

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ANTICORPOS CONTRA VÍRUS DE AVES EM
GALINHAS DE TERREIRO E CRACÍDEOS.
IDENTIFICAÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE A
ANTIMICROBIANOS DA MICROBIOTA DE
CRACÍDEOS CATIVOS NO RS, BRASIL.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Helton Fernandes dos Santos

**Santa Maria, RS, Brasil
2008**

**ANTICORPOS CONTRA VÍRUS DE AVES EM GALINHAS DE
TERREIRO E CRACÍDEOS. IDENTIFICAÇÃO E
SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DA
MICROBIOTA DE CRACÍDEOS CATIVOS NO RS, BRASIL.**

Por

Helton Fernandes dos Santos

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária.

Orientadora: Maristela Lovato Flôres, Dr^a.
Co-orientadora: Luciane Terezinha Lovato, PhD

Santa Maria, RS, Brasil.
2008

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ANTICORPOS CONTRA VÍRUS DE AVES EM GALINHAS DE
TERREIRO E CRACÍDEOS. IDENTIFICAÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE
A ANTIMICROBIANOS DA MICROBIOTA DE CRACÍDEOS CATIVOS
NO RS, BRASIL.**

Elaborada por
Helton Fernandes dos Santos

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Maristela Lovato Flôres, Dra, UFSM
(Presidente/Orientador)

Rudi Weiblen, PhD, UFSM

Luiz Carlos Kreutz, PhD, UPF

Santa Maria, 07 de janeiro de 2008.

AGRADECIMENTOS

Nesse momento torna-se difícil em palavras agradecer a todos que me ajudaram, mas somente quem vivencia este momento sabe da importância e da sinceridade que este agradecimento simboliza.

Agradeço em especial à professora Luciane Terezinha Lovato, a quem eu tenho uma profunda admiração tanto pessoal quanto profissional, por estar sempre presente, pelo incentivo, pela confiança, pela amizade demonstrada em nosso convívio, e principalmente pela orientação.

Aos meus pais e minha irmã pelo amor, carinho e cumplicidade, assim como pela confiança em mim depositada; mostrando-me que tudo é possível se realmente acreditarmos e lutarmos para que se torne realidade.

À equipe do Setor de Virologia da UFSM, aos quais sempre pude ter como uma extensão da minha família, especialmente aos professores Rudi Weiblen e Eduardo Furtado Flores, obrigado a todos pela oportunidade, os conhecimentos, a experiência e a paciência oferecidas, além, é claro, da amizade.

À minha orientadora professora Maristela Lovato Flôres, pela orientação e amizade; aos meus colegas do LCDPA, em especial o colega Luciano Battisti, pela compreensão, amizade e auxílio nas coletas de amostras.

Venho agradecer em geral toda a equipe de virologia da EMBRAPA suínos e aves, em especial a Dra. Iara Maria Trevisol, pelo material cedido e principalmente os ensinamentos.

À professora Valéria Maria Lara Carregaro e aos veterinários Kleitton Adolfo Pan e Ketty Cristina Mazzutti, por estarem sempre dispostos a ajudar, pelo auxílio nos experimentos, pela amizade demonstrada.

À UFSM agradeço pela formação acadêmica e científica, à CAPES e FAPERGS pelo suporte financeiro que viabilizou a realização dos trabalhos.

Compartilho essa vitória aos meus amigos e colegas que acreditam em mim e que de alguma maneira contribuíram com o meu crescimento pessoal.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

ANTICORPOS CONTRA VÍRUS DE AVES EM GALINHAS DE TERREIRO E CRACÍDEOS. IDENTIFICAÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DA MICROBIOTA DE CRACÍDEOS CATIVOS NO RS, BRASIL.

AUTOR: HELTON FERNANDES DOS SANTOS
ORIENTADORA: MARISTELA LOVATO FLÔRES
Santa Maria, 07 de janeiro de 2008.

A avicultura é uma das principais atividades econômicas do Brasil, que ocupa posição de destaque entre os exportadores de frango e subprodutos. O conhecimento da epidemiologia de patógenos que podem gerar prejuízos a essa atividade é essencial para o controle das enfermidades infecciosas. Este controle é realizado em larga escala em galinhas e perus criados no sistema industrial. Entretanto a população avícola do país consiste de uma grande diversidade de aves domésticas e selvagens, sendo o grupo conhecido como galinhas de terreiro formado por indivíduos desta espécie criados fora do sistema industrial. Com o objetivo de investigar a presença de anticorpos contra alguns vírus específicos na população de galinhas de terreiro, foram coletadas amostras de sangue de 867 galinhas não vacinadas, em 60 propriedades de 22 municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, que foram testadas pela técnica de soroneutralização. Anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV) foram detectados em 65% (564/867) destas aves, contra o reovírus aviário (ARV) em 21,6% (187/867) e contra o vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) em 80,2% (695/867). Os descritos no primeiro capítulo desta dissertação permitiram demonstrar a circulação dos vírus testados na população descrita. No segundo capítulo trabalhou-se com aves da ordem *Galliformes*, pertencentes à família *Cracidae* e conhecidos popularmente como jacus, jacutingas, araquãs e mutuns, com o intuito de conhecer a microbiota, resistência bacteriana e a presença de anticorpos contra vírus de aves, 51 amostras de soro e *swab* cloacal

de 10 diferentes espécies de cracídeos cativos do Estado do Rio Grande do Sul foram coletadas durante o ano de 2007. As amostras de soro foram utilizadas para a detecção de anticorpos neutralizantes contra o IBV, ARV e IBDV, onde obteve os seguintes resultados: contra o IBV em 5,9% (3/51) das amostras positivas, contra o ARV em 15,7% (8/51) e contra o IBDV em 35,3% (18/51). Através do teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) determinou-se que todas as amostras de soro eram negativas para o vírus da bouba aviária. Para o isolamento e identificação bacteriana foram realizados dos *swabs* cloacais e, posteriormente, foi testada a susceptibilidade antimicrobiana. Foram obtidos 93 isolados bacterianos, divididos em 10 diferentes gêneros. Entre os gêneros bacterianos mais prevalentes estavam *Escherichia* spp., *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. Foi observada em grande número de isolados resistência à antimicrobianos, sendo que a bactéria *Serratia marcescens* apresentou o maior índice de resistência múltipla antimicrobiana. Os altos índices de resistência também foram detectados para *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados apresentados permitem concluir que a resistência bacteriana está disseminada na microbiota de cracídeos cativos e que indivíduos destas espécies são suscetíveis à infecção pelo IBV, IBDV e ARV, assim como as galinhas de terreiro.

Palavras-chave: epidemiologia, galinhas de terreiro, *Cracidae*, IBV, ARV, IBDV, FPV, microbiota, resistência.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

ANTIBODIES TO SPECIFIC VIRUS IN BACKYARD POULTRY AND CRACIDS, MICROBIOTA AND SUSCEPTIBILITY BACTERIAL IN CRACÍDS CAPTIVE FROM THE RIO GRANDE DO SUL STATE, BRAZIL

AUTHOR: HELTON FERNANDES DOS SANTOS

ADVISER: MARISTELA LOVATO FLÔRES

Santa Maria, January, 07th, 2008.

Poultry production is a very important economic activity in Brazil once the country is among the highest world avian producers. The knowledge of the pathogens epidemiology is essential to the control of infectious diseases and such control is very strict in chickens and turkeys on the avian industry. However, the avian population of the country shows a big diversity of domestic and wild birds and the chicken backyard population is out of this control. To investigate the presence of antibodies against specific viruses in the backyard chicken population, blood was collected of 867 non-vaccinated birds, from 60 farms and 22 counties from the Rio Grande do Sul State, Brazil. Neutralizing antibodies against infectious bronchitis virus (IBV) were detected in 65% (564/867) of the individuals, against avian reovirus (ARV) in 21.6% (187/867) and, against infectious bursal disease virus (IBDV) in 80.2% (695/867). The results presented on the first chapter indicated that the tested viruses are circulating among this population. Among the wild species there is a group of *Galliformes*, classified at the *Cracidae* family and commonly known as guans, chachalacas and curassows which deserved a special attention in the present study. To determine the microbiota, the bacterial resistance and the presence of antibodies against specific viruses in these birds, fifty one serum and cloacal swab samples were collected from 10 different cracid species captive in the Rio Grande do Sul State during 2007. Serum samples were submitted to serum-neutralization test and specific antibodies were detected against IBV in 5.9% (3/51) of

the cracids, against ARV in 15.7% (8/51) and, against IBDV in 35.3% (18/51). All samples were found to be negative to fowlpox virus by the AGID test. Bacterial isolation and identification were performed from the cloacal swabs. After that, the isolates were tested for antimicrobial susceptibility. Ninety three bacterial isolates were obtained from 10 different genera. *Escherichia* spp., *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. are among the most prevalent genera. Antimicrobial resistance was observed in several isolates, with *Serratia marcescens* presenting the highest level of resistance to multi drugs followed by *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, among others. The results from the second chapter of this dissertation allowed us to conclude that bacterial resistance is spread in the captive cracid microbiota and, most importantly, these species are susceptible to the infection by IBV, IBDV and ARV.

Palavras-chave: epidemiology, backyard chicken, *Cracidae*, IBV, ARV, IBDV, FPV, microbiota, bacteria resistance.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1. Frequência dos títulos de anticorpos contra: A. vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV); B. reovírus aviário (ARV) e C. vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) em galinhas de terreiro, não-vacinadas do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

SN – soroneutralização..... 30

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- TABELA 1. Presença de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV) e vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) em galinhas de terreiro, não-vacinadas, de acordo com o município de coleta no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil..... 28
- TABELA 2. Presença de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV) e vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) em galinhas de terreiro, não-vacinadas, de municípios do RS, Brasil, de acordo com a finalidade e o tipo de criação..... 29

CAPÍTULO 2

- TABELA 1. Gêneros e espécies de bactérias isoladas de *swabs* cloacal de diferentes espécies de cracídeos, mantidos cativos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil durante o ano de 2007..... 50
- TABELA 2. Porcentagem de resistência bacteriana frente aos antibióticos testados e índice de resistência múltipla aos antibióticos (IRMA), em colônias isoladas em cracídeos, mantidos cativos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, durante o ano de 2007..... 51
- TABELA 3. Prevalência de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV), vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) e vírus da boubá aviária (FPV) em cracídeos, de criatórios e zoológicos do RS, Braisl, durante o ano de 2007..... 52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. CAPÍTULO 1. Anticorpos contra vírus de aves em galinhas de terreiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil	15
Resumo.....	16
Abstract.....	16
Introdução.....	17
Material e métodos.....	19
Resultados e discussão.....	20
Conclusões.....	23
Fontes de aquisição.....	24
Referências.....	24
3. CAPÍTULO 2. Anticorpos contra vírus específicos, microbiota e suscetibilidade microbiana em cracídeos cativos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil	31
Resumo.....	32
Abstract.....	33
Introdução.....	34
Material e métodos.....	35
Resultados e discussão.....	37
Conclusões.....	43
Referências.....	43
4. CONCLUSÕES	52
5. REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

As infecções víricas, mesmo controladas por vacinação, ainda causam grandes prejuízos econômicos decorrentes da perda de produtividade, morte de animais e gastos com o controle das enfermidades. Os vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV) e vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) estão entre os vírus que causam as maiores perdas econômicas para a indústria avícola (CAVANAGH & NAQI, 2003; ROSENBERGER et al., 1989; DI FABIO et al., 1999).

