

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

**OCORRÊNCIA DE *Chlamydia psittaci* EM AVES DE VIDA LIVRE EM  
ÁREA DO BIOMA MATA ATLÂNTICA, BAHIA**

**GABRIELA SOUZA MORAES**

Salvador – BA

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

**ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

**OCORRÊNCIA DE *Chlamydia psittaci* EM AVES DE VIDA LIVRE EM  
ÁREA DO BIOMA MATA ATLÂNTICA, BAHIA**

**GABRIELA SOUZA MORAES**

**Médica Veterinária**

Salvador – BA

2020

**GABRIELA SOUZA MORAES**

**OCORRÊNCIA DE *Chlamydia psittaci* EM AVES DE VIDA LIVRE EM  
ÁREA DO BIOMA MATA ATLÂNTICA, BAHIA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos da Universidade Federal da Bahia, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Franke

Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Lustosa Brito

**Salvador – Bahia**

**Agosto - 2020**

Dados internacionais de catalogação-na-publicação  
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Moraes, Gabriela Souza.

Ocorrência de *Chlamydia psittaci* em aves de vida livre em área do bioma Mata Atlântica, Bahia / Gabriela Souza Moraes. - 2020.  
62 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Franke.

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Lustosa Brito.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2020.

1. Epidemiologia veterinária. 2. Aves - Mata Atlântica. 3. Aves - Doenças - Epidemiologia. 4. Doenças transmissíveis em animais. 5. Clamidioses. 6. Psitacose. 7. Zoonoses. I. Franke, Carlos Roberto. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.08981

CDU - 636.2:598.2(81)

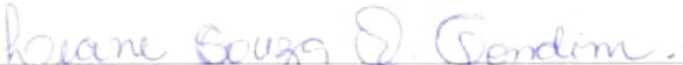
Ocorrência de *Chlamydia psittaci* em aves de vida livre em área do Bioma Mata Atlântica, Bahia

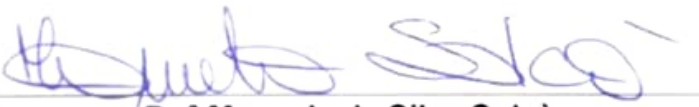
Gabriela Souza Moraes

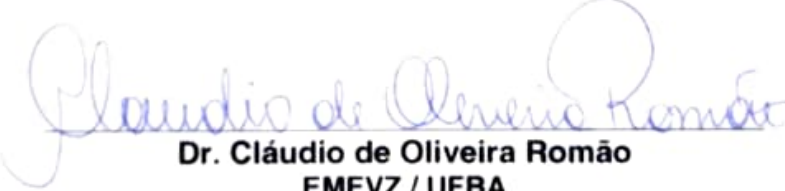
Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de  
Mestra em Ciência Animal nos Trópicos


Salvador, 28 de fevereiro de 2020

Comissão examinadora:

  
Dr.ª Leane Souza Queiroz Gondim  
HOSPMEV

  
Dr.ª Manuela da Silva Solcà  
EMEVZ / UFBA

  
Dr. Cláudio de Oliveira Romão  
EMEVZ / UFBA

  
Dr. Carlos Roberto Franke  
Orientador  
EMEVZ / UFBA

## AGRADECIMENTOS

Às instituições e às pessoas que contribuíram de alguma forma para a elaboração desta dissertação, eu agradeço:

À CAPES, pela concessão da bolsa de auxílio financeiro.

À minha comissão de orientação, Franke e Ricardo, pela oportunidade de aprendizado e crescimento profissional.

Ao LBCM – UFBA e ao Laboratório de Ecopatologia de Aves – USP, especialmente a professora Tânia Raso e Catalina pelos ensinamentos e pelas contribuições ao trabalho.

A todos que me ajudaram direta e indiretamente nos dias de campo, especialmente à Pedro Lima, João, Caio, Giulianna, Luciano, Jurandir e Fernando; e na estadia em São Paulo, agradeço a Rosana, Almir e Rafael.

As minhas colegas, Leila e Nara, pela amizade e parceria desde a graduação e agora no mestrado; e a todos os amigos e familiares que me ajudaram e apoiaram nesse processo.

Finalmente, agradeço a minha mãe, Guiomar, pelo apoio e amor incondicional desde que começamos essa jornada de trabalho e sempre.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

“This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001”.

## RESUMO

MORAES, G. S. **Ocorrência de *Chlamydia psittaci* em aves de vida livre em área do Bioma Mata Atlântica, Bahia.** Salvador, Bahia, 2019. 62f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2019.

*Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) é o agente etiológico de uma zoonose altamente infecciosa que acomete principalmente aves das ordens Psittaciformes e Columbiformes, apesar de já ter sido descrita em mais de 467 espécies de aves domésticas e de vida livre, no mundo. A maioria dos casos humanos foram relatados em associação com a presença de aves, sendo considerada uma das principais zoonoses que tem aves como fonte de infecção. Foi avaliada a frequência de infecção por *C. psittaci*, em diferentes espécies da avifauna de Mata Atlântica na região da Serra da Jiboia, Bahia, Brasil, onde foram capturadas 111 aves pertencentes às ordens Passeriformes (89), Columbiformes (7), Apodiformes (6), Caprimulgiformes (4), Psitaciformes (3), Galbuliformes (2), de 55 espécies diferentes. Foram coletados *swabs* de cloaca e orofaringe, para diagnóstico molecular de *Chlamydia* por meio de *pool* de amostras de cada espécime. O estudo revelou que a *C. psittaci* tem hospedeiros aviários de vida livre, com seis espécimes positivas para *Chlamydia* sp. (5,40%, 6/111) e desses, dois indivíduos (*Myiophobus fasciatus* e *Ceratopipra rubrocapilla*), foram positivos para *C. psittaci* (33,33%, 2/6) representando 1,80% (2/111) da população total estudada. A presença da bactéria nessa população de avifauna confirma a circulação do agente em vida livre e a necessidade de mais estudos sobre a disseminação de *Chlamydia* no Bioma de Mata Atlântica e suas possíveis interações com aves cativas e criações de aves domésticas existentes nas áreas rurais que circundam a floresta.

**Palavras-chave:** *Chlamydia* sp., clamidiose, psitacose, zoonose, avifauna, PCR.

## ABSTRACT

MORAES, G. S. **Occurrence of *Chlamydia psittaci* in free-living birds in an area of the Atlantic Forest Biome, Bahia.** Salvador, Bahia, 2019. 62f. Dissertation (Master in Animal Science in the Tropics) - School of Veterinary Medicine and Zootechnics - Federal University of Bahia, 2019.

*Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) is the etiologic agent of a highly infectious zoonosis that mainly affects birds of the orders Psittaciformes and Columbiformes, although it has already been described in more than 467 species of domestic and free-living birds in the world. Most human cases have been reported in association with the presence of birds, being considered one of the main zoonoses that has birds as a source of infection. The frequency of infection by *C. psittaci* was evaluated in different species of Atlantic Forest birds in the Serra da Jiboia region, Bahia, Brazil, where 111 birds belonging to the orders Passeriformes (89), Columbiformes (7), Apodiformes (6), Caprimulgiformes (4), Psittaciformes (3), Galbuliformes (2), of 55 different species. Cloaca and oropharynx *swabs* were collected for the molecular diagnosis of *Chlamydia* by means of a sample *pool* of each specimen. The study revealed that *C. psittaci* has free-living avian hosts, with six specimens positive for *Chlamydia* sp. (5.40%, 6/111) and of these, two individuals (*Myiophobus fasciatus* and *Ceratopipra rubrocapilla*), were positive for *C. psittaci* (33.33%, 2/6) representing 1.80% (2/111) of total population studied. The presence of the bacteria in this avifauna population confirms the circulation of the agent in the wild and the need for further studies on the spread of *Chlamydia* in the Atlantic Forest Biome and its possible interactions with captive birds and poultry breeding in the surrounding rural areas. the forest.

