER, H.; CHALMERS, W. S.; WOOLLOCK, P. R. *Chlamydia psittaci* isolated from the eyes of domestic ducks (*Anas platyrhynchos*) with conjunctivitis and rhinitis. **Veterinary Records**, v. 110, n. 3, p. 59, 1982.

- FEARE, C. J.; YASUÉ, M. Asymptomatic infection with highly pathogenic avian influenza H5N1 in wild birds: how sound is the evidence? **Virology Journal**, v. 3, p. 96, 2006.
- FERGUS, R.; FRY, M.; KARESH, W. B.; MARRA, P. P.; NEWMAN, S.; PAUL, E. Migratory birds and avian flu. **Science**, v. 312, p. 845, 2006.
- FLAMMER, K. Chlamydiosis. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and wildlife animal medicine**. 5. ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 2003. p. 718-723.
- FRANSON, J. C.; PEARSON, J. E. Probable epizootic Chlamydiosis in wild California (*Larus californicus*) and Ring-billed (*Larus delawarensis*) gulls in North Dakota. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 31, n. 3, p. 424-427, 1995.
- FRIEND, M.; FRANSON, J. C. **Field manual of wildlife disease: general field procedures and diseases of birds – Biological resources division**. Washington D.C., 1999.
- FRIEND, M. **disease emerging and resurgence: the wildlife-human connection**. Reston, Virginia: U.S. Geological Survey, Circular 1285, 2005. 400 p.
- FUDGE, A. M. Avian chlamydiosis. In: ROSSKOPF, W.; WOERPEL, R. **Diseases of cage and aviary birds**. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1996. p. 572-585.
- GARCIA-GARCÍA, J.; RAMOS, C. La influenza, um problema vigente de salud publica. **Salud Publica de México**, v. 48, n. 3, p. 244-267, 2006.
- GILBERT, M.; XIAO, X.; DOMENECH, J.; LUBROTH, J.; MARTIN, V.; SLINGENBERG, J. Anatidae migration in the Western Palearctic and spread of high pathogenic avian influenza H5N1 virus. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 11, p. 1650-1656, 2006.
- GILL, J. S.; WEBBY, R.; GILCHRIST, M. J. R.; GRAY, G. C. Avian influenza among waterfowl hunters and wildlife professionals. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 8, p. 1284-1286, 2006.
- GOUGH, R. E.; DRURY, S. E.; CULVER, F.; BRITTON, P.; CAVANAGH, D. Isolation of a coronavirus from a green-cheeked amazon parrot (*Amazona viridigenalis cassin*). **Avian Pathology**, v. 35, p. 122-126, 2006.
- GOODERHAM, K. O. Avian pasteurellosis and pasteurella-like organisms. In: JORDAN, F.; PATTISON, M.; ALEXANDER, D.; FARAGHER, T. **Poultry diseases**. 5. ed. Hardcover: W.B. Saunders, 2001. p. 131-137.
- GERLACH, H. Bacteria. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. 2. ed. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 949-983.
- GERLACH, H. Viruses. In : RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. 2.ed. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 863 - 948.

- GREEN, A. J.; FIGUEROLA, J.; SÁNCHEZ, M. I. Implications of water bird ecology for the dispersal of aquatic organisms. **International Journal of Ecology - Acta Oecologica**, v. 23, p. 177-189, 2002.
- GRIMES, J. E.; OWENS, K. L.; SINGER, J. R. Experimental transmission of *Chlamydia psittaci* of turkeys from wild birds. **Avian Diseases**, v. 24, p. 915-926, 1979.
- HAFIZ, Y. Consequence of Avian Influenza for poultry and migratory birds in India and possible remedial measures. In: ANNUAL MEETING OF THE WILDLIFE DISEASE ASSOCIATION, p. 55. Colorado: EUA, 2007.