O IBV pertence à família *Coronaviridae*, e está classificado no gênero *Coronavirus* avícola (CAVANAGH & NAQI, 2003). Este vírus infecta células ciliadas da mucosa do aparelho respiratório produzindo lesões características na traquéia (KING & CAVANAGH, 1991) e, alguns isolados, apresentam tropismo para os rins, oviduto e/ou aparelho digestório (RESENDE, 2003). A grande variabilidade antigênica do vírus, juntamente com os diferentes tropismos demonstrados pelas cepas virais dificultam o diagnóstico e controle da infecção. Devido a essas características do vírus, os programas de vacinação são desenvolvidos de acordo com cada região ou país (VILLEGAS, 1997).

O ARV, classificado na família *Reoviridae*, gênero *Orthoreovirus*, é um dos agentes etiológicos de artrite viral ou tenossinovite em galinhas, ocasionando lesões de caráter inflamatório crônico na articulação tibiotársica. As aves acometidas apresentam dificuldade de locomoção com conseqüente alteração na conversão alimentar e ganho de peso, ocorrendo mortalidade devido à inanição e desidratação (VASCONCELOS et al., 2001). A transmissão se dá tanto vertical como horizontalmente. Devido a uma série de fatores que vão desde a grande resistência da partícula viral ao ambiente até a rota de transmissão, o controle dessa enfermidade é difícil (JONES, 2000).

O IBDV é um *Avibirnavirus*, pertencente à família *Birnaviridae* (NIBERT & SCHIFF, 2001) que se multiplica nos tecidos linfóides, com predileção pela “*bursa de Fabricius*”. Este vírus causa imunossupressão aumentando a susceptibilidade das aves a outras doenças infecciosas (TANIMURA & SHARMA, 1997). Diferentes cepas do vírus são reconhecidas de acordo com a virulência, e cepas hipervirulentas têm sido isoladas em aves industriais no Brasil (DI FABIO et al., 1999). O surgimento de cepas de maior virulência constitui um problema para a avicultura, obrigando avicultores a adotar novas abordagens de prevenção, no sentido de determinar vacinas, outros programas de vacinação e aplicação de medidas de biossegurança (TESSARI et al., 2001).

No Brasil, existem relatos de monitoramentos sorológicos para esses vírus na população avícola industrial (ROMERO et al., 1989). No entanto, na população de aves criadas fora do sistema industrial, como galinhas de terreiro e aves silvestres, não foram encontrados estudos de prevalência de anticorpos contra esses vírus.

O primeiro capítulo desta dissertação teve como objetivo a determinação da prevalência de anticorpos contra o IBV, IBDV e ARV na população de galinhas de terreiro, distribuídas em pequenas propriedades do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Durante a realização do estudo, observou-se que outra população de *Galliformes*, os cracídeos, encontravam-se em situação semelhante às galinhas de terreiro.

A família *Cracidae* (mutuns, jacus, jacutingas e araquãs), endêmica nos Neotrópicos, consiste em um grupo grande de aves florestais frugívoras (BROOKS & STRAHL, 2002). São aves ameaçadas de extinção, com aproximadamente metade dos grandes jacus e mutuns considerados vulneráveis ou ameaçados. Os cracídeos têm um papel ecológico muito importante, principalmente na regeneração de florestas (SEDAGHATKISH, 1996). A oportunidade de contato entre estas aves silvestres e aves

domésticas está aumentando junto com a destruição do seu habitat natural, trazendo estes animais para as proximidades das áreas de criação em busca de alimento.

O estudo da microbiota bacteriana de aves silvestres clinicamente saudáveis é um passo importante para a compreensão da epidemiologia das doenças bacterianas que podem afetar as suas populações e espécies semelhantes (DOBBIN et al., 2005). O conhecimento da microbiota bacteriana de animais silvestres também pode ser de interesse para a saúde pública (REFSUM et al., 2002). Bactérias patogênicas já foram isoladas de aves silvestres, entre estas algumas com potencial zoonótico como *Pasteurella* spp., *Salmonella* spp. e *Erysipelothrix rhusiopathiae* (MILLIS et al., 1999).

A presença de resistência a antimicrobianos de uso corrente na medicina humana e animal em bactérias isoladas de aves silvestres é outro aspecto importante neste contexto (MIDDLETON & AMBROSE, 2005). A detecção de plasmídeos carreando genes de resistência em cepas de *Escherichia coli*, evidenciam este problema (SMITH et al., 2007). Em estudos realizados por TSUBOKURA et al. (1995), mais da metade das *E. coli* isoladas de aves aquáticas apresentavam plasmídeos contendo genes de resistência.

Levando em consideração a falta de informações sobre a microbiologia dos cracídeos, o segundo capítulo dessa dissertação, teve como objetivo, avaliar o perfil de bactérias entéricas e a sua resistência a antimicrobianos de uso comum, e também estudar a prevalência de anticorpos contra os vírus da bronquite infecciosa das galinhas, reovírus aviário, vírus da boubá aviária e vírus da doença infecciosa da bolsa em 10 espécies de cracídeos mantidos em criatórios e zoológicos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O estudo da prevalência dessas infecções em aves não industriais como galinhas de terreiro e *Galliformes* silvestres, pode contribuir para a implementação de medidas de controle.

2. CAPÍTULO 1

Anticorpos contra vírus de aves em galinhas de terreiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Antibodies to specific virus in backyard poultry from the Rio Grande do Sul State, Brazil.

**Helton Fernandes dos Santos¹, Luciane Teresinha Lovato^{2*}, Maristela Lovato Flôres³, Iara
Maria Trevisol⁴, Ketty Cristina Mazzutti⁵ e Kleitton Adolfo Pan⁵**

(Artigo submetido à revista Ciência Rural, 2007)

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

² Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DMP), Centro de Ciências da Saúde (CCS), UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: llovato@smail.ufsm.br. Fone/Fax: 55-3220 8034. *Autor para correspondência.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias (LCDPA), UFSM.

⁴ Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Concórdia, SC, Brasil.

⁵ Departamento de Produção Animal, Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio, Divisão de Fiscalização e Defesa Sanitária Animal, RS, Brasil.

RESUMO

No Brasil, a população de aves conhecida como galinhas de terreiro não está incluído sistema de biosseguridade aplicada às criações comerciais. Para investigar a presença de anticorpos contra alguns vírus específicos nessa população, foram coletadas amostras de sangue de 867 aves não vacinadas, em 60 propriedades de 22 municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O soro foi testado para a presença de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV) e o vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) pela técnica de soroneutralização. Anticorpos contra IBV foram detectados em 65% (564/867), contra ARV em 21,6% (187/867) e contra IBDV em 80,2% (695/867) das galinhas. Todas as propriedades avaliadas apresentaram pelo menos uma ave positiva para IBV e IBDV, e 88,3% delas eram positivas para ARV. Os resultados demonstraram que esses vírus estão presentes em galinhas de terreiro nas criações avícolas não industriais do Estado. Os resultados indicam a necessidade de implantar um programa de vigilância permanente, avaliar o impacto destas infecções nos próprios plantéis e o risco associado à transmissão de patógenos às criações comerciais.

Palavras-chave: IBV, ARV, IBDV, epidemiologia, ocorrência, galinhas de terreiro.

ABSTRACT

The backyard poultry are not included in the biosecurity system applied in commercial flocks in Brazil. To investigate the presence of antibodies to specific viral pathogens in this population, blood samples were collected from 867 non-vaccinated birds, from 60 flocks in 22 counties of the

Rio Grande do Sul State, Brazil. The sera were tested to detect antibodies against infectious bronchitis virus (IBV), avian reovirus (ARV) and infectious bursal disease virus (IBDV), through the virus neutralization test. Antibodies to IBV were detected in 65% (564/867), against ARV in 21.6% (187/867), and against IBDV in 80.2% (695/867) of the samples. All the flocks had chickens positive to IBV and IBDV antibodies, and 88.3% of them harbored antibodies to ARV. The results show the presence of these viruses in backyard poultry from the central region of the State. It also indicates the need for additional studies aimed to evaluate the real importance of these infections for this type of flocks.

Key words: IBV, ARV, IBDV, epidemiology, occurrence, backyard poultry.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de frangos do mundo e o primeiro em exportação de carnes (UBA, 2006). Medidas de vigilância e defesa sanitária estão sendo implantadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) priorizando a regionalização da avicultura brasileira. Apesar do controle sanitário exercido sobre as aves criadas comercialmente, algumas doenças infecciosas continuam presentes e ainda há uma população de aves que está fora deste controle. Esta população é constituída de aves que são criadas para consumo próprio, comercialização local, combate ou para prática de ritual religioso, sendo estas aves oficialmente denominadas de “galinhas de terreiro” (MAPA, 2007).

O conhecimento da ocorrência e da distribuição das infecções virais em galinhas de terreiro pode ter grande utilidade para indicar a necessidade de medidas de controle e prevenção. Patógenos

virais importantes em criações comerciais, como o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV) e o vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) são mantidos sob controle pelo uso de vacinação em criações comerciais (CAVANAGH & NAQI, 2003; LUKERT & SAIF, 2003).