**Keywords:** *Chlamydia* sp., Chlamydiosis, psittacosis, zoonosis, avifauna, PCR.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
1 INTRODUÇÃO .....	08
2 HIPÓTESE .....	09
3 OBJETIVOS .....	09
4 REVISÃO DE LITERATURA .....	10
4.1 Histórico .....	10
4.2 Etiologia .....	11
4.3 Epidemiologia .....	16
4.3.1 Epidemiologia em aves de vida livre .....	16
4.3.2 Epidemiologia em aves de cativeiro .....	19
4.3.3 Patogenia .....	21
4.4 Diagnóstico .....	23
4.4.1 Isolamento .....	24
4.4.2 Sorologia .....	25
4.4.3 Biologia molecular .....	26
4.5 Tratamento .....	28
4.6 Prevenção e controle .....	30
4.7 Saúde única .....	30
4.8 Características da avifauna da Serra da Jiboia e da Reserva Jequitibá .....	31
5 MATERIAL E MÉTODOS .....	32
5.1 Área de estudo .....	32
5.2 Captura das aves e coleta de material .....	33
5.3 Diagnóstico molecular de <i>C. psittaci</i> .....	35
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
7 CONCLUSÕES .....	45
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46
9 APÊNDICES .....	55
10 ANEXOS .....	59

## 1 INTRODUÇÃO

*Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) é um patógeno bacteriano intracelular obrigatório, de distribuição mundial, que infecta principalmente aves mas pode acometer mamíferos, silvestres e domesticados, humanos, répteis, anfíbios e peixes (BOREL, et al., 2018; KALMAR, et al., 2014; SACHSE, et al. 2015). As ordens Psitaciforme e Columbiforme (Classes: Aves) apresentam maior frequência de infecção por *C. psittaci* (HARKINEZHAD, et al., 2009; AAZIZ, et al. 2015).

Aves de cativeiro e de vida livre podem atuar como reservatórios de infecção (LEMUS, et al., 2010; KALMAR, et al., 2014). *C. psittaci* é tipicamente transmitida através de inalação de aerossóis de secreções respiratórias aviárias ou fezes secas (HARKINEZHAD, et al., 2009). Pessoas que mantêm contato direto com aves, a exemplo de veterinários, biólogos e tratadores de zoológicos ou centros de triagem e reabilitação, estão mais expostas à infecção por *C. psittaci* (VANROMPAY, et al., 1995; GOSBELL, et al., 1999; READ, et al., 2013).

A apresentação clínica em aves pode incluir dispneia, diarreia, hepatite, esplenite, definhamento e morte, ou causando infecção assintomática (BOMMANA e POLKINGHORNE, 2019; BRANLEY, et al., 2016). Infecções crônicas são comuns, onde as aves podem eliminar *Chlamydia* de forma intermitente sem expressarem sinais clínicos até passarem por uma fase de estresse (HARKINEZHAD, et al., 2009; SACHSE, et al., 2009). A infecção por *C. psittaci*, além de impactar na saúde das populações de aves de vida livre, representa também um problema de saúde pública na medida que as aves infectadas podem atuar como reservatório da bactéria, contribuindo para sua disseminação no ambiente natural e no meio humano (KRAWIEC, et al., 2015; BURNARD e POLKINGHORNE, 2016).

Em vista do reduzido número de publicações que relacionem a ocorrência de *C. psittaci* em populações de aves de vida livre no Brasil, o presente trabalho se dedicou à analisar a ocorrência de infecção por *C. psittaci*, em diferentes espécies da avifauna na área do Bioma Mata Atlântica na região da Serra da Jiboia, Bahia, Brasil, proporcionando subsídios para avaliar a abrangência de sua disseminação entre as espécies de aves e o possível risco como potencial zoonótico no âmbito da saúde única.

## **2 HIPÓTESE**

A infecção por *C. psittaci* ocorre em aves de vida livre de diferentes espécies em área do Bioma Mata Atlântica no Estado da Bahia.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo geral**

Levantar a presença de infecção por *C. psittaci* em aves de vida livre em área do Bioma Mata Atlântica situada na Serra da Jiboia, Bahia, Brasil.

### **3.2 Objetivos específicos**

3.2.1 Descrever a diversidade de aves de vida livre por meio de inventário em uma Área de Proteção Ambiental e no seu entorno, na Serra da Jiboia;

3.2.2 Investigar a ocorrência de infecção por *C. psittaci* em avifauna inventariada em observação aos locais de captura, hábitos das espécies e contribuições sobre a epidemiologia do patógeno.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Histórico

Acredita-se que a origem da clamidiose (infecção causada por *Chlamydia* spp.), seja a América do Sul, onde as florestas tropicais são povoadas com diversas espécies de psitacídeos. Existem relatos de que o contato próximo com essas aves e seus produtos, como penas, podem levar a uma doença descrita por Fra. Bartolomeo, um dominicano enviado ao Peru em 1615, como uma “praga caracterizada por febre, mal-estar e sonolência, mais predominante no inverno, acometendo principalmente mulheres grávidas e podendo levar à morte” (BELMAS, 1714 apud POSPISCHIL, 2009).

Em 1879, Jakob Ritter, publicou uma primeira descrição detalhada da doença, onde identificou que aves recentemente importadas dos trópicos eram a fonte da infecção. Ele relatou uma epidemia com vítimas fatais, causadas por papagaios e outras aves silvestres mantidas em cativeiro. Mais tarde, em 1895, o termo psitacose, derivado da palavra grega *psittakus*, foi aplicado pela primeira vez (MORANGE, 1895 apud POSPISCHIL, 2009). Em aves não pertencentes à ordem Psitaciformes, a doença foi chamada de ornitose (VANROMPAY, 1995).

Anos depois, em 1930, Levinthal, Coles e Lillie, de forma independente mas quase que simultaneamente, descreveram sobre pequenos corpos filtráveis em amostras de sangue e tecidos de aves infectadas e em pacientes humanos, que ficaram conhecidos por corpúsculos de inclusão ou corpos de Levinthal-Coles-Lilie (MEYER e EDDIE, 1933). Em 1932, foi identificado e relatado pela primeira vez o ciclo de desenvolvimento intracelular bifásico da *Chlamydia*, com um “corpo elementar” e um “corpo reticular”. Os autores a descreveram como “um parasita intracelular obrigatório com afinidades bacterianas” (BEDSON e BLAND, 1932).

Acreditava-se que a clamidiose infectava e era transmitida apenas por aves e principalmente por psitacídeos. Na década de 1940, a enfermidade foi descrita em pombos, patos, perus e aves domésticas, evidenciando a importância econômica e ocupacional da doença (VANROMPAY, 1995).

### 4.2 Etiologia

A clamidiose, popularmente conhecida como psitacose ou ornitose, é uma zoonose cujo agente etiológico é a bactéria atualmente classificada como pertencente ao gênero *Chlamydia*, família Chlamydiaceae, ordem Chlamydiales e filo Chlamydiae, denominada *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*). É uma bactéria Gram-negativa e intracelular obrigatória. A doença é altamente infecciosa e acomete principalmente aves das ordens Psittaciformes e Columbiformes, apesar de já ter sido descrita em mais de 467 espécies de aves domésticas e de vida livre, no mundo (KALETA e TADAY, 2003; SACHSE, 2015). A maioria dos casos humanos foram relatados em associação com a presença de aves, sendo considerada uma das principais zoonoses que tem aves como fonte de infecção (RASO, 2014).

Em 1999, EVERETT e colaboradores, com base na análise do RNA ribossômico (rRNA), propuseram subdividir a família Chlamydiaceae em dois gêneros, *Chlamydia* (*C.*) e *Chlamydophila* (*Cp.*) e dividir ainda mais as espécies geneticamente heterogêneas de *C. trachomatis* e *C. psittaci* em três e quatro espécies, respectivamente. Esta revisão resultou na definição de nove espécies, *C. trachomatis*, *C. muridarum* e *C. suis*, além de *Cp. abortus*, *Cp. caviae*, *Cp. felis*, *Cp. pecorum*, *Cp. pneumoniae* e *Cp. psittaci*.

Em 2014, SACHSE e colaboradores, descreveram duas novas espécies de *Chlamydia*, a *C. avium* e a *C. gallinacea*. As aves são os únicos hospedeiros conhecidos das cepas identificadas até o momento de *C. avium*, sendo também relatada em pombos e psitacídeos. As cepas de *C. gallinacea* identificadas até o momento, têm como hospedeiros galinhas e perus e possivelmente outras aves domésticas. BOREL, et al. (2018), sugere que *C. gallinacea* deve ser considerado um patógeno aviário com potencial para infectar humanos e outros animais. O potencial zoonótico de *C. avium* é desconhecido.