- HANSEN, W. R.; NASHOLD, S. W.; DOCHERTY, D. E.; BROWN, S. E.; KNUDSN, D. L. Diagnosis of duck plague in waterfowl by polymerase chain reaction. **Avian Disease**, v. 44, n. 2, p. 266-274, 2000.
- HECKERT, R. A. Newcastle disease in cormorants. **Canadian Veterinary Journal**, v. 34, p. 184, 1993.
- HEWINSON, R. G.; GRIFFITHIS, P. C.; BEVAN, B. J.; KIRWAN, S. E. S.; FIELD, M. E.; WOODWARD, M. J.; DAWSON, M. Detection of *Chlamydia psittaci* DNA in avian clinical samples by polymerase chain reaction. **Veterinary Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 155-166, 1997.
- HOWERTH, E. W. Salmonellosis in a wild turkey. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 21, n. 4, p. 433-434, 1985.
- JONASSEN, C. M.; KOFSTAD, T.; LARSEN, I-L.; LOVLAND, A.; HANDELAND, K.; OLLESTAD, A.; LILLEHAUG, A. Molecular identification and characterization of novel coronavirus infecting greyland geese (*Anser anser*), feral pigeon (*Columba livia*) and mallards (*Anas platyrhynchos*). **Journal of General Virology**, v. 86, p. 1597-1607, 2005.
- JOYNER, K. L. Theriogenology. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. 2. ed. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 748-804.
- HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.
- KALETA, E. F.; MARSHALL, H. J. Newcastle disease in a zoo affecting demoiselle cranes (*Antropoides virgo*), greater flamingos (*Phoenicopterus ruber*) and a pied imperial pigeon (*Ducula bicolor*). **Avian Pathology**, v. 10, p. 395-401, 1981.
- KALETA, E. F.; TADAY, E. M. A. Avian host range of Chlamydophila spp. Based on isolation, antigen detection and serology. **Avian Pathology**, v. 32, p. 435-462, 2003.
- KAPPERUD, G.; ROSEF, O. Avian wildlife reservoir of *Campylobacter fetus* subsp. Jejuni, *Yersinia* spp., and *Salmonella* spp. In Norway. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 375-380, 1983.

- KARDOS, G.; NAGY, J.; ANTAL, A.; BISTYÁK, M.; TENK, M.; KISS, I. Development of a novel PCR assay specific for *Riemerella anatipestifer*. **Letters in Applied and Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 145-148, 2007.
- KARSTAD, L.; LUSIS, P.; LONG, J. R. *Pasteurella anatipestifer* as a cause of mortality in captive wild waterfowl. **Journal Wildlife Disease**, v. 6, n. 4, p. 408-413, 1970.
- KARSTAD, L.; SILEO, L. Causes of death in captive wild waterfowl in the Kortright Waterfowl Park, 1967-1970. **Journal of Wildlife Disease**, v. 7, p. 236-241, 1971.
- KAWAOKA, Y.; CHAMBERS, T. M.; SLADEN, W. L.; WEBSTER, R. G. Is the gene pool of influenza virus in shorebirds and gulls different from that in wild ducks? **Virology**, v. 163, p. 247-250, 1988.
- KEAWCHAROEN, J.; ORAVEERAKUL, K.; KUIKEN, T.; FOUCHIER, R. A.; AMOSIN, A.; PAYUNGORN, S.; NOPPORNANTH, S.; WATTANODORN, S.; THEAMBOONIERS, A.; TANTILERTCHAROEN, R.; PATTANARANGSAN, R.; ARYA, N.; RATANAKORN, P.; OSTERHAUS, D. M.; POOVORAWAY, Y. Avian Influenza H5N1 in tigers and leopards. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, p. 2189-2191, 2004.
- KETZ-RILEY, C. J. Salmonellosis and Shigellosis. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and wildlife animal medicine**. 5. ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 2003. p. 686-689.
- KILBOURNE, E. D. Influenza pandemic of the 20th century. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 9-14, 2006.