O vírus da bronquite infecciosa (IBV) é um coronavírus que causa uma enfermidade aguda e altamente contagiosa em galinhas, afetando de forma mais acentuada o sistema respiratório e urogenital (CAVANAGH & NAQI, 2003). A ocorrência da doença foi relatada no Brasil na década de 50 (HIPÓLITO et al., 1957) e diversos estudos têm demonstrado a sua presença em várias regiões (BRENTANO et al., 2005). A epidemiologia do IBV é complicada pela existência de vários sorotipos que podem apresentar reação sorológica cruzada, mas não apresentar proteção cruzada (IGNJATOVIC & SAPATS, 2000; CAVANAGH & NAQI, 2003). As diferenças entre os sorotipos de IBV devem-se a variações na seqüência de aminoácidos de duas regiões na subunidade S₁, chamadas regiões hiper-variáveis. Pequenas diferenças na composição de nucleotídeos ocorrem devido à circulação do vírus na população, podendo originar novos sorotipos (COOK et al., 1997).

O reovírus aviário (ARV) é um vírus RNA, membro do gênero *Orthoreovirus*, importante patógeno para as aves que causa grandes perdas econômicas na avicultura industrial (ROSENBERGER et al., 1989). Os ARVs causam primariamente artrite e tenossinovite em galinhas (KIBENGE & WILCOX, 1983), mas podem também induzir outros quadros clínicos respiratórios e digestivos. As reovirose aviárias apresentam distribuição mundial, sendo relatados casos em galinhas criadas comercialmente, perus, gansos e outras aves (GEORGIEVA & JAMBAZOVA, 2003).

A infecção pelo vírus da doença infecciosa da bolsa também é descrita em todo o mundo causando perdas econômicas consideráveis (VAN DER BERG, 2000). O IBDV é um vírus RNA,

classificado no gênero *Avibirnavirus* da família *Birnaviridae* (NIBERT & SCHIFF, 2001). O vírus tem um marcante tropismo pelo tecido linfóide, causa lesões principalmente na bursa de aves jovens, com as manifestações clínicas de diarreia e desidratação. São reconhecidos mundialmente dois sorotipos deste vírus, e os patogênicos estão classificados dentro do sorotipo 1 (LUKERT & SAIF, 2003). Diferentes cepas do sorotipo 1 já foram identificadas que não induzem proteção cruzada, entre elas uma cepa muito virulenta, identificada no país por DI FABIO et al. (1999). Esta variedade de cepas e sorotipos dificulta o controle da doença (LUKERT & SAIF, 2003). As cepas hipervirulentas causam lesões típicas da doença e são antigenicamente similares as cepas clássicas (JACKWOOD et al., 1987).

Com o objetivo investigar a presença e distribuição de anticorpos contra o IBV, ARV e IBDV na população de galinhas de terreiro de municípios do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, este estudo foi realizado.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de sangue de 867 galinhas de diferentes idades, sem histórico de vacinação contra o IBV, ARV e IBDV foram coletadas em 60 propriedades de 22 municípios do Estado Rio Grande do Sul, durante o período de janeiro de 2006 a março de 2007. O sangue foi coletado da veia ulnar com auxílio de seringa e permaneceu por uma hora a temperatura ambiente. Após a retração do coágulo, as amostras de sangue foram centrifugadas por 10 minutos a 1600 x g, o soro foi coletado, inativado por 30 minutos a 56°C e armazenado a -20°C até ser testado.

A população pesquisada foi composta de aves de corte e postura para consumo próprio, aves

destinadas a ritual religioso, aves de rinhas (raças combatentes) e outras. Em função do desconhecimento do número total ou aproximado destas populações, a coleta das amostras foi realizada sem um delineamento estatístico. Isto explica, pelo menos em parte, a disparidade no número de amostras em cada uma das categorias (Tabela 2).

Células e vírus: para a multiplicação dos vírus e realização dos testes de soroneutralização (SN), utilizaram-se células primárias de fibroblasto de embrião de galinha (FEG) para o ARV e IBDV, e células primárias de rim de pinto (CRP) para o IBV, cultivadas a partir de ovos livres de patógenos específicos (SPF). As células foram cultivadas em meio F10-199 Nutrient Mixture (F-10 HAM e meio 199, Sigma^a) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultilab^b), 5% de caldo Triptose Fosfato (TPB), antibióticos (estreptomicina 0,4 mg.ml⁻¹; penicilina 1,6mg.ml⁻¹) e antifúngico (fungizona 0,0025 mg.ml⁻¹). As cepas virais Beaudette do IBV, S1133 do ARV e GT-1 do IBDV foram cedidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Aves e Suínos (Concórdia, SC).

Soroneutralização (SN): Os testes de SN para a detecção de anticorpos contra o IBV, ARV e IBDV foram realizados conforme a metodologia descrita por ROMERO (1986). Resumidamente, as amostras de soro foram diluídas (1:20 até 1:2560) e incubadas com 100 a 200 doses infectantes para 50% dos cultivos celulares (DICC₅₀) das cepas do IBV, ARV ou IBDV. Após um período de incubação de 1h, foram adicionadas células de FEG para o ARV e IBDV ou células de CRP para o IBV. Amostras positivas e negativas de soro foram incluídas em cada teste. Foram considerados títulos a recíproca da maior diluição do soro capaz de prevenir a produção de efeito citopático (ECP). Os testes de SN foram interpretados após 96h de incubação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados gerais da distribuição das amostras por município e dados de positividade na SN são apresentados na tabela 1. Na figura 1, é demonstrada a da frequência de título de anticorpos nas aves contra os três vírus estudados. A tabela 2 apresenta a frequência de anticorpos de acordo com finalidade e tipo de criação.

No Brasil, o *status* epidemiológico das galinhas de terreiro é pouco estudado e a prevalência de anticorpos contra os vírus IBV, IBDV e ARV não é conhecida nesta população. Pesquisas realizadas em outros países demonstram alta prevalência destes vírus em populações semelhantes (DIVERS, 2006; OWOADE et al., 2006).

A infecção pelo IBV está amplamente distribuída na população de aves de terreiro e a presença de anticorpos contra este vírus já foi detectada em 85% das aves pesquisadas no Equador (DIVERS, 2006) e 84% na Nigéria (OWOADE et al., 2006). A prevalência de 43% também foi descrita na Eslovênia (VOLK, 2005). A prevalência de 65% (Tabela 1) de aves com anticorpos contra o IBV demonstra uma situação semelhante àquela encontradas no México, onde 74,9% das aves pesquisadas apresentaram anticorpos contra este vírus (RUIZ et al., 2002).

No caso do IBDV, a prevalência de 80,2% (Tabela 1) das aves positivas para a presença de anticorpos é comparável a estudos feitos por VOLK (2005) na Eslovênia, em que 78% das aves foram soropositivas, e por DIVERS (2006) no Equador, onde 100% das aves foi positiva.

O percentual de aves soropositivas para o reovírus foi relativamente baixo (21,6%) quando comparado com os outros dois vírus estudados ou com os dados de outros países. As aves de terreiro da Nigéria e da Eslovênia apresentaram uma soropositividade mais alta sendo de 41% no primeiro caso (OWOADE et al., 2006) e de 92% no segundo (VOLK, 2005). A diferença de prevalência na comparação com os outros países provavelmente seja explicada, em parte, por diferenças epidemiológicas nas populações em estudo.

Quando foi realizada a quantificação dos títulos de anticorpos no soro (Figura 1), observou-se um grande número de amostras de soro com altos títulos de anticorpos contra os vírus IBV e IBDV (≥ 2560). A grande maioria das amostras examinadas contra o ARV apresentaram títulos de anticorpos entre 40 a 160. A literatura apresenta diversos dados de títulos de anticorpos para aves comerciais (COOK et al., 1997; JACKWOOD et al., 1987), mas não foram encontrados parâmetros para comparação com o tipo de ave estudada no presente trabalho. Além disto, os dados encontrados na literatura registram valores de títulos de anticorpos gerados em resposta a vacina e não à infecção natural.

As altas taxas de amostras positivas contra o IBV e IBDV indicam que estes vírus infectaram mais de dois terços da população estudada. Este dado aliado aos altos títulos de anticorpos observados em uma boa parcela destas aves, reforça a idéia de que estes vírus circulam amplamente na população de galinhas de terreiro da região. Esta circulação pode ser considerada um risco à sanidade avícola, considerando-se a capacidade de disseminação dos agentes virais (COOK et al., 1997; ETERRADOSSI et al., 2000; CAVANAGH & NAQI, 2003).

Apenas 6,8% das aves pesquisadas foram negativas para anticorpos contra todos os vírus testados. Quando os dados foram cruzados observou-se que 12,7% apresentaram anticorpos contra os três agentes pesquisados e 61,4% apresentaram anticorpos para mais de um agente. Dentre essas, 86,6% apresentaram anticorpos contra os vírus de IBV e IBDV concomitantemente. As características destes agentes, como a via de transmissão e a sua resistência no ambiente, podem ter contribuído para esta alta prevalência (LUKERT & SAIF, 2003; IGNJATOVIC & SAPATS, 2000).

Em todas as propriedades pesquisadas, foram encontradas aves positivas contra IBV e IBDV, sendo que 88,3% das propriedades possuíam aves soro positivas para o ARV. O fato de um grande número de propriedades apresentar pelo menos uma ave positiva, ilustra a permanência ou

circulação periódica destes patógenos nas criações estudadas. Como já observado por BUCHALA et al. (2006), a elevada frequência de criatórios com aves sororeagentes indica risco de introdução, em aves de exploração comercial, de agentes de doenças transmissíveis que se encontram distribuídos na natureza.

As aves soropositivas classificadas conforme a finalidade da criação, como as de consumo próprio ou comércio local, apresentaram uma prevalência de 65,7% (IBV), 22,6% (ARV) e 80,6% para o IBDV, e as raças combatentes, de 61,4% para IBV, 12,3% para o ARV e 71,9% para o IBDV. Esses índices são preocupantes devido à ausência de biosseguridade entre essas criações. A movimentação destas aves é um grande fator de risco, principalmente nas raças combatentes, para as quais pode ocorrer trânsito sem nenhum controle sanitário.

As aves criadas semi-confinadas ou livres apresentaram taxas mais altas de soropositividade para o IBV e IBDV, do que as aves criadas em sistema de confinamento, o que deve refletir a maior exposição das aves de vida livre aos patógenos considerados. O fácil acesso dessas aves a outras espécies de animais que podem servir de carreadores mecânicos do agente talvez possa ser uma das razões da diferença observada (GARBER et al., 2007). O conhecimento da epidemiologia destes vírus em aves de terreiro é fundamental para o planejamento de estratégias de controle nestas populações e conseqüente diminuição da transmissão para as criações comerciais.