A subdivisão da família nos dois gêneros *Chlamydia* e *Chlamydophila* foi discutida de forma controversa durante a última década. SACHSE e outros autores em 2015 estudaram a classificação taxonômica atual à luz de dados genômicos recentes e no contexto das propriedades biológicas únicas desses microrganismos. Concluíram que nem a análise genética dos genes 16S e 23S de rRNA usados, nem os parâmetros baseados na similaridade genômica separaram consistentemente os dois gêneros. Notadamente, nenhum fenótipo é facilmente identificável, como a preferência do hospedeiro ou tropismo tecidual, que suportaria uma subdivisão. Portanto, eles propuseram a classificação de todas as espécies da família Chlamydiaceae reconhecidas, em um único gênero, o gênero *Chlamydia*. Então, o gênero *Chlamydia*, compreende doze espécies reconhecidas atualmente, estando representadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Espécies descritas atualmente pertencentes ao gênero *Chlamydia* e seus respectivos hospedeiros, sítios de infecção e potencial zoonótico.

<b>Espécie</b>	<b>Hospedeiro natural</b>	<b>Outros hospedeiros</b>	<b>Sítios de infecção</b>	<b>Potencial zoonótico</b>
<i>C. abortus</i>	Ovinos e caprinos	Bovinos e suínos	Genital e respiratório	Sim
<i>C. avium</i>	Pombos e papagaios	-	Gastrointestinal e respiratório	Não
<i>C. caviae</i>	Porquinho-da-índia	Cavalos	Ocular e genital	Sim
<i>C. felis</i>	Gatos	-	Ocular e respiratório	Sim
<i>C. gallinacea</i>	Galinhas	Aves de produção	Respiratório	Sim
<i>C. muridarum</i>	Roedores	-	Respiratório e gastrointestinal	Não
<i>C. pecorum</i>	Bovinos e coala	Ovinos, caprinos e suínos	Nervoso, gastrointestinal, respiratório e urogenital	Não
<i>C. pneumoniae</i>	Cavalos, coala e humanos	Anfíbios e répteis	Ocular, respiratório e cardiovascular	Não
<i>C. psittaci</i>	Aves	Mamíferos	Ocular, respiratório e gastrointestinal	Sim
<i>C. suis</i>	Suínos	Ruminantes	Ocular, respiratório gastrointestinal e genital	Sim
<i>C. trachomatis</i>	Humanos	-	Ocular e genital	Sim
<i>C. buteonis</i>	Aves rapinantes	-	Ocular e respiratório	-

Fonte: Adaptado de SACHSE, *et al.*, 2015; BOREL, *et al.*, 2018 e LAROUCAU, *et al.*, 2019.

A espécie *C. buteonis* foi recentemente descrita por LAROUCAU *et al.*, em 2019, como sendo uma cepa que ocorre em aves de rapina na Europa e América do Norte. O agente foi isolado do tecido da conjuntiva e de conteúdo da cloaca. Dos casos diagnosticados, em duas espécies de ave (*Buteo lineatus* e *Buteo jamaicensis*), foi manifestado um quadro de conjuntivite e/ou sinais respiratórios, ou pelo menos ser um fator contribuinte para essas manifestações clínicas. O potencial zoonótico para humanos ainda é desconhecido. É sugerido que aves de rapina e predadores oportunistas podem ser infectadas *per os* por várias espécies de clamídia, podendo resultar na emergência de novas espécies por eventos de recombinação (BOREL, *et al.*, 2018).

Através do uso de anticorpos monoclonais, é possível classificar as cepas de *C. psittaci* em sorotipos, com base nas variações na proteína principal de membrana externa (MOMP). Os

sorotipos possuem genótipos correspondentes identificados por meio de técnicas de biologia molecular por análise do gene da proteína de membrana externa A (*ompA*) e possuem relativa especificidade quanto ao hospedeiro (RASO, 2014; READ, et al., 2013). Então, atualmente, são aceitos oito sorotipos, sendo seis sorotipos aviários (A – F) e dois acometendo mamíferos (WC e M56), representados na Tabela 2. O sorotipo A parece ser endêmico entre os psitacídeos, causando infecção sistêmica. O sorotipo B tem maior importância em pombos, mas já foi identificado também em outras espécies de aves. O sorotipo C é isolado principalmente de patos e gansos e o D principalmente de perus, representando importante risco zoonótico à indústria de aves de produção. O sorotipo E é geralmente associado a pombos, mas também acomete perus, patos, avestruz e emas e já esteve envolvido em doença ocupacional em funcionários de granjas e de abatedouros avícolas. O sorotipo F é isolado principalmente de periquitos e perus. As variantes de mamíferos, WC e M56, já foram descritas em bovino e rato-almiscarado, respectivamente (LÚJAN-VEJA, et al., 2018; MINA, et al., 2019).

Quanto aos genótipos, além dos oito equivalentes aos sorotipos, também é reconhecido o genótipo E/B que não possui sorotipo equivalente por não ser possível sua caracterização sorológica (GEENS, et al., 2005). Análises na sequência do gene *ompA* têm revelado uma grande diversidade genética dentro da espécie *C. psittaci* e novos genótipos vêm sendo descritos na literatura (SASCHE, et al., 2009; SASCHE, et al., 2015).

Tabela 2 – Sorotipos e genótipos conhecidos de *C. psittaci*.

Sorotipo	Genótipo	Potencial zoonótico
A	A	Sim
B	B	Sim
C	C	Sim
D	D	Sim
E	E	Sim
F	F	Sim
WC	G	Sim
M56	H	Sim
-	E/B	Sim

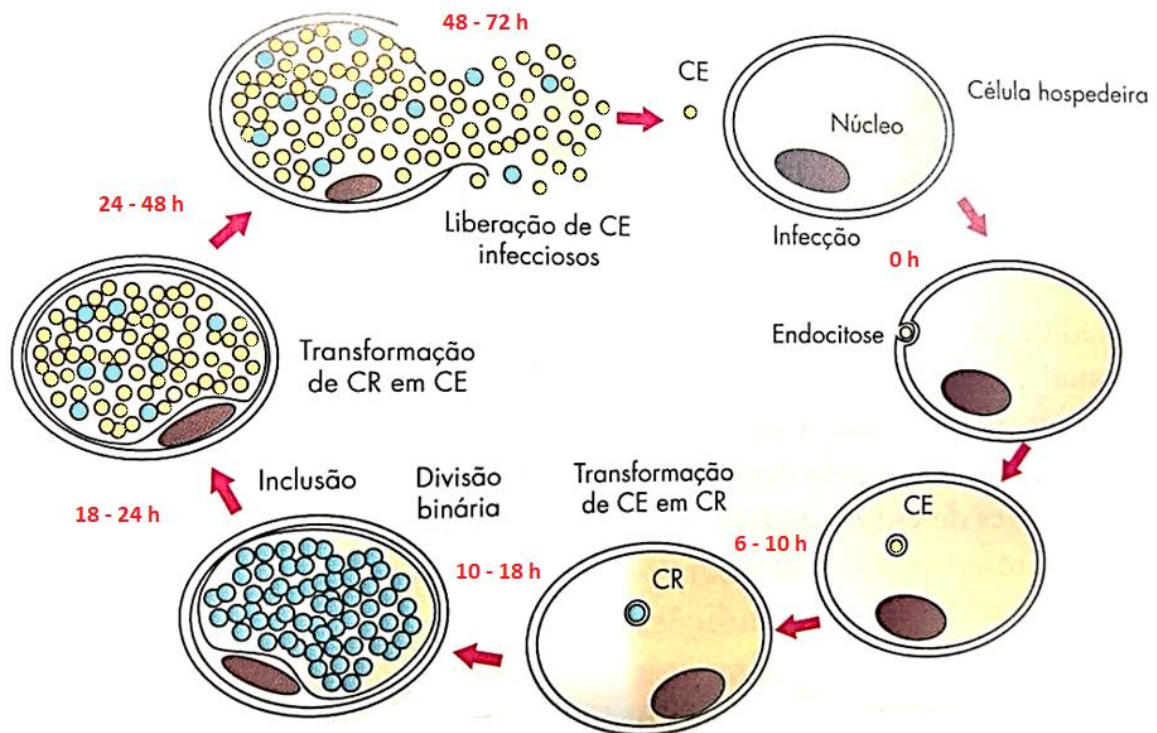
Fonte: STEWARDSON e GRAYSON, 2010.

Todos os sorotipos de *C. psittaci* são potencialmente transmissíveis aos humanos (MINA, et al., 2019), onde diferem apenas quanto à virulência e à patogenicidade, podendo o mesmo hospedeiro (aviário ou humano) apresentar infecções concomitantes por diferentes sorotipos (HARKINEZHAD, et al., 2009; SACHSE, et al., 2009).