- KOCABIYIK, A. L.; CANGUL, I. T.; ALASONYALILAR, A.; DEDICOVA, D.; KARSPISKOVA, R. Isolation of *Salmonella enteritidis* phage type 21b from a Eurasian Eagle-Owl (*Bubo bubo*). **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 42, n. 3, p. 696-698, 2006.
- KWON, Y. K.; KANG, M. I. Outbreaks of fowl cholera in Baikal teal in Korea. **Avian Diseases**, v. 47, p. 1491-1495, 2003.
- LaBONDE, J. Medicine and Surgery of Anseriformes. In: ROSSKOPF, W.; WOERPEL, R. **Diseases of cage and aviary birds**. 3.ed. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1996. p. 956-964.
- LEHR, M. A.; BOTZLER, R. C.; SAMUEL, M. D.; SHADDUCK, D. J. Associations between water quality, *Pasteurella multocida*, and avian cholera mortality at the Sacramento National Wildlife Refuge. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 41, n. 1, p. 291-297, 2005.
- LIU, S.; KONG, X. A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and non-vaccinated flocks in China. **Avian Pathology**, v. 33, p. 321-327, 2004.
- LIU, S.; CHEN, J.; KONG, X.; SHAO, Y.; HAN, Z.; FENG, L.; CAI, X.; GU, S.; LIU, M. Isolation of avian infectious bronchitis coronavirus from domestic peafowl (*Pavo cristatus*) e teal (Ana sp.). **Journal of General Virology**, v. 86, p. 719-725, 2005.

- LILLEHAUNG, A.; JONASSEN, C. M.; BERGSJO, B.; HOFSHAGEN, M.; THARALDSEN, J.; NESSE, L. L.; HANDELAND, K. Screening of feral pigeon (*Colomba livia*), mallard (*Anas platyrhynchos*) and graylag goose (*Anser anser*) populations for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., Avian Influenza Virus and Avian Paramyxovirus. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, n. 4, p. 193-202, 2005.
- LOCKE, L. N.; SHILLINGER, R. B.; JAREED, T. Samonellosis in passerine birds in Maryland and West Virginia. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 9, n. 1, p. 144-145, 1973.
- LUECHTELFELD, N. A. W.; BLASER, M. J.; RELLER, L. B.; WANG, W. L. Isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *Jejuni* from migratory waterfowl. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 12, n. 3, p. 406-408, 1980.
- LUMEIJ, J.T. Hepatology. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. **Avian medicine: principles and application**. 2. ed. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 522-537.
- MATSUI, S. Protecting human and ecological health under viral threats in Asia. **Water Science & Technology**, v. 51, n. 8, p. 91-97, 2005.
- MENÃO, M. C.; BOTTINO, J. A.; BIASIA, I.; FERREIRA, C. S. A.; CALDERARO, A. L.; TAVECHIO, A. L.; FERNANDES, S.; FERREIRA, A. J. P. Infecção por *Salmonella* Typhimurium em Arara Azul (*Anodorynchus hyacinthinus*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, n.1, p. 43-47, 2000.
- METEYER, C. U.; CHIN, R. P.; CASTRO, A. E.; WOODS, L. W.; GENTZER, R. P. An epizootic of chlamydiosis with high mortality in a captive population of euphonies (*Euphonia violaceas*) and hummingbirds (*Amazilia amazilias*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 23, p. 222-229, 1992.
- MEYERHOLZ, D. K.; VANLOUBBEECK, S. J.; JORDAN, A. J.; FALES-WILLIAMS, A. J. Surveillance of amyloidosis and others diseases at necropsy in captive trumpeter swans (*Cygnus buccinator*). **Journal Veterinary Diagnostic. Invest**, v. 17, p. 295-298, 2005.
- MIFLIN, J. K.; BLACKALL, P. J. Development of a 23S rRNA-based PCR assay for the identification of *Pasteurella multocida*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 216-221, 2001.