CONCLUSÕES

Os dados aqui apresentados demonstram que os vírus da bronquite infecciosa das galinhas, vírus da doença infecciosa da bolsa e reovírus aviário estão circulando na população de galinhas de terreiro do Estado do Rio Grande do Sul. É importante salientar que estes patógenos são

responsáveis por enfermidades que causam grandes prejuízos econômicos na avicultura comercial e que a contínua circulação destes vírus em aves de terreiro pode facilitar o surgimento de cepas com maior patogenicidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo financiamento, a equipe de virologia aviária da EMBRAPA pelo material e auxílio técnico; à Cooperativa Languiru Ltda. pelo apoio; a CAPES pela concessão de bolsa ao primeiro autor e ao Setor de Virologia da UFSM.

FONTES DE AQUISIÇÃO

^aSigma Chemical Company Po Box 14508, St. Louis/USA.

^bCultilab LTDA, Campinas, SP, Brasil.

REFERÊNCIAS

BRENTANO, L. et al. Isolamento do vírus da bronquite infecciosa das aves de surtos da doença associada a lesões atípicas de miopatia peitoral. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, SP. **Anais...** Santos: Suplemento, 2005, v.7. p.232.

BUCHALA, F. G. et al. Detecção de resposta sorológica contra *Mycoplasma* em aves de criatórios de “fundo de quintal” próximos a explorações comerciais do Estado de São Paulo. **Arquivos do**

Instituto Biológico, v.73, n.2, p.143-148, 2006.

CAVANAGH, D.; NAQI, S. A. Infectious bronchitis. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 2003. 11a, v. 1, cap. 3, p. 101-119.

COOK, J. K. A. et al. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterogonous serotypes. **Avian Pathology**, v.28, p.477-485, 1997.

DI FABIO, J. et al. Very virulent IBD spreads to South America. **World Poultry Journal**, v.15, p.88-91, 1999.

DIVERS, S. M. H. A survey of selected avian pathogens of backyard poultry in northwestern Ecuador. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 20, p.147-158, 2006.

ETERRADOSSI. N. et al. Comparison of European and South-American strains of very virulent infectious bursal disease viruses. **Actualization Avicola de Amevea**, v. 1, p. 15-30, 2000.

GARBER, L. et al. Non-commercial poultry industries: surveys of backyard and gamefowl breeder flocks in the United States. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 80, p 120-128, 2007.

GEORGIEVA, M. V.; JAMBAZOVA, N. Serological surveys on broiler breeder flocks for antibodies against chicken infectious anaemia virus and avian reoviruses. **Institute of Experimental Pathology and Parasitology**, v. 40, n.6, p. 84-86, 2003.

HIPÓLITO, O. et al. Isolamento e identificação do vírus da bronquite infecciosa em galinhas no Brasil. **Arquivo da Escola de Veterinária UFMG**, v.10, p.131-135, 1957.

IGNJATOVIC J.; SAPATS S. Avian infectious bronchitis virus. **Revue Scientifique Et Technique**, v.19, n. 2, p.493-508, 2000.

JACKWOOD, D. J. et al. IBDV: molecular differentiation of antigenic subtypes among serotype 1 viruses. **Avian Diseases**, v.38, p.531-537, 1987.

- KIBENGE, F. S. B.; WILCOX, G. E. Tenosynovitis in chickens. **Veterinary Bulletin**, v. 53, n. 2, p. 431-443, 1983.
- LUKERT, P. D.; SAIF, Y. M. Infectious bursal disease. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 2003. v.1, cap 9, p. 161-179.
- MAPA, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília, 2007. Capturado em 15 de abr. 2007. On-line. Disponível na Internet: <http://www.agricultura.gov.br/pnsa.html>
- NIBERT, M. L.; SCHIFF, L. A., Reoviruses and their replication. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. p.1679-1728, 2001.
- OWOADE A. A., et al. Seroprevalence of avian influenza virus, infectious bronchitis virus, reovirus, avian pneumovirus, infectious laryngotracheitis virus and avian leukosis virus in Nigerian poultry. **Avian Diseases**, v. 50, p. 222-227, 2006.
- ROMERO, C. H. **Manual técnico de diagnóstico virológico em patologias de aves**. Concórdia: Embrapa Aves e Suínos, 1986, p. 63. (Manual técnico).
- ROSENBERGER, J. K. et al. Pathogenicity and antigenic relatedness of several avian reovirus isolates: *in vitro* and *in vivo* characterization of avian reoviruses. **Avian Diseases**, v. 33, p.535-544, 1989.
- RUIZ, E. J. G. et al. A serological survey for avian infectious bronchitis virus and Newcastle disease virus antibodies in backyard (free-range) village chickens in Mexico. **Tropical Animal Health and Production**, v. 32, p. 381-390, 2002.
- UBA, **União Brasileira de Avicultores, relatório anual 2004 – 2005**. Brasília: Charbel, 2006, p. 86. (Boletim Técnico).
- VAN DER BERG, T. P. Acute infectious bursal disease in poultry: a review. **Avian Pathology**, v.29, n.1, p.175-194, 2000.

VOLK, M. Health status of backyard flocks in Slovenia - some preliminary data. **Institute for Poultry Health**, v.11, p.47-50, 2005.

Tabela 1 - Presença de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV) e o vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) em galinhas de terreiro, não-vacinadas, de acordo com o município de coleta no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Municípios	n°. de propriedades	n°. de amostras	Amostras positivas		
			n°. (%)		
			IBV	ARV	IBDV
Agudo	3	43	34 (79,0)	19 (44,2)	37 (86,0)
Capão do Leão	2	44	30 (68,2)	18 (40,9)	34 (77,3)
Casca	4	51	9 (17,6)	7 (13,7)	38 (74,5)
Colorado	2	17	11 (64,7)	5 (29,4)	12 (70,6)
Dezesseis de Novembro	1	21	15 (71,4)	9 (42,9)	16 (76,2)
Faxinal do Soturno	2	21	14 (66,7)	5 (23,8)	19 (90,5)
Formigueiro	2	29	17 (58,6)	5 (17,2)	21 (72,4)
Itaara	3	22	15 (68,2)	4 (18,2)	15 (68,2)
Mata	2	20	12 (60,0)	2 (10,0)	18 (90,0)
Não-Me-Toque	2	38	26 (68,4)	9 (23,7)	29 (76,3)
Nova Palma	3	49	32 (65,3)	1 (2,0)	37 (75,5)
Paraíso do Sul	4	39	31 (79,5)	7 (17,9)	30 (76,9)
Pelotas	1	8	3 (37,5)	0 (0,0)	8 (100,0)
Quarai	2	36	33 (91,7)	12 (33,3)	31 (81,1)
Restinga Seca	2	40	31 (77,5)	9 (22,5)	34 (85,0)
Santa Maria	15	171	108 (63,2)	30 (17,5)	146 (85,4)
São Luiz Gonzaga	1	34	21 (61,8)	13 (38,2)	24 (70,6)
São Pedro do Sul	1	27	23 (85,2)	3 (11,1)	22 (81,5)
São Sepé	2	23	15 (65,2)	1 (4,3)	15 (65,2)
Silveira Martins	3	49	29 (59,2)	10 (20,4)	42 (85,7)
Tapera	2	40	26 (65,0)	14 (35,0)	29 (72,5)
Toropi	1	45	32 (71,1)	4 (8,9)	38 (84,5)
TOTAL	60	867	567 (65,0)	187 (21,6)	695 (80,2)

Foram consideradas positivas as amostras com títulos de anticorpos neutralizantes ≥ 20 .

Tabela 2 - Percentagem de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV) e o vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) em galinhas de terreiro, não-vacinadas, de municípios do RS, Brasil, de acordo com a finalidade e o tipo de criação.

Vírus	Finalidade da criação				Tipo de criação		
	Consumo próprio n=744	Religião n=36	Raças combatentes n=57	Outros n=30	Confinada n=104	Semi-confinada n=248	Vida livre n=515
IBV	65,7	66,7	61,4	63,3	55,8	63,3	68,3
ARV	22,6	11,1	12,3	26,7	18,3	17,7	24,0
IBDV	80,6	80,6	71,9	83,3	69,2	83,9	80,6

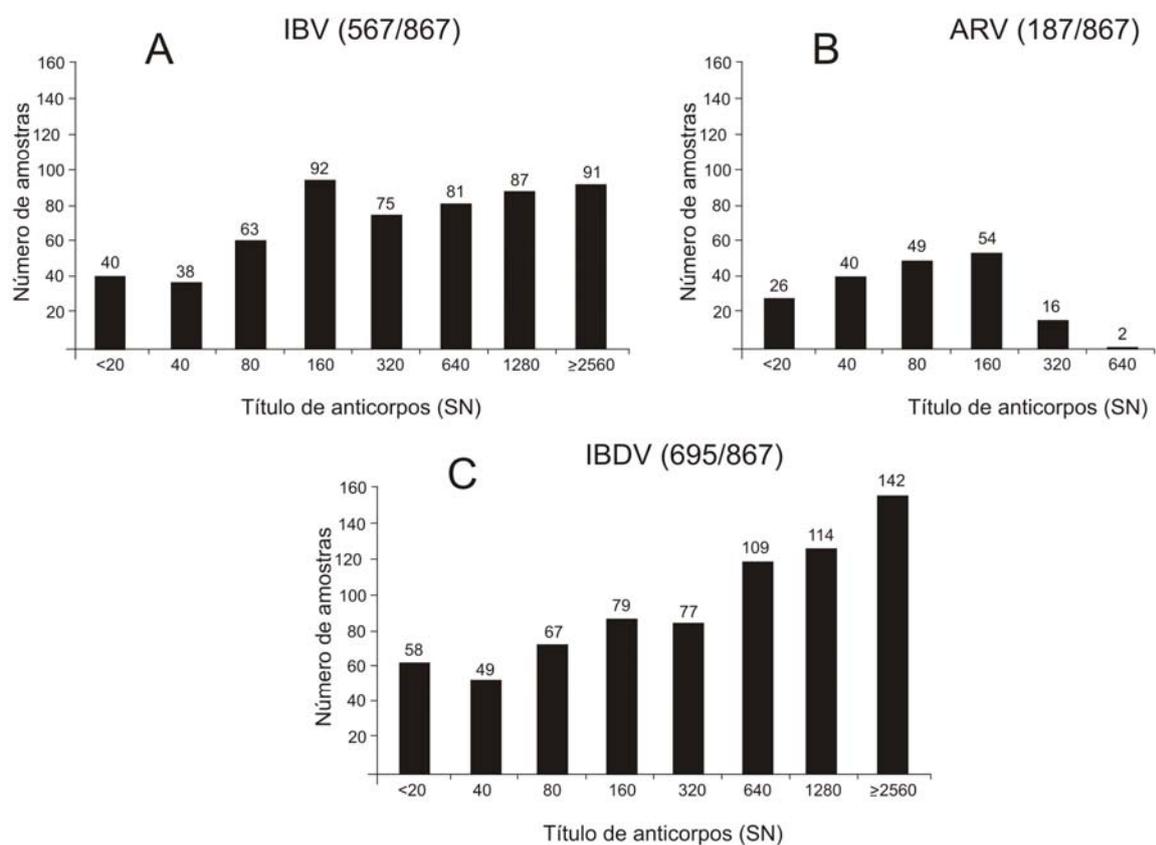


Figura 1. Frequência dos títulos de anticorpos contra: A. vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV); B. reovírus aviário (ARV) e C. vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) em galinhas de terreiro, não-vacinadas do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. SN – soroneutralização.