As clamídias apresentam ciclo de desenvolvimento bifásico característico, com duas morfologias e funções distintas: o corpo elementar (CE) e o corpo reticular (CR). O CE é a forma extracelular, infecciosa e metabolicamente inativa, é esférico, denso, imóvel e pequeno (0,2 a 0,3  $\mu\text{m}$  de diâmetro). O CR é a forma intracelular, não infecciosa, com metabolismo ativo, parede fina e flexível, com 0,6 a 1,5  $\mu\text{m}$ . O CE garante a sobrevivência extracelular do microrganismo e a infecção na célula hospedeira; já o CR é responsável pela replicação intracelular e produção de novos CE infecciosos. Ambos têm membrana externa semelhante à de algumas bactérias Gram-negativas, composta de fosfolipídios, lipídios, lipopolissacarídeos (LPS) e proteínas (RASO, 2014).

O ciclo de desenvolvimento começa com os corpos elementares aderindo à superfície das células epiteliais da mucosa do hospedeiro, penetrando por endocitose (Figura 1). Após a entrada na célula hospedeira, o CE desenvolve-se dentro de um vacúolo endocítico (pequenas inclusões intracitoplasmáticas) e, no seu interior, diferencia-se em CR se replicando por divisão binária. Como o CR não tem capacidade de produzir fosfatos de alta energia, ele parasita a mitocôndria da célula hospedeira, extraindo a energia necessária para o seu crescimento e multiplicação. Inicia-se então a síntese de DNA, RNA e proteínas e a multiplicação do CR por fissão binária, formando microcolônias contendo de 100 a 500 microrganismos por célula, chamados de corpúsculos de inclusão ou corpos de Levinthal-Coles-Lilie. Após maturação e múltiplas rodadas de divisão, os CR se diferenciam novamente em CE infeccioso que completa o ciclo de desenvolvimento (após 24-48h dependendo da espécie), saindo da célula hospedeira por lise ou ruptura da célula e passa a invadir as células vizinhas (BOREL, 2018; EVERETT, 2000).

Figura 1 – Ciclo de desenvolvimento da *Chlamydia*.



Fonte: RASO, T. F. Clamidiose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (org.). **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 47, p. 760-767.

O CE é caracterizado por sua resistência a fatores físicos e químicos no ambiente extracelular, bem como pela falta de atividade metabólica. Assim, o CE está adaptado para sobrevivência extracelular prolongada, o que no caso dos patógenos animais em particular pode significar muitos meses fora do hospedeiro natural. A carência de elementos nutritivos na célula hospedeira faz com que as clamídias possam entrar temporariamente em estado letárgico (LONGBOTTOM e COULTER, 2003).

O CE apresenta baixa resistência a desinfetantes comuns e agentes que destroem os componentes lipídicos da parede celular, como o etanol a 70%, compostos de amônia quartenária (1:1000), formalina, peróxido de hidrogênio a 3%, solução de cloro, calor e luz solar (pode ser destruída a 56°C durante 5 minutos). No entanto, podem permanecer viáveis por longo período em excreções secas de animais, ou por vários dias em água à temperatura ambiente (ANDERSEN e VANROMPAY, 2003; BONELLO, 2006).

A infecção por *C. psittaci* nas aves, geralmente, assumem uma forma crônica e assintomática, podendo apresentar sinais clínicos nos indivíduos submetidos a estresse (HARKINEZHAD et al., 2009). Provavelmente os casos de clamidiose são subnotificados, em

decorrência da complexa fisiopatologia da infecção por *C. psittaci* que dificulta o diagnóstico conclusivo (RASO, 2004).

#### 4.3 Epidemiologia

A ordem Psittaciforme é a mais estudada no âmbito da epidemiologia da clamidiose, o que decorre provavelmente do fato das espécies de aves dessa ordem serem preferidas como animais de estimação. Os pombos de vida livre são a segunda categoria de aves mais estudada e mais apontada como fonte de infecção para humanos, nos casos onde há um estreito convívio especialmente em áreas urbanas. É possível afirmar que, provavelmente, todas as espécies de aves são suscetíveis à infecção (PROENÇA, et al., 2011).

Os hospedeiros aviários têm sido os mais estudados, e está aumentando a consciência de que uma diversidade de espécies selvagens são hospedeiros de um número crescente de espécies de *Chlamydia* spp. (BURNARD e POLKINGHORNE, 2016). Registros anteriores relatam a ocorrência de *C. psittaci* em mais de 467 espécies de aves, compreendidas em 30 ordens distintas (KALETA e TADAY, 2003), sendo a ordem Psittaciforme a que apresenta o maior percentual de espécies positivas (45%). Casos esporádicos de infecções por *Chlamydia* sp. já foram relatados em ruminantes, suínos, répteis, anfíbios e peixes. Trata-se de uma das principais zoonoses aviárias, com ocorrência esporádica em humanos (RASO, 2004).

Aves de vida livre têm sido reconhecidas como importantes reservatórios de *C. psittaci* na natureza. No entanto, a ocorrência de clamidiose em aves em ambiente natural pode ser “limitada” devido a rápida predação das aves doentes e pela decomposição dos cadáveres (RODOLAKIS e MOHAMAD, 2010).

##### 4.3.1 Epidemiologia em aves de vida livre

Em estudo realizado na Tailândia, foram testadas 313 aves silvestres, de 11 ordens, 27 famílias e 51 espécies para determinar a ocorrência de infecção por *C. psittaci*, resultando em apenas dois espécimes positivos, representando uma ocorrência de 0,64%. No momento da coleta, nenhum espécime apresentou sinais clínicos compatíveis com a enfermidade (PARUT, et al. 2019).

Em 2018, LUJÁN-VEGA e colaboradores, relataram a presença de fragmentos de DNA de Chlamydiaceae em duas espécies de falcões na Califórnia, *Buteo swainsoni* e *Buteo jamaicensis*. As amostras foram positivas por ensaio baseado em qPCR para uma sequência atípica de *Chlamydia* que não correspondeu a 100% de nenhum genótipo conhecido de *C. psittaci*. As amostras amplificadas dessas aves foram sequenciadas com base no gene *ompA*. Posteriormente, LAROUCAU e colaboradores (2019), descreveram uma nova espécie de *Chlamydia* isolada nessas espécies, denominada de *Chlamydia buteonis*.

Em um estudo na Polônia, SZYMAŃSKA-CZERWIŃSKA e colaboradores em 2017, analisaram 894 *swabs* de cloaca de aves de vida livre e revelaram uma prevalência global de Chlamydiaceae de 14,8% (n = 132), com a maior prevalência observada em Anatidae (19,7%) e Corvidae (13,4%).

KRAWIEC, et al. (2015), sugeriram que algumas espécies de aves selvagens desempenham um papel importante como reservatórios para *Chlamydia*, especialmente *Chlamydia psittaci*. Considerando que *C. psittaci* é o agente clamidial predominante em aves, no presente estudo foi determinada a prevalência de diferentes espécies de *Chlamydia* entre espécies de aves selvagens selecionadas na Polônia, utilizando o método de PCR em tempo real. No total, 369 aves de vida livre de 35 espécies de 15 ordens foram examinadas. Amostras de 27 aves (7,3%) foram positivas para DNA de clamídia na PCR; 22 amostras positivas (81,5%) pertenciam a *C. psittaci*; três a *Chlamydia trachomatis* (11,1%) e dois (7,4%) classificados apenas gênero *Chlamydia*. A maioria das amostras positivas para *C. psittaci* pertencia a cinco ordens: Anseriformes, Columbiformes, Gruiformes, Phasianiformes e Passeriformes.

No Brasil, em um estudo realizado em filhotes de papagaios-da-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) em vida livre no litoral do Paraná, o genoma de *C. psittaci* só foi detectado em 1 amostra de 117 animais estudados (RIBAS, et al. 2014).

Aves de rapina, por serem predadores oportunistas, são amplamente estudadas em vista da frequente exposição a bactérias patogênicas, alimentando-se de presas que podem estar debilitadas ou enfermas. Em um estudo na Suécia, em 2012, foi avaliado a ocorrência de *C. psittaci* em falcões-peregrinos (*Falco peregrinus*) e de águias-marinhas (*Haliaeetus albicilla*), usando a técnica de PCR em tempo-real, extraídos de amostras de cloaca. A prevalência de *C. psittaci* foi de 1,3% em 319 aves rastreadas, sendo dois falcões e duas águias (MARIA BLOMQUIST, et al. 2012).