- MÖRNER, T.; OBENDORF, D. L.; ARTOIS, M.; WOODFORD, M. H. Surveillance and monitoring of wildlife disease. **Review Scientific and Technical Office International Epizooties**, v. 21, n. 1, p. 67-76, 2002.
- OLSEN, J. H. Anseriformes In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. 2. ed. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 1235-1275.
- PAGE, L. A. Observations on the involvement of wildlife in an epornitic of chlamydiosis in domestic turkeys. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 169, p. 932, 1976.

- PAULILLLO, A. C.; SILVA, G. S.; DORETO JUNIOR, L.; GAMA, N. M. S. Q.; NISHIZAWA, M.; SCHOCKEN-ITURRINO, F. Importância das perdizes (*Rhynchotus rufescens*) como fonte potencial de vírus patogênico da doença de Newcastle para aves domésticas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 313-317, 2005.
- PETERSON, M. J.; AGUIRRE, R.; FERRO, P. J.; JONES, D. A.; LAWYER, T. A.; PETERSON, M. N.; SILVY, N. Infectious disease survey of rio grande wild turkeys in the Edwards Plateau of Texas. **Journal of Wildlife Disease**, v. 38, n. 4, p. 826 -833, 2002.
- PETRY, R.; PETER, A. S.; GUADAGNIN, D. L. Avifauna do Rio Grande do Sul e doenças emergentes: conhecimento atual e recomendações para a vigilância ornitológica da Influenza Aviária e da Febre do Nilo Ocidental. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 14, n. 3, p. 269-277, 2006.
- PEDERSEN, K.; DIETZ, H. H.; JORGENSE, J. C.; CHISTENEN, T. K.; BERGNBALLE, T.; ANDERSEN, T. H. *Pasteurella multocida* from outbreaks of avian cholera in wild and captive birds in Denmark. **Journal of Wildlife Disease**, v. 39, n. 4, p. 808 -816, 2003.
- PRICE, J. L.; BRAND, C. J. Persistence of *Pasteurella multocida* in Nebraska wetlands under epizootic conditions. **Journal of Wildlife Disease**, v. 20, p. 90-94, 1984.
- QUESSY, S.; MESSIER, S. Prevalence of *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. and *Listeria* spp. in ring-billed gulls (*Larus delawarensis*). **Journal of Wildlife Disease**, v. 28, n. 4, p. 526-531, 1992.
- RAPPOLE, J. H.; DERRICKSON, S. R.; HUBÁLEK, Z. Migratory birds and spread of West Nile virus in the western hemisphere. **Emerging Infectious Diseases**, v. 6, n. 4, p. 319-328, 2000.
- RAPPOLE, J. H.; HUBÁLEK, Z. Migratory birds and West Nile virus. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p. 47-58, 2003.
- REDROBE, S. P. Avian Influenza H5N1: a review of the current situation and relevance to zoos. **International Zoo Yearbook**, v. 41, p. 96-109, 2007.
- REED, K. D.; MEECE, J. K.; HENCKEL, J. S.; SHUKLA, S. K. Birds migration and emerging zoonoses West Nile Virus, Lyme disease, Influenza A and enteropathogens. **Clinical Medicine & Research**, v. 1, n. 1, p. 5-12, 2003.
- REFSUM, T.; HEIR, E.; KAPPERUD, G.; VARDUND, T.; HOLSTAD, G. Molecular epidemiology of *Salmonella* enteric serovar Typhimurium isolates determined by pulsed-field gel electrophoresis : comparison of isolates from avian wildlife, domestic animals, and the environment in Norway. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 11, p. 5600-5606, 2002.
- REFSUM, T.; HANDELAND, K.; BAGGESEN, D. L.; HOSTAND, G.; KAPPERUD, G. *Salmonellae* in avian wildlife in Norway from 1969 to 2000. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 11, p. 5595-5599, 2002.