3. CAPÍTULO 2

Anticorpos contra vírus de aves, identificação e susceptibilidade a antimicrobianos da microbiota de cracídeos cativos no RS, Brasil.

Antibodies to specific virus, microbiota and susceptibility microbial in cracid captive from the Rio Grande do Sul State, Brazil.

Helton Fernandes dos Santos¹, Luciane Terezinha Lovato^{2*}, Maristela Lovato Flôres³ e Valéria Maria Lara Carregaro⁴

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DMP), Centro de Ciências da Saúde (CCS), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. * Autor para correspondência: e-mail: llovato@smail.ufsm.br.

RESUMO

Os jacus, jacutingas, araquãs e mutuns são *Galliformes* silvestres das Américas conhecidos como cracídeos. Com o objetivo de conhecer a microbiota bacteriana e a presença de anticorpos anti-virais nestas espécies de cracídeos, foram coletadas 51 amostras de soro e *swab* cloacal de 10 diferentes espécies cativas do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras de *swab* de cloaca foram submetidas a isolamento e identificação bacteriana e, posteriormente, foi testada a suscetibilidade antimicrobiana dos isolados. Entre as bactérias de 10 diferentes gêneros de 93 isolados de *swab* cloacal, a *Escherichia coli* foi a mais prevalente, seguida do gênero *Staphylococcus* spp. Resistência bacteriana contra pelo menos um antimicrobiano foi detectada em 9 dos 10 gêneros isolados. Apenas a bactéria *Hafnia alvei* foi sensível a todas as drogas testadas. Os isolados de *E. coli* apresentaram 30% de resistência frente aos antibióticos testados, sendo que a maior resistência foi da *Serratia marcescens* com 59%. Bactérias de 8 gêneros apresentaram multi resistência às drogas. Anticorpos neutralizante contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas foram detectados em 5,9% (3/51) das amostras testadas, 15,7% (8/51) contra o reovírus aviário e 35,3% (18/51) contra o vírus da doença infecciosa da bolsa. Todas as amostras foram negativas para o vírus da boubia aviária no teste de imunodifusão em gel de agar (IDGA). O conhecimento da microbiota, resistência bacteriana e da presença de anticorpos contra vírus de aves nessas espécies silvestres, é importante para a implementação de medidas de preservação, assim como para saúde pública e animal.

Palavras-chave: microbiota, resistência, IBV, ARV, IBDV, FPV, *Cracidae*.

ABSTRACT

The guans, chachalacas and curassows are wildlife *Galliformes* of the Americas known as cracids. Fifty one serum samples and cloacal swabs were collected from 10 different species of cracids from Rio Grande do Sul State, Brazil, to obtain information regarding the microbiota and antibodies status to different viruses. The cloacal swab samples were submitted to bacterial isolation, identification and, subsequently; antimicrobial susceptibility profiles evaluation. Bacteria from 10 different genera have been isolated from 93 cloacal swabs. The most prevalent among the isolates was *Escherichia coli*, followed by bacteria from the *Staphylococcus* spp genera. Bacteria resistance to at least one antimicrobial tested was detected in all but one isolate. Only *Hafnia alvei* was found to be sensitive to all drugs tested. The isolates of *E. coli* showed a resistance of 30% to the antimicrobials tested, and the highest level of resistance was observed for *Serratia marcescens* with 59%. Bacteria from eight different genera showed multi-drug resistance. Neutralizing antibodies in the sera were detected in 5.9% (3/51) of the individuals from different species tested against infectious bronchitis virus, in 15.7% (8/51) against avian reovirus and, 35.3% (18/51) against infectious bursal disease virus. All samples were negative for fowlpox virus, as measured by IDGA test. The knowledge about wild birds intestinal microbiota, bacteria resistance and virus infection susceptibility are important to the implementation of preservation measures as well to human and domestic animal health.

Key words: microbiota, resistance, IBV, ARV, IBDV, Fowlpox virus, *Cracidae*.

INTRODUÇÃO

Os cracídeos pertencem à ordem *Galliformes*, família *Cracidae* e estão agrupados em onze gêneros e cinquenta espécies. Fazem parte dessa família as aves conhecidas como jacus, jacutingas, araquãs e mutums (NARDELLI, 1993), sendo que no Brasil são encontradas pelo menos 25 espécies (EVÊNCIO, 2006). Essas aves habitam as florestas neotropicais da América Latina, atuando principalmente na dispersão de sementes; e, algumas das espécies de cracídeos estão ameaçadas de extinção. Por essas razões, e também pelo seu potencial zootécnico, atraem a atenção da comunidade científica e ornitólogos (SICK, 1997).

De acordo com EVÊNCIO (2006), esses galináceos silvestres são suscetíveis a uma variedade de agentes virais, bacterianos, fúngicos e parasitários. Esses agentes podem causar infecções e doenças de acordo com o tipo de manejo, resistência dos animais, virulência da cepa dos patógenos e à própria rusticidade dos cracídeos que são suscetíveis a diversas doenças comumente diagnosticadas nas aves domésticas.

A presença do vírus ou anticorpos contra os vírus que causam doenças em aves domésticas já foi relatada em outras espécies silvestres. Entre esses podem ser citados os vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV), reovírus aviário (ARV), bronquite infecciosa das galinhas (IBV) e vírus da bouba aviária (FPV) (LUKERT & SAIF, 2003).

O IBDV causa lesões principalmente na bursa de aves jovens levando à manifestações clínicas de diarreia e desidratação (NIBERT & SCHIFF, 2001); enquanto artrite e tenossinovite são as manifestações primárias do ARV (GOUVEA & SCHNITZER, 1982). O IBV é o agente etiológico de uma enfermidade aguda e altamente contagiosa, afetando de forma mais acentuada os sistemas respiratório e urogenital (CAVANAGH & NAQI, 2003). Por fim o FPV causa lesões

cutâneas nodulares que, mais raramente, atingem a boca e o trato respiratório superior (LÜSCHOW et al., 2004).

O conhecimento da microbiota intestinal de animais silvestres e a presença de resistência a antimicrobianos é de interesse tanto para a espécie em foco, como para a saúde pública (GILLIVER et al., 1999). A resistência bacteriana de cepas isoladas de seres humanos e de animais domésticos tem sido bastante estudada (LEVY, 2002; HARRISON & LEDERBERG, 1998), mas existem poucas informações disponíveis a respeito da resistência bacteriana associada a animais silvestres (GILLIVER et al., 1999).

A falta de informações sobre a microbiota normal dos cracídeos, a resistência desta aos antimicrobianos regularmente utilizados na saúde humana e animal, e a suscetibilidade destas aves a diferentes agentes virais direcionou este estudo. Com o objetivo de identificar a microbiota aeróbica intestinal de cracídeos, sua resistência a antimicrobianos e a presença de anticorpos no soro contra o vírus IBDV, IBV, ARV e FPV, que o presente estudo foi realizado.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados amostras de *swabs* cloacais e soro de 51 cracídeos, agrupados em 10 espécies (Tabela 1), durante o ano de 2007. Essas aves eram mantidas cativas em cinco criatórios conservacionistas e três zoológicos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil; credenciados pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Os animais estudados apresentavam-se clinicamente sadios e não tinham histórico de vacinação e foram contidos fisicamente. A coleta das amostras foi oficialmente autorizada pelo IBAMA (SISBIO nº. 11629-1) e realizou-se seguindo as normas deste instituto.

A colheita do material para exame microbiológico foi realizada assepticamente, utilizando-se dois *swabs* estéreis por ave, sendo um colocado em solução salina tamponada estéril (10mL) e o outro em caldo tetrionato (10mL). Os *swabs* foram armazenados à temperatura de 4°C e processados em um período inferior a 12 horas. As amostras transportadas em solução salina tamponada foram semeadas diretamente em ágar MacConkey e em ágar sangue de carneiro (5%), incubadas em aerobiose a 37°C com leituras a 24-96 horas. As amostras transportadas em caldo tetrionato foram incubadas a 37°C entre 18 a 24 horas. Após essa pré-incubação, as amostras foram semeadas em ágar Hektoen e incubadas em aerobiose a 37°C com leituras a 24-48 horas. Cada grupo bacteriano foi identificado por características bioquímico-fisiológicas convencionais e por *kits* comerciais (QUINN et al., 1994; KONEMAN et al., 2001).

Após a identificação bacteriana, as cepas isoladas foram submetidas ao teste de susceptibilidade aos antibióticos listados na tabela 2, seguindo a técnica proposta por BAUER et al. (1966) modificada pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002). Para o controle de qualidade utilizaram-se as cepas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella oxytoca* (CCT 0182), *Serratia marcescens* (ATCC 14756), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), e *Staphylococcus* spp. (ATCC 12715). O índice de resistência múltipla aos antibióticos (IRMA) foi calculado conforme metodologia descrita por KRUPERMAN (1983), determinado pela relação entre o número de antimicrobianos que a amostra é resistente e o número total de antimicrobianos testados.