Na Espanha, ORTEGA e colaboradores (2012) investigaram o papel das aves de rapina como reservatórios naturais de espécies pertencentes à família *Chlamydiaceae* detectadas em aves silvestres não sintomáticas, sendo 54 indivíduos adultos de vida livre pertencentes a 14 espécies em um Centro de Reabilitação de Aves de Rapina, e 10 espécimes juvenis de 5 espécies nascidas e criadas no Centro para futura reintrodução à natureza. Foram usados *swabs* de conjuntiva, coana e cloaca. O DNA correspondente a membros da família *Chlamydiaceae* foi detectado nas aves adultas pertencentes a 12 espécies (85,7%), sendo 40,6% de amostras de conjuntiva e 17,2% de amostras de coana e nenhum positivo em amostras de cloaca.

No Brasil, em 2011, 122 aves pertencentes a 12 ordens foram pesquisadas, demonstrando-se anticorpos anti-*C. psittaci* em 5,7% delas. Foram sororeagentes as espécies das ordens Charadriiformes (*Charadrius collaris*; *Himantopus melanurus*; *Rynchops niger*; *Tringa flavipes* e *Tringa melanoleuca*), Ciconiiformes (*Platalea ajaja*) e Passeriformes (*Paroaria capitata*). Além destas, Columbiformes silvestres (*Patagioenas cayennensis* e *Leptotila verreauxii*) de vida livre na região noroeste de Minas Gerais foram pesquisadas e a avaliação sorológica não apresentou resultado positivo (RASO, et al., 2011; RASO, et al., 2009).

No Brasil, em condições de vida livre, o genoma de *C. psittaci* foi detectado em 6,3% dos 32 filhotes de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) e em 37,8% de 45 filhotes de araras-azuis (*Anodorhynchus hyacinthinus*) no Pantanal do Mato Grosso do Sul (RASO, 2006).

VLAHOVIĆ et al. (2004), investigaram a prevalência de *Campylobacter*, *Salmonella* spp. e *Chlamydophila* spp. em 107 aves de vida livre pertencentes a 25 espécies de 13 famílias, na Croácia, a fim de examinar as infecções naturais causada por esses agentes. No entanto, a presença de *Chlamydophila* spp. não foi detectada nos animais examinados durante o estudo.

Na Alemanha, SCHETTLER (2003), investigou 39 aves de rapina de vida livre quanto a ocorrência de infecção por *C. psittaci*. Em 29 amostras (74%), o DNA da bactéria foi detectado, revelando elevada frequência de infecção em aves de rapina.

Por fim, OLSEN et al. (1998), na Suécia, investigaram 312 amostras de 18 espécies de aves de silvestres. Usando a técnica de PCR seguida do sequenciamento, o DNA de *C. psittaci* foi identificado em nove aves de seis espécies (*Anthus trivialis*, *Anthus pratensis*, *Erithacus rubecula*, *Turdus philomelos*, *Turdus pilaris* e *Parus major*).

#### 4.3.2 Epidemiologia em aves de cativeiro

Esfregaços de cloaca e fezes foram coletados de aves aquáticas domésticas, psitacídeos e columbiformes de 650 famílias, usados para determinar a prevalência de *C. psittaci* em Taiwan entre 2014 e 2017. Destas, 14 famílias foram positivas. Em conjunto, os resultados revelaram que o risco de *C. psittaci* transmitido de aves aquáticas domésticas e de pombos para seres humanos é, provavelmente, subestimado, em vista das elevadas taxas de prevalência registradas nessas aves (LIU, 2019).

Um estudo no Egito avaliou a prevalência e os fatores de risco em potencial associados à infecção por *C. psittaci* em psitacídeos e tratadores de aves em cativeiro. Foram coletados 190 *swabs* das aves e 70 amostras colhidas dos tratadores, e testadas por PCR, resultando em 63 (52,5%) das amostras das aves positivas. Porém, apenas quatro amostras dos tratadores (6%), mostraram-se positivas para a bactéria. Segundo o autor, o uso de luvas de proteção e o hábito de lavar mãos ao manusear os psitacídeos, diminui a frequência infecção por *C. psittaci* entre os manipuladores de aves (TOLBA, 2018).

Ainda em 2018, na Nova Zelândia, GEDYE, et al., identificaram os genótipos A e C de *C. psittaci* em 26 amostras de 12 espécies nativas do país, coletadas em diferentes locais de cativeiro. O genótipo A foi identificado em nove amostras de aves e o genótipo C em 16 amostras de aves aquáticas, e uma infecção mista de ambos os genótipos foi encontrada em um psitacídeo ameaçado de extinção (*Nestor meridionalis*). Estes resultados sugerem que a gama de hospedeiros de *C. psittaci* em aves da Nova Zelândia é sub-relatada.

Em 2013, um surto de clamidiose foi atribuído como causa de uma elevada mortalidade de *Agapornis roseicollis* no Arizona, EUA. No ano seguinte, outro surto ocorreu na mesma região e a partir de então, um estudo avaliou as aves do local para diagnosticar e determinar a prevalência de *C. psittaci* nos animais. Foram encontrados 57 indivíduos dos 188 avaliados, como sendo positivos, representando cerca de 30% de prevalência (DUSEK, 2018).

A fim de determinar a presença e diversidade genética de *Chlamydia* spp. na região do nordeste da província de Buenos Aires, Argentina, foram coletados amostras de tecido conjuntival, orofaríngeo e cloacal de um total de 90 psitacídeos de diferentes idades e manifestações clínicas. Por meio diagnóstico molecular, foi detectada *Chlamydiaceae* em 30% (27/90) das amostras, das quais 70,3% (19/27) foram positivas para *Chlamydia psittaci* e 14,9% (4/27) para *Chlamydia abortus* (ORIGLIA, 2018).

No Brasil, VASCONCELOS e colaboradores (2016), realizaram uma investigação clínica e ambiental, associada à detecção de *C. psittaci* por PCR, a partir de *swabs* de coana e cloaca de 46 araras-canindé (*Ara arauana*) no Rio de Janeiro. Obteve-se uma frequência de detecção de 50% (23/46) a partir de *swabs* de cloaca.

BRAZ (2014), colheu amostras de *swabs* cloacais de 403 aves assintomáticas de criatórios, zoológicos e de um Centro de Triagem e Recuperação de Animais Silvestres (CARETAS) em diferentes locais no Brasil, e obteve soropositividade em apenas 17 (4,21%) amostras analisadas, sendo 16 amostras da ordem psitaciformes e uma da ordem piciformes.

Araras azuis (*Anodorhynchus hyacinthinus*) são muito cobiçadas no comércio ilegal, apesar de ser considerada uma espécie ameaçada de extinção. Em um estudo realizado no estado de São Paulo, Brasil, 26 araras, advindas do tráfico, foram investigadas quanto a presença de infecção por *C. psittaci* por meio de RFC e PCR. 65,4% das araras apresentaram resultado positivo para pelo menos um teste. Aves com infecção subclínica podem eliminar *Chlamydia* de forma intermitente por longo período, contribuindo para a disseminação do agente. O tráfico de animais silvestres é um importante fator na emergência da clamidiose (RASO, 2013).

A maioria das pesquisas no Brasil são feitas com as principais espécies pertencentes às ordens Columbiformes e Psitaciformes, reconhecidas como potenciais reservatórios de *C. psittaci*. Em estudo realizado em aves da família Ramphastidae, ordem Piciformes, foram investigados 25 espécimes em um zoológico de São Paulo. O diagnóstico por PCR resultou negativo. No entanto, o diagnóstico por Reação de Fixação de Complemento (RFC), resultou em quatro amostras positivas para *C. psittaci* (RASO et al., 2012).

Ainda no Brasil, SANTOS e colaboradores (2012), investigaram psitacídeos vendidos em mercados de animais e aves de estimação domiciliadas, quanto à presença de infecção por *C. psittaci*. O estudo resultou numa frequência de positividade de 10,6% (33/311). O manejo das aves e das características das gaiolas foram avaliados, apontando que a densidade de indivíduos e a higiene das gaiolas nos mercados foram associados à infecção.

ECCO et al. (2009), investigaram um surto de clamidiose, em um Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) em Minas Gerais, sendo que dentre 15 psitacídeos necropsiados, o antígeno de *C. psittaci* foi detectado por imunohistoquímica em quatro (26,6%) espécimes.

Um total de 58 filhotes de papagaios (*Amazona aestiva*), recuperados do comércio ilegal, adoeceram em um centro de reabilitação de animais selvagens no Estado de São Paulo,

Brasil. O diagnóstico foi confirmado em sete de 10 indivíduos submetidos a exame por *seminested* PCR. A alta taxa de mortalidade observada neste surto (96,5%) foi atribuída a condições precárias de criação e atrasos no diagnóstico e tratamento da doença. Após o ocorrido, medidas de controle melhoradas para clamidiose foram instituídas no estabelecimento (RASO, 2004).