- REFSUM, T.; VIKOREN, T.; HANDELAND, K.; KAPPERUD, G.; HOLSTAD, G. Epidemiologic and pathologic aspects of *Salmonella typhimurium* infection in passerine birds in Norway. **Journal of Wildlife Disease**, v. 39, n. 1, p. 64-72, 2003.
- ROCAN, A. A.; SHAW, M. G.; MORGAN, P. M. Some parasitic and infectious diseases in waterfowl Oklahoma. **Journal of Wildlife Disease**, v. 15, p. 137-141, 1979.
- SAIBAL, K. P. Influenza virus types and subtypes detection by single step single multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and agarose gel electrophoresis. **Journal of Virological Methods**, v. 99, n. 1-2, p. 63-70, 2002.
- SAMUEL, M. D.; SHADDUCK, D. J.; GOLDBERG, D. R.; JOHNSON, W. P. Comparison of methods to detect *Pasteurella multocida* in carrier waterfowl. **Journal of Wildlife Disease**, v. 39, n. 1, p. 125-135, 2003.
- SAMUEL, M. D.; SHADDUCK, D. J.; GOLDBERG, D. R. Avian cholera exposure and carrier in greater white-fronted geese breeding in Alaska, USA. **Journal of Wildlife Disease**, v. 41, n. 3, p. 498-502, 2005.
- SAMUEL, M. D.; SHADDUCK, D. J.; GOLDBERG, D. R.; JOHNSON, W. P. Avian cholera in waterfowl: the role of leier snow and Ross's geese as disease in the playa lakes region. **Journal of Wildlife Disease**, v. 41, n. 1, p. 48-57, 2005.
- SEAL, B. S.; KING, J. D.; MEINERSMANN, R. J. Molecular evolution of Newcastle disease virus matrix protein gene and phylogenetic relationships among the paramyxoviridae. **Virus Research**, v. 66, p. 1-11, 2000.
- SHARP, G. B.; KAWAOKA, Y.; WRIGHT, S. M.; TURNER, B.; HINSHAW, V. S.; WEBSTER, R. G. Wild ducks are the reservoir for only a limited number of influenza A subtypes. **Epidemiology and Infection**, v. 110, p. 161-176, 1993.
- SCHETTLER, E.; FICKEL, J.; HOTZEL, H.; SACHSE, K.; STREICH, W. J.; WITTSTATT, U.; FRÖLICH, K. Newcastle disease virus and Chlamydia psittaci in free-living raptors from Easter Germany. **Journal of Wildlife Disease**, v. 39, n. 1, p. 57- 63, 2003.
- SICK, H; **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997.
- SIMPSON, V. R. Wild Animals as reservoirs of infectious diseases in the UK. **The Veterinary Journal**, v. 163, n. 2, p. 128-46, 2002.
- SONGSEEM, T.; VIRIYARAMPA, S.; SAE-HENG, N.; CHAMSINGH, W.; BOOTDEE, O.; PATHANASOPHON, P. Pasteurella multocida – Associated Sinusitis in Khaki Campbell Ducks (*Anas platyrhynchos*). **Avian Diseases**, v. 47, p. 649-655, 2003.
- SONGSEEM, T.; AMOSIN, A.; JAM-ON, R.; SAE-HENG, N.; PARIYOTHORN, N.; PAYUNGORN, S.; THEAMBOONLERS, A.; CHUTINIMITKUL, S.; THANAWONGNUWECH, R.; POOVORAWAN, Y. Fatal Avian Influenza A H5N1 in a dog. **Emerging Infectious Disease**, v. 11, p. 1744-1747, 2006.

- SPECKMANN, G.; LUTHER, J. W. Visceral gout and amyloidosis in a mute swan (*Cygnus olor*). **Canadian Veterinary Journal**, v. 15, n. 2, p. 51-53, 1974.
- STALLKNECHT, D. E.; SHANE, S. M.; KEARNEY, M. T.; ZWANK, P. J. Persistence of avian influenza virus in water. **Avian Disease**, v. 34, p. 406-411, 1990.