O soro para os testes sorológicos foi obtido através de coleta de sangue da veia ulnar, inativado a 56°C, e armazenado a -20°C até ser testado pela técnica de soroneutralização (SN) para IBV, IBDV e ARV; e com a técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) para FPV. A detecção

de anticorpos contra estes vírus foi realizada conforme a metodologia descrita por ROMERO (1986). As cepas virais Beaudette do IBV, S1133 do ARV e GT-1 do IBDV, assim como o antígeno do FPV, foram cedidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Aves e Suínos (Concórdia, SC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos noventa e três isolados bacterianos a partir das 51 amostras de swab cloacal de aves da família *Cracidae* coletadas no Estado do Rio Grande do Sul. Apenas três amostras provenientes de *Crax fasciolata pinima* (mutum-pinima), *Mitu tuberosa* (mutum-cavalo) e *Ortalis guttata* (araquã) apresentaram resultado negativo ao crescimento bacteriano. Todas as demais amostras apresentaram-se positivas para o crescimento de pelo menos um gênero bacteriano. Dentre os isolados foram identificados 10 diferentes gêneros bacterianos (Tabela 1). A bactéria mais prevalente neste experimento foi a *Escherichia coli*, representando 38,7% do total de isolados, seguida pelas bactérias do gênero *Staphylococcus* (*Staphylococcus* spp. e *S. aureus*) com 26,8% e *Streptococcus* spp. com 13,8%. Os demais isolados estavam distribuídos entre oito gêneros de bactérias.

A *E. coli* é um microrganismo comumente isolado no trato digestório de aves sob condições normais (BARNES & VALLIANCOURT, 2003). Isso pode explicar, pelo menos parcialmente, a elevada prevalência dessa bactéria demonstrada na microbiota intestinal de cracídeos. Assim como ocorreu no presente estudo, a *E. coli* também foi a bactéria mais isolada em diferentes espécies de abetardas, aves silvestres do Reino Unido (D'ALOIA et al., 1996); e em quase 90% das amostras cloacais de aves marinhas doentes que foram tratadas em um centro de reabilitação na Califórnia (STEELE et al., 2005). Além disso, essa bactéria já foi isolada no Brasil em diversos tipos de aves

silvestres como psitacídeos (MATTES et al., 2005) e ratitas (ALMEIDA et al., 2005), entre outras.

Embora a presença da *E. coli* como o principal microrganismo isolado seja esperado este não é o caso em todas as situações. Essa bactéria representou apenas 1% dos isolados bacterianos obtidos a partir de amostras cloacais de 364 *Passeriformes* e pica-paus na costa leste Americana (BRITTINGHAM et al., 1988) e apenas duas de 21 amostras foram positivas para *E. coli* em outro estudo recente realizado em pássaros da espécie *Xanthocephalus xanthocephalus* (graúna-de cabeça-amarela) nos Estados Unidos (GIBBS et al., 2007).

Diferenças na metodologia utilizada em cada estudo poderiam explicar essa discrepância entre os resultados obtidos em diferentes espécies. Entretanto essa é uma bactéria anaeróbica facultativa de fácil cultivo, o que provavelmente indica que os resultados apresentados nas diferentes espécies correspondam à realidade. Nesse caso poderíamos assumir que a *E. coli* nem sempre é a bactéria mais prevalente em qualquer espécie de ave, mas pelos resultados aqui apresentados, é a bactéria mais prevalente no trato intestinal de cracídeos sem considerarmos as bactérias anaeróbicas restritas.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. também são habitantes normais do trato digestório de aves e mais especificamente o *S. aureus* é causa comum de infecções articulares, das membranas sinoviais e ossos (ANDREASEN, 2003). Comparável ao que se observou nesse estudo (Tabela 1), bactérias desse gênero também foram as mais prevalentes em *Passeriformes* e pica-paus (BRITTINGHAM et al., 1988) e na cama de aviários testados nos Estados Unidos (NANDI et al., 2004).

Embora a *E. coli* e as bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. sejam bactérias que representam problemas para a saúde pública como agentes de intoxicações alimentares (ANDREASEN, 2003; BARNES & VALLIANCOURT, 2003), bactérias do gênero *Salmonella* spp.

são mais comumente envolvidas neste processo. Aves silvestres podem servir de reservatórios desta bactéria, como foi observado na Noruega onde um surto de salmonelose em humanos foi associado à aves aquáticas (REFSUM et al., 2002). Por estas razões, realizou-se também a pesquisa destas bactérias nas amostras coletadas de cracídeos. Entretanto nenhuma bactéria desse gênero foi detectada.

As bactérias isoladas foram testadas frente a diferentes antibióticos quanto à sua resistência. Duas diferentes séries de antibióticos específicas para bactérias GRAM positivas e para bactérias GRAM negativas foram utilizadas neste estudo (Tabela 2). Apenas a bactéria *Hafnia alvei* isolada de um *Nothocrax urumutum* (urumutum) foi sensível a todos os antibióticos testados. Os isolados das bactérias: *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter sakazakii* e *Proteus penneri*, apresentaram resistência apenas frente à oxacilina e à penicilina G, o isolado de *Escherichia fergusonii* apenas à ampicilina e o isolado de *Bacillus* spp. somente à oxacilina (dados não apresentados nas tabelas). Os demais isolados apresentaram múltipla resistência frente aos antibióticos testados. O índice de múltipla resistência a antimicrobianos variou entre as bactérias GRAM positivas o maior índice foi do *Streptococcus* spp. (0,44) e entre as GRAM negativas foi da *Serratia marcescens* de 0,59.

Frente a um antibiótico a resistência bacteriana variou de 2,1% para o cloranfenicol, a 79,3% para a penicilina G. Percentagens de resistência de valor igual ou maior a 30% foram observados nas bactérias isoladas de cracídeos frente cefalotina, amicacina, neomicina, tobramicina e oxacilina.

A resistência bacteriana atualmente é um sério problema de saúde pública. A utilização de antimicrobianos em criações industriais de aves e suínos tem sido evidenciada como uma importante fonte de indução de resistência bacteriana (COSTA et al., 2006; PEDROSO et al., 2006). Medidas restritivas para essa utilização foram tomadas pelos países europeus. O real papel desta prática na atual situação de resistência bacteriana é a grande questão que direciona a realização de muitas

pesquisas nesta área (NANDI et al., 2004, GIBBS et al., 2007).

Resultados obtidos em diferentes estudos, como a detecção de genes de resistência no *Enterococcus* spp. de suínos e aves que receberam o antimicrobiano avoparcina na ração na Dinamarca, demonstraram que a utilização destas substâncias estava diretamente relacionada à presença de resistência bacteriana e levaram à proibição do uso desse antimicrobiano em suínos naquele país (AARESTRUP et al., 2001).

Por outro lado, resistência bacteriana tem sido demonstrada também em bactérias comensais de aves e outros animais silvestres que nunca foram tratados com antimicrobianos (LIVERMORE et al., 2001; GIBBS et al., 2007). Detecção de altos índices de resistência em bactérias da microbiota normal tem sido descrito em aves silvestres de várias localizações geográficas (MIDDLETON & AMBROSE, 2005). No Brasil, resistência à pelo menos um antimicrobiano foi observada em 70,2% de 191 amostras de isolados de aves silvestres da mata atlântica, enquanto multi resistência a drogas foi observada em 42% destas amostras (NASCIMENTO et al., 2003).

A população testada neste experimento consistia de animais apreendidos do tráfico pelo IBAMA e que estavam vivendo em criatórios conservacionistas ou zoológicos. A dieta dessas aves consiste de frutas, insetos e ração para aves que é comprada regularmente em agropecuárias. Embora não se possa afirmar que a ração usada neste caso contivesse antibióticos é de conhecimento geral que na sua formulação estão presentes.

Levando-se em consideração que todas as aves coletadas estavam sob este regime alimentar por um período de meses ou anos anteriormente à coleta, não seria impossível que a resistência apresentada pelas diferentes bactérias fosse induzida pela presença de antibióticos na ração. Por outro lado, não possuímos dados suficientes para afirmar de modo categórico que a resistência bacteriana a antibióticos não esteja presente nos indivíduos de vida livre destas espécies que não

tiveram contato com antimicrobianos. Então, pela falta de dados científicos em qualquer uma das situações, não podemos aceitar ou refutar totalmente nenhuma das duas explicações possíveis.

Com o intuito de pesquisar a circulação de vírus de aves na população de cracídeos, foram testadas amostras de soro para detectar a presença de anticorpos contra o IBV, IBDV, ARV, e FPV (Tabela 3). Todas as amostras apresentaram-se negativas à presença de anticorpos específicos contra o FPV no teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA). Entretanto, foram detectadas amostras positivas para a presença de anticorpos neutralizantes contra os demais vírus, sendo que 5,9% (3/51) das amostras foram positivas para o IBV; 15,7% (8/51) contra o ARV e 35,3% (18/51) contra o IBDV.

A bouba aviária deixou de ser um problema para criações industriais, e a vacina tem auxiliado para que esta situação se mantenha; contudo este vírus tem sido isolado em diversas espécies silvestres, com uma frequência maior em passeriformes (HUKKANEN et al., 2003; VAZ et al., 2003). O fato dos cracídeos amostrados não apresentarem anticorpos contra este vírus, enquanto apresentam anticorpos contra os outros vírus testados, é um resultado um tanto quanto inesperado. Principalmente se levarmos em consideração que este vírus é muito resistente no meio ambiente e bastante comum em galinhas não vacinadas (TRIPATHY & REED, 2003).

No outro extremo, a bronquite infecciosa das galinhas é uma das doenças mais importantes para a avicultura industrial (CAVANAGH & NAQI, 2003). Numerosas cepas têm causado doenças dos tratos respiratório e urinário, e miopatias em galinhas, faisões e codornas (REED & JACK, 2003). Nessa pesquisa, foi possível observar que apenas mutuns de um criatório comercial apresentaram anticorpos contra IBV, com títulos variando entre 1/40 a 1/160. Um aspecto relevante neste caso é que estes cracídeos encontravam-se próximos a *Galliformes* domésticos (galinhas, perus e faisões), embora não tivessem contato direto com estas aves.

A maior prevalência geral de anticorpos contra o IBDV (35,3%) foi resultado de uma distribuição também maior das aves soropositivas. Foram detectados anticorpos contra o vírus em nove das dez espécies testadas, com títulos variando entre 1/40 a 1/5120, e todos os criatórios e zoológicos pesquisados possuíam pelo menos uma ave positiva. Embora a galinha seja a única espécie de aves que desenvolve as manifestações clínicas da doença (LUKERT & SAIF, 2003), anticorpos contra o vírus já foram demonstrados em espécies silvestres como os *Aptenodytes patagonicus* (pingüins-rei) da Antártica (CLERC et al., 2002) e faisões (LUKERT & SAIF, 2003).