A prevalência da infecção por *C. psittaci* foi avaliada em 95 papagaios cativos do gênero *Amazona* (*Amazona aestiva*, *A. amazonica*, *A. farinosa*, *A. ochrocephala*, *A. pretrei*, *A. rhodocorytha*, *A. vinacea*, e *A. xanthops*), aparentemente saudáveis, provenientes de três coleções de matrizes no sudeste e centro-oeste do Brasil. Os esfregaços cloacais de todas as aves foram testados quanto ao antígeno de clamídia por imunofluorescência direta, resultando em 35,78% (34/95) de positividade (RASO, 2002).

Por fim, em 1992, METEYER et al., na Califórnia, investigaram a infecção por *C. psittaci* em seis passeriformes (*Euphonia violaceas*) e 10 beija-flores (*Amazilia amazilias*) cativos que vieram a óbito com pouco tempo de adquiridos. Foi realizada necropsia de todos e diagnosticado pelo isolamento de *Chlamydia* e por histologia e lesões macroscópicas compatíveis com a enfermidade.

#### 4.3.3 Patogenia

A bactéria *C. psittaci* é eliminada nas fezes e nas secreções de aves infectadas. A transmissão ocorre principalmente pela inalação de partículas em aerossol proveniente de fezes, secreções nasal e ocular ou penas contaminadas, bem como por ingestão ou contato direto com as aves (HARKINEZHAD et al., 2009). Outras vias de transmissão incluem a alimentação, quando os pais regurgitam para os filhotes alimentos contendo células infectadas provenientes da descamação do epitélio do ingluvívio, ou pela presença de fezes e exsudatos no ninho. Filhotes que sobrevivem à infecção podem se tornar portadores (VANROMPAY et al., 1995).

Além disso, ectoparasitos como piolhos, ácaros, carrapatos e moscas também podem contribuir para a transmissão do agente, atuando mais como vetores mecânicos do que como vetores biológicos. A transmissão de *C. psittaci* por vetores artrópodes é facilitada no ambiente do ninho (CHEONG, 2019). A transmissão vertical também já foi descrita em aves de produção, embora a frequência pareça ser baixa (LONGBOTTOM e COULTER, 2003).

Várias espécies de aves de vida livre são fonte potencial de infecção e seu contato com aves domésticas deve ser evitado. Calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) são consideradas portadores frequentes de *C. psittaci* e podem excretar a bactéria por mais de um ano após a infecção ativa (RASO, 2004).

A eliminação da bactéria nas fezes é normalmente de caráter intermitente e se relaciona com o estado de estresse ao qual o animal está submetido, podendo ser devido a: deficiências nutricionais, manejo incorreto, transporte prolongado, superlotação, ambiente abafado, manuseio, reprodução ou infecções concomitantes, bem como remoção do ambiente natural para o tráfico submetendo os animais ao cativeiro (HARKINEZHAD et al., 2009).

O período de incubação em geral é de três a 10 dias, podendo se estender por semanas, dependendo da espécie, da virulência do agente, da idade e da condição da ave. Isso torna difícil avaliar quando um portador assintomático foi infectado (RASO, 1999).

A morbidade costuma ser elevada. Em psitacídeos assintomáticos tem sido estimado entre 10 e 40% mas podendo chegar a 100% de morbidade. Em perus, as cepas mais virulentas causam de 50 e 80% de morbidade, enquanto que cepas menos virulentas causam de 5 a 20% de morbidade. Em patos, a morbidade pode variar de 10 a 80% (SMITH et al., 2011). A taxa de mortalidade é muito variável. Em plantéis em que a doença é enzoótica, a mortalidade é maior em aves jovens, com perdas em torno de 10% mas em plantéis livres do patógeno, a taxa pode chegar a 90% (BALSAMO et al., 2017).

A bactéria tem tropismo pelo epitélio das vias respiratória, penetrando pelo trato respiratório superior e disseminando-se pela corrente sanguínea. Algumas vezes localiza-se no parênquima pulmonar e nas células do reticuloendotelial do baço e do fígado (KALETA e TADAY, 2003).

Os sinais da doença em animais são inespecíficos e podem variar de acordo com o sorotipo da bactéria e com a espécie de ave hospedeira, podendo incluir depressão, plumagem eriçada, tremores, letargia, anorexia, desidratação, blefarite, ceratoconjuntivite, sinais respiratórios, digestórios, urinários, neurológicos e óbito, entre outros. Emaciação, urato verde-amarelado (típico de envolvimento hepático) também podem ser notados. Conjuntivite, muitas vezes recorrente, pode ser, em alguns casos, o único sinal clínico aparente (LONGBOTTOM & COULTER, 2003).

Os sinais clínicos podem se apresentar de forma aguda, subaguda, crônica ou inaparente, dependendo do estado imunológico da ave, da espécie hospedeira, da patogenicidade do microrganismo, do grau de exposição à bactéria, da porta de entrada e da presença de outras doenças concomitantes. As formas sub-aguda ou crônica são típicas de espécies com baixa suscetibilidade ou infectadas com uma cepa de virulência moderada (VANROMPAY, 1995).

Na forma crônica, os sinais clínicos são discretos e muitas vezes passam despercebidos, podendo ocorrer emagrecimento progressivo, conjuntivite branda e discretas alterações respiratórias. A forma inaparente representa o maior desafio ao clínico, pois não se mostram sinais evidentes, sendo de ocorrência comum em aves adultas expostas a sorotipos de média e baixa virulência. Nessas condições, as aves permanecem como portadoras, podendo eliminar o agente de forma intermitente por vários meses e, ainda, apresentar alterações inespecíficas como perda de peso, deficiência no empenamento e infecções bacterianas oportunistas. Os diversos fatores de manejo inadequado podem ativar uma infecção latente resultando na manifestação clínica da doença (RASO, 2014).

A gravidade das lesões varia de acordo com a evolução da doença e do órgão afetado, não havendo alterações macro ou microscópicas patognomônicas. As mais frequentes são aerossaculite, sinusite, esplenomegalia, pericardite e miocardite. Nos casos de clamidiose aguda fatal, as alterações histopatológicas são mínimas, como alterações hematológicas sutis. Os ácidos biliares, o aspartato amino transferase (AST) e o ácido úrico podem ser os únicos que se apresentam elevados no exame (ECCO et al., 2009).

#### 4.4 Diagnóstico

O diagnóstico de clamidiose em aves precisa ser confirmado pelo isolamento e identificação do agente, a demonstração de *C. psittaci* nos tecidos ou a demonstração de um aumento de quatro vezes da resposta humoral específica (OIE, 2004).

Devido à complexa patogenia das infecções por *C. psittaci* em aves, estabelecer um diagnóstico definitivo é difícil, pois mesmo com uma combinação de testes diagnósticos, às vezes pode não ser suficiente para determinar se uma ave está ou não realmente infectada por conta da eliminação intermitente do CE (RASO, 2014).

A colheita do material biológico de forma adequada é uma etapa crucial para o diagnóstico laboratorial. Para testes de detecção do agente infeccioso, recomenda-se a colheita

seriada de um determinado tipo de amostra e/ou a colheita de amostras de diferentes locais do corpo da ave, como cloaca, conjuntiva e/ou cavidade oral (orofaringe e coana), aumentando assim a probabilidade de identificar aves portadoras assintomáticas ou não (SMITH et al., 2011).

#### 4.4.1 Isolamento

O isolamento da *C. psittaci* é considerado o diagnóstico definitivo, como sendo referência padrão-ouro (OIE, 2004). Nesta técnica, a amostra biológica é inoculada na cultura celular ou em ovos embrionados e após 48h de incubação, investiga-se a formação de corpúsculos de inclusão nas células da cultura, que podem ser visualizados tanto pela técnica de coloração de Giménez, Giemsa, Ziehl-Neelsen ou Macchiavello, quanto pela técnica de anticorpos monoclonais direcionados aos lipopolissacarídeos específicos do género *Chlamydia*. As culturas celulares mais utilizadas são as de células de rim de macaco verde africano (BGM); células McCoy; células HeLa e células L; células Vero; célula L929 e ovos embrionados de galinha (PANTCHEV et al., 2010; GEENS et al., 2005; EVERETT et al., 2000; VANROMPAY et al., 1995).