- STEELE, C. M.; BROWN, R. N.; BOTZLER, R.G. Prevalence of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the pacific coast of California and Washington, USA. **Journal of Wildlife Disease**, v. 41, n. 4, p. 735-744, 2005.
- TIWARI, A. K.; KATARIA, R. S.; NANTHAKUMAR, T.; DASH, B. B.; DESAI, G. Differential detection of Newcastle disease virus strains by degenerate primers based RT-PCR. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 3, p. 163-169, 2004.
- TUMPEY, T. M.; SUAREZ, D. L.; PERKINS, L. E. L.; SENNE, D. A.; LEE, J.; LEE, Y-I.; MO, I-P.; SUNG, H-W.; SWAYNE, D. E. Characterization of a highly pathogenic H5N1 Avian Influenza A Virus isolated from duck meat. **Journal of Virology**, v. 76, n. 2, p. 6344-6355, 2002.
- VENUOPAL, K.; JONES, R. C.; GOUGH, R. Herpesviridae. In: JORDAN, F.; PATTISON, M.; ALEXANDER, D.; FARAGHER, T. **Poultry diseases**. 5. ed. Hardcover: W.B. Saunders, 2001. p. 221-239.
- WANG, M.; DI, B.; ZHOU, D.; ZHENG, B.; JING, H.; LING, V.; LIU, Y.; WU, X.; QIN, P.; WANG, Y.; JIAN, L.; LI, X.; XU, J.; LU, E.; LI, T.; XU, J. Food markets with live birds as source of avian influenza. **Emerging Infectious Disease**, v. 12, n. 11, p. 1773-1775, 2006.
- WEBSTER, R. G.; PEIRIS, M.; CHEN, H.; GUAN, Y. H5N1 Outbreak and enzootic influenza. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 3-8, 2006.
- WOBESER, G.; WARD, G. E. *Pasteurella anatis* infection in migrating whistling swans. **Journal of Wildlife Disease**, v. 10, p. 486-470, 1974.
- WOBESER, G.; HUNTER, D. B.; WRIGHT, B.; NIEMAN, D. J.; IBISTER, R. Avian cholera in waterfowl in Saskatchewan, **Journal of Wildlife Disease**, v. 15, p. 19-24, 1979.
- WOBESER, G.; LEIGHTON, F. A.; NORMAN, R.; MYERS, D. J.; ONDERKA, D.; PYBUS, M. J.; NEUFELD, J. L.; FOX, G. A.; ALEXANDER, D. J. Newcastle disease in wild water birds in western Canada. **Canadian Veterinary Journal**, v. 34, p. 353-359, 1990.
- WOBESER, G. Avian cholera and waterfowl biology. **Journal of Wildlife Disease**, Kansas, v. 28, p. 674-682, 1992.
- WOBESER, G. Disease management strategies for wildlife. **Review Scientific and Technical Office International Epizootics**, v.21, n.1, p.159-178, 2002.
- WOBESER, G. Disease management strategies for wildlife. **Journal Mountain Ecology**, n. 7, p. 85-88, 2003. (Supplement).

WRAY, C.; DAVIES, R. H. Enterobacteriaceae. In: JORDAN, F.; PATTISON, M.; ALEXANDER, D.; FARAGHER, T. **Poultry diseases**. 5. ed. Hardcover: W.B. Saunders, 2001. p. 95-124.

WOLDEHIWET, Z. Avian Chlamydiosis (Psitacosis/Ornithosis). In: JORDAN, F.; PATTISON, M.; ALEXANDER, D.; FARAGHER, T. **Poultry diseases**. 5. ed. Hardcover: W.B. Saunders, 2001. p. 194-202.

ZANETTI, F.; BERINSTEIN, A.; PEREDA, A.; TABOGA, O.; CARRILO, E. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Newcastle disease virus isolates from healthy wild birds. **Avian Disease**, v. 49, p. 546-550, 2005.