Apenas com os dados sorológicos não é possível afirmar que os cracídeos tenham importância como fonte de infecção do IBDV para galinhas. Para isto seria necessário realizar o isolamento do vírus e a transmissão deste para galinhas, uma vez que este procedimento demonstrou que cepas do vírus IBDV carregado por perus não foram patogênicas para galinhas (LUKERT & SAIF, 2003). No entanto, é relevante o fato de que houve uma alta prevalência de anticorpos contra o vírus nas espécies testadas, enquanto que outras aves silvestres como *Spheniscus mendiculus* (pingüins-de-galápagos) no Equador (TRAVIS et al., 2006) e *Macronectes giganteus* (petréis-gigantes) na Argentina (UHART et al., 2003) não apresentaram anticorpos específicos contra esse vírus.

Anticorpos contra o ARV foram detectados em quatro espécies de cracídeos de 5 criatórios conservacionistas, com títulos variando entre 1/20 a 1/1280. O ARV, já foi isolado em diversas espécies de aves silvestres, muitas vezes associado a grande mortalidade, como relatado por DOCHERTY (1994) em *Scolopax minor* (becadas americanas) de vida livre, na América do Norte, e por HOLLMEN et al. (2002) em aves aquáticas, na Finlândia. Além do isolamento do vírus, o envolvimento deste na produção de doença nestas aves ficou também evidenciado pelo levantamento sorológico realizado durante o período de mortalidade que demonstrou que 86% delas

apresentavam anticorpos contra o ARV (HOLLMEN et al., 2002). Já em aves silvestres da América do Sul, foi realizada uma soroprevalência em 22 *Rhea americana* (emas) de vida livre na Argentina, e não foi encontrada resposta sorológica contra o ARV (UHART et al., 2006).

Até o momento pouco se conhece da microbiologia e dos microrganismos patogênicos em cracídeos. Os resultados aqui apresentados fornecem informações sobre a microbiota intestinal normal, a resistência desta microbiota à antimicrobianos e a suscetibilidade destas aves aos vírus IBV, IBDV, ARV e FPV. Estas informações poderão ser úteis para o estudo da própria espécie, assim como para o estudo da epidemiologia de vírus e bactérias de aves e também de interesse para a saúde pública.

CONCLUSÕES

Considerando-se os resultados apresentados neste estudo pode concluir que fazem parte da microbiota normal do intestino de cracídeos as bactérias normalmente encontradas na microbiota intestinal de outras aves, ressaltando-se que a *E. coli* é a enterobactéria mais presente, seguida de bactérias do gênero *Staphylococcus* spp.. Além disto, as bactérias presentes no trato intestinal de cracídeos apresentam um alto índice de resistência bacteriana a vários antimicrobianos de uso comum para humanos e animais. Por fim, pode-se concluir também que estas aves são suscetíveis à infecção pelos vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) e reovírus aviário (ARV).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo financiamento, a equipe de virologia aviária da EMBRAPA/CNPQA pelo material e auxílio técnico; a CAPES pela concessão de bolsa ao primeiro autor e ao Setor de Virologia da UFSM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F. M. et al. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.45, n. 7, p.2054 -2059, 2001.

ALMEIDA, R. M. A. et al. **Microbiota of the oropharynx and feces of clinically normal ostriches (*Struthio camellus*): preliminary studies**. Espírito Santo do Pinhal: Boletim em Medicina Veterinária, UNIPINHAL, v. 1, n. 1, 2005 (Boletim Técnico).

ANDREASEN, C. B. Staphylococcosis. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press. Blackwell Publishing Company, 2003. v.1, cap. 24 , p. 798-804.

BARNES, H. J.; VALLIANCOURT, J. P. Colibacillosis. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press. Blackwell Publishing Company, 2003. v.1, cap. 23, p. 775-791.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-96, 1966

BRITTINGHAM, M. C.; TEMPLE, S. A.; DUNCAN, R. M. A survey of the prevalence of selected bacteria in wild birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, n. 2, p. 299 – 307, 1988.

CAVANAGH, D.; NAQI, S. A. Infectious bronchitis. In: CALNEK, B.W. et al. **Diseases of**

Poultry. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 2003. v. 1, cap 3, p. 101-119.

CLERC, M. G. et al. Serological survey of the king penguin, *Aptenodytes patagonicus*, in Crozet Archipelago for antibodies to infectious bursal disease, influenza A and Newcastle disease viruses.

Polar Biology, v. 25, n.4, p. 316 – 319, 2002.

COSTA, M. M. et al. Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 5-8, 2006.

D'ALOIA, M. A. et al. Bacterial flora of captive houbara (*Chlamydotis undulata*), kori (*Ardeotis kori*) and rufous-crested (*Eupodotis ruficrista*) bustards. **Avian Pathology**, v. 25, p. 459 – 468, 1996.

DOCHERTY, D. E. American woodcock (*Scolopax minor*) mortality associated with a reovirus. **Avian Diseases**, v. 38, n. 4, p. 899-904, 1994.

EVÊNCIO, J. N. *Galliformes* (mutum, jacu, jacutinga, aracuã, uru). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; DIAS, J. L. C. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. p. 169-184.

GIBBS P. S. et al. Identification, antimicrobial resistance profiles, and virulence of members from the family *Enterobacteriaceae* from the feces of Yellow-Headed Blackbirds (*Xanthocephalus xanthocephalus*) in North Dakota. **Avian Diseases**, v. 51, p. 649 – 655, 2007.

GILLIVER, M. A. et al. Enterobacteria - Antibiotic resistance found in wild rodents. **Nature**, v. 401, n. 6750, p. 233-234, 1999.

GOUVEA, V.; SCHNITZER, T. J. Pathogenicity of avian reoviruses: examination of six isolates and a vaccines strain. **Infection and Immunity**, v.38, p.731-738, 1982.

HARRISON, P. F.; LEDERBERG, J., **Antimicrobial resistance: issues and opinions**. Washington:

National Academy Press, 1998. 128p.

HOLLMEN, T. et al. Isolation and characterization of a reovirus from common eiders (*Somateria mollissima*) from Finland. **Avian Diseases**, v. 46, n. 2, p. 478-484, 2002.

HUKKANEN, R. R. et al. *Avipox* sp. in a colony of gray-crowned rosy finches (*Leucosticte tephrocotis*). **Comparative Medicine**, v. 53, n. 5, p. 548-552, 2003.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico, texto e atlas colorido**. Rio de Janeiro: MEDSI, 5 ed., 2001, 1465p.

KRUPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied Environmental Microbiology**, v.46, n.1, p.165-170, 1983.

LEVY, S. B. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 49, p. 25 – 30, 2002.

LIVERMORE, D. M. et al. Antibiotic resistance in bacteria from magpies (*Pica pica*) and rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from west Wales. **Environmental Microbiology**. 3, n. 10, p. 658-661, 2001.

LUKERT, P. D.; SAIF, Y. M. Infectious bursal disease. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 2003. v.1, cap 6, p. 161-179.

LÜSCHOW, D. et al. Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. **Avian Diseases**, v.48, p.453–462, 2004.

MATTES, B. R. et al. Influência da biossegurança na colonização instestinal por *Escherichia coli* em psitacídeos. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v.72, n.2, p.13-16, 2005.

MIDDLETON, J. H.; AMBROSE A. Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). **Journal of**

Wildlife Diseases, v. 41, n. 2, p. 334 – 341, 2005.

NANDI, S. et al. Gram-positive bacteria are a major reservoir of class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 18, p. 7118-7122, 2004.

NARDELLI, P. M. **A Preservação do Mutum-deAlagoas (*Mitu mitu*)**. Brasil. Rio de Janeiro: Fundação Jardim Zoológico Riozoo,. 1993. 32p. (Boletim Técnico)

NASCIMENTO, A. M. A. et al. Antibiotic-resistant gram-negative bacteria in birds from the Brazilian Atlantic Forest. **The Condor**, v. 105, p. 358 – 361, 2003.

NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing. **Twelfth Informational Supplement**, v.22, n.1., 2002.

NIBERT, M. L.; SCHIFF, L. A., Reoviruses and their replication. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. p.1679-1728, 2001.

PEDROSO, A. A. et al. Intestinal bacterial community and growth performance of chickens fed diets containing antibiotics. **Poultry Science**, v. 85, n.4, p. 747 – 752, 2006.

QUINN P. Q. et al. **Clinical veterinary microbiology**. London: Wolf, 1994. 648p.

REED, W. M.; JACK, S. W. Quail Bronchitis. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 2003. v.1, cap 3, p. 248.

REFSUM, T. et al. Molecular epidemiology of *Salmonella enterica* 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, 2002.

ROMERO, C. H. **Manual técnico de diagnóstico virológico em patologias de aves**. Concórdia: Embrapa aves e suínos, 1986, p. 63. (Manual técnico).

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 1997.

STEELE, C. M.; BROWN, R. N.; BOTZLER, R. G. Prevalences of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the Pacific Coast of California and Washington, USA. **Journal Wildlife Diseases**, v.41, n.4, °735-744, 2005.

TRAVIS, E. K. et al. Hematology, serum chemistry, and serology of galápagos penguins (*Spheniscus mendiculus*) in the Galápagos Islands, Ecuador. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 42, n.3, p. 625 – 632, 2006.

TRIPATHY, D. N.; REED, W. M. Pox. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 2003. v. 1, cap. 9, p. 253 - 269.

UHART, M. M. et al. Evaluation of the health of free-ranging greater rheas (*Rhea americana*) in Argentina. **Veterinary Record**, v.158, p. 297, 2006.

UHART, M. M. et al. Hematology, plasma biochemistry, and serosurvey for selected infectious agents in southern giant petrels from Patagonia, Argentina. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n.2, p. 359 – 365, 2003.

VAZ, C. S. L. et al. Detecção de avipoxvírus em lesões cutâneas de canários através de Nested-PCR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 12., 2003, Florianópolis, SC. **Anais...** Florianópolis: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2003. v. 6, p.9.

Tabela 1. Gêneros e espécies de bactérias isoladas de *swabs* cloacal de diferentes espécies de cracídeos, mantidos cativos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, durante o ano de 2007.