A amostra testada deverá ser colhida de forma asséptica, normalmente feita nas mucosas por meio de *swabs*. Amostras de fezes também podem ser utilizadas para o isolamento. Em aves mortas, pode ser coletada amostra de fígado, rim, pericárdio e de baço preferencialmente (ANDERSEN et al., 1996). Em casos agudos de infecção, as amostras colhidas devem incluir exsudato inflamatório fibrinoso de órgãos lesionados, exsudato ocular e nasal. Em aves vivas, as amostras de *swabs* de orofaringe e conjuntivais são preferidas em relação às fezes e de região de cloaca, devido à eliminação fecal ser de forma descontínua (PROENÇA et al., 2011).

Quando a infecção é recente, recomenda-se a colheita de amostras da orofaringe por ser o local de predileção da bactéria nesta fase, porém não descartando a utilização de amostras de outros sítios, uma vez que a bactéria pode ser encontrada também na cloaca e nas fezes de acordo com a evolução do processo infeccioso (SANTOS, 2012).

A técnica de isolamento tem a desvantagem de ser onerosa, laboriosa e demorada, devendo ser realizada apenas em laboratório especializado com nível de segurança 3 e com equipe experiente, por conta do risco zoonótico do agente (GEENS et al., 2005).

#### 4.4.2 Sorologia

Para o diagnóstico sorológico de infecção por *C. psittaci* são adotadas as técnicas de imunofluorescência indireta (IFI), reação de fixação de complemento (RFC) e ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) indireto. Todas as técnicas podem apresentar desvantagens como falha na detecção de anticorpos em infecção recente (falso-negativo) ou após tratamento com uso de antibióticos, ou a ocorrência de reação cruzada com outras bactérias Gram-negativas (falso-positivo) e também apresentar baixa especificidade em alguns casos (RASO et al., 2002; RASO et al., 2006).

Ainda, por meio de testes sorológicos, é necessário que haja um aumento de quatro vezes no título de amostras pareadas ou uma combinação de resultado sorológico positivo e identificação do agente, para ser considerado uma confirmação do diagnóstico de clamidiose (NASPHV, 2010).

A técnica de imunofluorescência indireta (IFI) é utilizada para identificação e sorotipagem de *C. psittaci* em amostras de espécimes suspeitas. O teste é demorado e a leitura do resultado é qualitativa, sendo a qualidade do diagnóstico influenciado pela experiência do profissional que executou a mesma. Além disso, os reagentes utilizados normalmente não são facilmente comercializados no mercado, tornando a técnica somente acessível para laboratórios especializados (SASCHE et al., 2009). Outra desvantagem é o fato da técnica não conseguir detectar o genótipo E/B de *C. psittaci* (GEENS et al., 2005).

A reação de fixação de complemento (RFC) é considerada a técnica padrão no diagnóstico sorológico de *C. psittaci*. A técnica consiste na adição de diluição seriada de soros testes em placa contendo antígeno e hemácias, com o objetivo de detectar a presença de anticorpos anti-*C. psittaci*. (RASO et al., 2004). O antígeno utilizado é o LPS (lipopolissacarídeo clamidial, um importante constituinte da membrana), que está presente em toda família *Chlamydiaceae*, não permitindo então distinguir entre as espécies desta família e também não distingue entre a elevação dos títulos de IgG e IgM (VANROMPAY et al., 2008).

A RFC possui sensibilidade e especificidade menores que a IFI (LEAL, 2013). A técnica utiliza antígeno gênero-específico contra o antígeno LPS presente nos CE e CR de membros da família *Chlamydiaceae*. Porém, o maior problema com a realização dessa técnica é a dificuldade de padronização dos reagentes. A carência de reagentes espécie-específicos faz com que o diagnóstico sorológico seja de difícil aplicação em aves silvestres (RASO, 2014).

O ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) indireto foi desenvolvido como uma alternativa à RFC pois é de rápida realização e apresenta maior sensibilidade e especificidade. Porém, os testes ELISA apresentam as mesmas desvantagens dos outros testes sorológicos, como falsos-negativos em aves com infecção recente ou tratadas com antibiótico e resultados falsos positivos devido à presença de anticorpos remanescentes após um tratamento (SASCHE et al., 2009; HARKINEZHAD et al., 2009).

#### 4.4.3 Biologia molecular

Métodos moleculares para detecção de ácidos nucleicos têm sido adotados como alternativa ao isolamento de *Chlamydiaceae*. Esses testes podem ser muito sensíveis e específicos na detecção de sequências-alvo de DNA, identificando quantidades mínimas do genoma de *C. psittaci* na amostra (RASO, 2004). As técnicas moleculares de diagnóstico são as mais sensíveis e específicas, já que conseguem detectar fragmentos do DNA do agente na amostra, além de utilizar *primers* específicos para o gênero ou espécie da bactéria. O PCR vem substituindo o isolamento devido à rapidez e à redução do risco de infecção para o técnico por não necessitar da presença do microrganismo vivo para a sua detecção (SANTOS, 2012).

A técnica do PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase) consiste na amplificação de um fragmento de DNA de determinado microrganismo que se deseja identificar. Os principais alvos desse procedimento diagnóstico são os genes *ompA*, *ompB* e os genes 16S e 23S do rRNA de *C. psittaci*, com protocolos espécie-específicos ou específicos para a família do agente (LAROUCAU et al., 2008). A PCR convencional se baseia na amplificação de um fragmento de DNA do microrganismo que se quer detectar. O *amplicon*, produto da reação, pode ser visualizado através de eletroforese em gel de agarose ou de poliacrilamida, seguido por coloração com intercalantes de DNA e visualizado em luz UV (LAROUCAU et al., 2008).

Existem diversos protocolos encontrados na literatura, porém os resultados diferem muito entre os laboratórios devido à falta de padronização das técnicas e a qualidade das amostras testadas. A colheita de amostras deve ser com máximo critério para evitar contaminação ambiental, contaminação por amostras de outras aves ou no laboratório durante o processamento do teste (EVERETT et al., 1999).

São comumente utilizadas amostras de *swabs* de cloca, cavidade oral (orofaringe, coana e/ou traqueia), conjuntiva ou tecidos (LEAL, 2013). A sensibilidade e a especificidade da PCR

variam de acordo com o tipo, a preparação e qualidade da amostra e a padronização do seu protocolo, dos *primers* utilizados, do método de extração do DNA, do método de detecção do produto amplificado, bem como a escolha da técnica. São descritos os seguintes métodos: a PCR convencional (OLSEN et al., 1998), *semi-nested* PCR (RASO et al., 2007), Multiplex PCR (EVERETT et al., 1999), PCR-RFLP, PCR em tempo-real (GEENS et al., 2005) e DNA *microarrays* (SASCHE et al., 2008).

A *nested*-PCR tem como base a re-amplificação do *amplicon* com outro par de *primer*, sendo considerada uma técnica mais sensível quando comparada à PCR convencional (RASO et al., 2004; RASO et al., 2006). A sensibilidade é aumentada quando o segmento de DNA alvo é curto ou quando se utiliza uma etapa adicional de amplificação, como na *nested*-PCR. Esta técnica apresenta como desvantagem o risco de contaminação, já que necessita de duas reações onde o *amplicon* da primeira reação é usado como amostra para a segunda reação. Este *amplicon* possui milhões de cópias de DNA que podem se dispersar no ambiente e contaminá-lo (MESSMER et al., 1997).

As técnicas de PCR, *semi-nested* PCR e Multiplex PCR possibilitam a identificação do genótipo de *C. psittaci* predominante em determinada população de aves, necessitando do sequenciamento do material genético amplificado. As técnicas de PCR-RFLP, PCR em tempo-real e DNA *microarrays* são capazes de realizar a genotipagem de *C. psittaci* presentes na amostra (GEENS et al., 2005).

A PCR-RFLP (AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphisms) consiste na utilização de enzimas de restrição que geram padrões distintos de bandas de DNA, identificando por meio desse processo tanto a espécie da bactéria como também a ocorrência de distintos genótipos (SAYADA et al., 1995). A técnica se utiliza do espaço intergênico 16S-23S, que é uma sequência considerada um marcador filogenético conservado da família *Chlamydiaceae*. O método também permite a identificação dos diferentes genótipos de *C. psittaci* em casos de infecção mista, porém, tem como desvantagem não ser capaz de diagnosticar o genótipo E/B, sendo classificado na maioria das vezes como genótipo E (VANROMPAY et al., 1997).