	<i>Ortalis guttata</i>	<i>Penelope obscura</i>	<i>Penelope superciliaris</i>	<i>Pipile pipile</i>	<i>Pipile jacutinga</i>	<i>Mitu tuberosa</i>	<i>Crax blumenbachii</i>	<i>C. fasciolata fasciolata</i>	<i>C. fasciolata pinima</i>	<i>Nothocrax urumutum</i>	n(%)
	Araquã n = 4	Jacu n = 8	Jacupemba n = 4	Jacupara n = 3	Jacutinga n = 5	Mutum-cavalo n = 17	Mutum-do-sudeste n = 1	Mutum-penacho n = 4	Mutum-pinima n = 3	Urumutum n = 2	
<i>Bacillus</i> spp.	0	0	0	0	1 (20)	0	0	0	0	0	1(1,1)
<i>Escherichia coli</i>	3 (75)*	7 (87,5)	2 (50)	2 (66,7)	3 (60)	12 (70,6)	1 (100)	3 (75)	2 (50)	1 (50)	36(38,7)
<i>Escherichia fergusonii</i>	0	0	0	0	1 (20)	0	0	0	0	0	1(1,1)
<i>Enterobacter sakazakii</i>	0	0	0	0	0	2 (11,8)	0	0	0	0	3(3,2)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	0	0	1 (33,4)	0	2 (11,8)	0	0	0	0	2(2,2)
<i>Edwardsiella tarda</i>	0	0	0	0	0	1 (5,9)	0	0	0	0	1(1,1)
<i>Hafnia alvei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (50)	1(1,1)
<i>Klebsiella</i> spp.	0	1 (12,5)	0	0	0	0	0	0	0	1 (50)	2(2,2)
<i>Klebsiella ozaenae</i>	0	1 (12,5)	0	0	1 (20)	0	0	0	0	0	2(2,2)
<i>Proteus mirabilis</i>	0	1 (12,5)	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1,1)
<i>Proteus penneri</i>	0	0	0	0	1 (20)	2 (11,8)	0	0	0	0	3(3,2)
<i>Serratia marcescens</i>	0	1 (12,5)	0	0	1 (20)	0	0	0	0	0	2(2,2)
<i>Staphylococcus</i> spp	0	0	1 (25)	0	2 (40)	3 (17,7)	0	2 (50)	1 (25)	1 (50)	10(10,7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	2 (25)	0	3 (100)	1 (20)	4 (23,5)	0	2 (50)	1 (25)	2 (100)	15 (16,1)
<i>Streptococcus</i> spp.	0	2 (25)	4 (100)	0	0	7 (41,2)	0	0	0	0	13 (13,8)
Total de isolados	3	15	7	6	11	33	1	7	4	6	93 (100)

* número de amostras (porcentagem)

Tabela 2. Porcentagem de resistência bacteriana frente aos antibióticos testados e índice de resistência múltipla aos antibióticos (IRMA), em colônias isoladas em cracídeos, mantidos cativos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, durante o ano de 2007.

	<i>E. coli</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	<i>K. ozaenae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	Resistência aos antimicrobianos
AMI	27,8	0	0	0	0	50	50	66,7	53,8	35,5
AMO	21,9	0	100	100	50	50	0	0	0	15,8
AMP	18,7	0	100	100	50	50	0	-	16,7	20,3
CFE	36,1	0	100	0	50	100	0	18,2	66,7	30
CIP	2,8	0	0	0	0	50	0	6,7	7,7	4,3
CLO	0	0	0	0	0	0	0	-	7,7	2,1
GEN	15,2	0	-	0	0	50	33,3	46,7	70	27
IPM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NEO	55,5	33,4	0	0	0	100	10	28,6	46,1	36,9
OXA	67,7	33,4	100	100	50	100	71,4	57,1	83,3	67,1
PEN	96,7	100	100	100	100	100	55,5	66,7	61,5	79,3
POL	-	-	-	-	-	-	100	100	100	100
TOB	-	-	-	-	-	-	40	83,4	72,7	58,1
IRMA	0,30	0,15	0,5	0,36	0,27	0,59	0,27	0,42	0,44	-

AMI – ampicacina (30mcg), AMO – amoxicilina (10mcg), AMP – ampicilina (10mcg), CFE – cefalotina (30mcg), CIP – ciprofloxacino (5mcg), CLO – clorafenicol (30mcg), GEN – gentamicina (10mcg), IPM – imipinem (10mcg), NEO – neomicina (30mcg), OXA – oxacilina (1mcg), PEN – penicilina G (10 unid), POL – polimicina B (300 unid), TOB – tobramicina (10mcg).

Tabela 3 - Prevalência de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV), reovírus aviário (ARV), vírus da doença infecciosa da bolsa (IBDV) e vírus da bouba aviária (FPV) em cracídeos cativos, de criatórios e zoológicos do RS, Brasil, durante o ano de 2007.

Nome vulgar	Nome científico	Soroneutralização			IDGA*
		IBV	ARV	IBDV	FPV
Araquã	<i>Ortalis guttata</i>	0/4	0/4	3/4	0/4
Jacu	<i>Penelope obscura</i>	0/8	2/8	3/8	0/8
Jacupemba	<i>Penelope supercilialis</i>	0/4	0/4	1/4	0/4
Jacupara	<i>Pipile pipile</i>	0/3	0/3	1/3	0/3
Jacutinga	<i>Pipile jacutinga</i>	0/5	2/5	1/5	0/5
Mutum-cavalo	<i>Mitu tuberosa</i>	2/17	2/17	4/17	0/17
Mutum-do-sudeste	<i>Crax blumenbachii</i>	0/1	0/1	1/1	0/1
Mutum-penacho	<i>Crax fasciolata fasciolata</i>	1/4	0/4	2/4	0/4
Mutum-pinima	<i>Crax fasciolata pinima</i>	0/3	2/3	2/3	0/3
Urumutum	<i>Nothocrax urumutum</i>	0/2	0/2	0/2	0/2
Total		3/51	8/51	18/51	0/51

*Imunodifusão em gel de ágar

4. CONCLUSÕES

Anticorpos contra o IBV, ARV e IBDV, estão presentes na população de galinhas de terreiro e cracídeos cativos no Estado do Rio Grande do Sul.

Anticorpos contra IBDV foram os mais prevalentes e altos títulos foram detectados em ambas populações.

As populações de galinhas de terreiro e de cracídeos estão susceptíveis a infecções por IBDV, IBV e ARV. Esses vírus estão distribuídos nessas populações, representando risco para a produção industrial avícola.

A *E. coli* e *Staphylococcus* spp. foram as bactérias mais prevalentes em *swabs* cloacais de diversas espécies de cracídeos mantidos em cativeiro nos criatórios conservacionistas e zoológicos do Estado.

O isolado de *Hafnia alvei* não apresentou resistência antimicrobiana e o isolado de *Serratia marcescens* (0,59) apresentou o maior índice de resistência múltipla aos antibióticos testados. Este índice foi de 0,30 para *E. coli*, de 0,35 para bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. e de 0,44 para *Streptococcus* spp.

Todas as bactérias isoladas foram sensíveis ao imipinem (10mcg), e a penicilina G (10unid.) foi o antimicrobiano contra o qual o maior número de isolados apresentou resistência (79,3%).

5. REFERÊNCIAS

- BROOKS, D. M.; STRAHL, S. D. **Curassows, Guans and Chachalacas**. Switzerland: SSC Cracid Specialist Group, 2002. 2 ed., 146 p.
- CAVANAGH, D.; NAQI, S. A. Infectious bronchitis. In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 2003. a.11, v. 1, cap. 3, p. 101-119.
- DI FABIO, et al. Very virulent IBD spreads to South America. **World Poultry Journal**, v.15, p.88-91, 1999.
- DOBBIN, G. et al. Bacterial flora of free-living Double-crested cormorant (*Phalacrocorax auritus*) chicks on Prince Edward Island, Canada, with reference to enteric bacteria and antibiotic resistance. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**. v. 28, p. 71 – 82, 2005.
- JONES, R. C. Avian reovirus infections. International Office of Epizootics: **Revue Scientifique et Technique**. v.19, p. 614-625, 2000.
- KING D. J.; CAVANAGH, D. Infectious bronchitis In: CALNEK, B. W. et al. **Diseases of Poultry**. Iowa State Press: Blackwell Publishing Company, 1991, v. 1, cap. 3, p. 101-119.
- MIDDLETON, J. H.; AMBROSE A. Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, n. 2, p. 334 – 341, 2005.
- MILLS, T. K.; LOMBARDO M.P.; THORPE, P.A. Microbial colonization of the cloacae of nestling tree swallows. **The Auk**. v. 116, p. 947 – 956, 1999.
- NIBERT, M.L.; SCHIFF, L.A., Reoviruses and their replication. In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. p.1679-1728, 2001.
- REFSUM, T. et al. Molecular epidemiology of *Salmonella enterica* 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, 2002.

RESENDE, J.S. **Genotipificação e filogenia de isolados de vírus oriundos de surtos de bronquite infecciosa das galinhas na avicultura industrial do Estado de Minas Gerais, Brasil, no período entre 1972 e 1989**. 2003. 163f. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

ROMERO, C. H. et al. Ocorrência de anticorpos para vírus aviários em frangos de corte em região de intensa produção avícola. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 9, n.1, p.1-7, 1989.

ROSENBERGER, J.K. et al. Pathogenicity and antigenic relatedness of several avian reovirus isolates: *in vitro* and *in vivo* characterization of avian reoviruses. **Avian Diseases**, v. 33, p.535–544, 1989.

SEDAGHATKISH, G. **The importance of seed dispersers in the conservation of useful wild plant species: a case study of the avian family *Cracidae***. 122f. Dissertação (Mestrado) - College Park, University of Maryland,. 1996.

SMITH, J. L. et al. Impact of antimicrobial usage on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* strains colonizing broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73, n.5, p.1404-1414, 2007.

TANIMURA, N.; SHARMA, J.M. Appearance of T cells in the bursa of Fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. **Avian Diseases**. v.41, p.638-645, 1997.

TESSARI, E. N. C.; et al. Ocorrência da doença de gumboro em aves de postura causadas por cepas hipervirulentas. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**. v.68, n.1, p.115-117, 2001.

TSUBOKURA, M., et al. Drug resistance and conjugative R plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from migratory waterfowl. **Journal Wildlife Diseases**. v. 31, p. 352-357, 1995.

VASCONCELOS, S. B. S. et al. Lesões articulares em frangos de corte (*Gallus gallus*) na infecção experimental pelo reovírus aviário. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. V. 38, p. 80-83, 2001.

VILLEGAS, P. Control de reacciones respiratorias. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 16., 1997, México. **Anais...** México: 1997. p.388-391.