A PCR em tempo-real permite simultaneamente a identificação, quantificação e genotipagem dos genótipos (A-F e E/B) de *C. psittaci*. A técnica tem alta especificidade e sensibilidade quando comparada com PCR, *nested* PCR ou PCR-RFLP e possui uma única etapa, o que favorece a redução do risco de contaminação (OKUDA et al., 2011; PANTCHEV et al., 2009; ROBERTSON et al., 2009). Além disso, é um procedimento mais rápido, de

elevado rendimento e maior facilidade de padronização. O diagnóstico pode ser tão sensível quanto o isolamento e a *nested* PCR, mas os riscos de contaminação da reação são reduzidos, uma vez que se baseia numa reação em sistema fechado. Entretanto, a desvantagem desta tecnologia está no alto custo de realização por requerer uma sonda marcada com fluorescência e equipamento especial (SASCHE et al., 2009; EVERETT et al., 1999).

Por fim, a técnica de DNA *microarrays* tem a desvantagem de ser onerosa, porém, ela possibilita a identificação de qualquer espécie da família *Chlamydiaceae*, bem como a genotipagem da *C. psittaci* e a identificação de novos prováveis genótipos. Um estudo que utilizou da técnica, mostrou-se capaz de identificar e genotipar *C. psittaci* em amostras previamente confirmadas como positivas (SASCHE et al., 2008; SASCHE et al., 2009).

Contudo, é importante esclarecer que um resultado positivo na PCR não significa dizer que a ave está infectada e doente ou que este é realmente o patógeno responsável pelo quadro clínico apresentado pelo animal, mas apenas que foi detectado o genoma do agente naquela amostra. Desta forma, os resultados de exames de PCR devem ser interpretados juntamente ao quadro clínico completo e comparativamente a outros testes laboratoriais, evitando interpretações equivocadas (RASO, 2014).

#### 4.5 Tratamento

O tratamento da clamidiose aviária só é indicado quando a ave apresenta sinais clínicos, para não favorecer o surgimento de cepas resistentes de *C. psittaci* pelo uso frequente e indiscriminado de antibióticos como medida preventiva (RODOLAKIS e MOHAMAD, 2010). Estudos *in vitro* sugerem que o desenvolvimento de cepas de *C. psittaci* resistentes a drogas é possível (BOMMANA e POLKINGHORNE, 2019).

A *C. psittaci* é sensível a uma série de antibióticos. As drogas mais adotadas na conduta terapêutica da clamidiose são as tetraciclinas, sendo a doxiciclina a droga de escolha no tratamento de aves infectadas, devido a sua melhor absorção e eliminação mais lenta que outras tetraciclinas, favorecendo o uso de doses mais baixas e com menor frequência (PADILLA et al., 2005). Formulações orais de doxiciclina são utilizadas na dose de 25 a 50 mg/kg a cada 24 horas para a maioria das espécies. Já a administração por via intramuscular varia de 75 a 100 mg/kg a cada 5 a 7 dias, com uma duração total do tratamento de 45 dias, sendo mais comum para tratamentos individuais (GUZMAN et al., 2010). A replicação de *C. psittaci* é inibida por

concentrações plasmáticas de doxiciclina maiores que 1 mg/ml, porém o tratamento prolongado se faz necessário para eliminar a infecção (RASO, 2007).

A administração de azitromicina (macrolídeo) e enrofloxacin (quinolona) podem ser adotadas como tratamento alternativo, sendo mais utilizadas no tratamento de psitacose em pacientes humanos. Vale ressaltar que o consumo elevado de cálcio não é recomendado durante o tratamento com tetraciclina, pois o mineral e outros cátions bivalentes inibem a absorção da doxiciclina (GERLACH, 1994).

Durante o tratamento as aves devem ser isoladas e fatores de estresse devem ser evitados para não reduzir a eficácia do tratamento. É indicada a realização de um novo exame diagnóstico após o término do tratamento. Medidas rigorosas de limpeza e desinfecção devem ser tomadas para diminuir a presença do agente, visto que uma única ave positiva pode ser responsável pela manutenção da contaminação ambiental. Juntamente com a antibioticoterapia, as aves devem receber terapia de suporte, incluindo fluidoterapia, suplementação da dieta e alimentação com sonda, o que garante o consumo exato da dose e a avaliação de cada indivíduo (LEAL, 2013).

Como não existe um tratamento efetivo ou a completa eliminação da bactéria no organismo, aves tratadas podem ainda permanecer como fonte de infecção. Isso se deve ao fato dos CE não apresentarem metabolismo ativo, resultando na inibição da eliminação do agente pela ave. As aves tratadas podem permanecer como fonte de infecção e suscetíveis a reinfeção pelo mesmo sorotipo ou por sorotipos diferentes (RASO, 2014).

#### 4.6 Prevenção e controle

A ampla gama de hospedeiros e a elevada prevalência de infecções crônicas e recorrentes, além dos portadores inaparentes por tardiamento das manifestações dos sinais clínicos, prejudicam a adoção de medidas realmente eficazes no controle da enfermidade (WEST, 2001). No Brasil não há obrigatoriedade de tratamento, sendo a notificação obrigatória apenas para casos de psitacose humana (OIE, 2004).

Como não há vacina disponível para *C. psittaci*, recomendam-se medidas de controle e biossegurança, vigilância sanitária e epidemiológica, controle de fronteiras, quarentena e medicação do plantel afetado. Exames das aves silvestres recém-adquiridas também são

necessários, bem como limpeza e desinfecção do ambiente e possíveis fômites, para diminuir o risco zoonótico e a contaminação ambiental, o que é relativamente de fácil execução, visto que a bactéria é sensível a diversos desinfetantes (NASPHV, 2010).

A destinação correta das carcaças e de dejetos contaminados, bem como, o vazio sanitário devem ser adotados como medidas fundamentais para prevenir a disseminação do agente. Manter as aves em ambiente arejado para evitar o acúmulo de aerossóis e utilizar equipamentos de proteção individual como luvas, óculos, máscaras com respirador devidamente equipado com N95 ou classificação superior (PROENÇA et al., 2010).

#### 4.7 Saúde única

A clamidiose em humanos, normalmente chamada de psitacose, é uma zoonose de ocorrência esporádica, geralmente associada ao risco ocupacional ou de pessoas que mantem aves como pet (VANROMPAY, 2008). A transmissão de *C. psittaci* para humanos ocorre normalmente por meio de inalação de poeira e aerossóis contaminados oriundos de fezes e secreções de aves infectadas. Outra forma comum de infecção em humanos é o contato “boca-bico” com uma ave doente, onde uma exposição breve já pode resultar na transmissão da infecção. Além de pessoas que lidam com aves, indivíduos imunosuprimidos, gestantes, crianças ou idosos, estão mais propensos a desenvolver a doença após contato com uma ave infectada ou ambiente contaminado (WEST, 2001).

O período de incubação em humanos varia de 5 a 15 dias. Os sinais clínicos se assemelham ao de uma gripe, com acometimento do sistema respiratório, hipertermia, cefaleia, mialgia, náuseas e vômitos. Nos casos mais graves, ocorre pneumonia, dificuldade respiratória e raramente podem surgir manifestações crônicas que incluem insuficiência cardiovascular, meningite e evoluir à óbito. O diagnóstico diferencial deve incluir principalmente *C. pneumoniae*, que é o genótipo mais frequente como zoonose (GERLACH, 1994).

No Brasil, em 2003, foi relatado um surto domiciliar no qual sete pessoas apresentaram quadro clínico de psitacose, sendo confirmado posteriormente com exame sorológico indicando títulos anti-*C. psittaci*. A investigação epidemiológica indicou que a família havia adquirido três caturritas (*Myiopsitta monachus*) no comércio ilegal e que as aves apresentavam sinais clínicos respiratórios sugestivos da enfermidade, morrendo antes de qualquer avaliação médico veterinária (ALMEIDA et al., 2004).

Em levantamento epidemiológico foi avaliada a presença de anticorpos anti-*C. psittaci* em 349 funcionários, biólogos e médicos veterinários de 19 zoológicos brasileiros. Foi demonstrado que cerca de 5% dos indivíduos eram soropositivos para *C. psittaci* (RASO et al., 2010). Em decorrência das dificuldades em se estabelecer o diagnóstico e por falta de comunicação aos órgãos competentes, informações precisas sobre sua prevalência e incidência são certamente subestimadas na maioria dos países (RASO, 2007).

#### 4.8 Características da avifauna da Serra da Jiboia e da Reserva Jequitibá

As informações sobre a avifauna da Serra da Jiboia ainda são relativamente recentes. Existem poucos trabalhos desenvolvidos e publicados sobre a região. Em 1999, MORAES e FREITAS publicaram o primeiro levantamento da ornitofauna e mastofauna da Serra da Jiboia. Ao longo de quase quatro anos, foram realizadas diversas excursões que variaram de um a seis dias, entre os municípios de Santa Terezinha e Elísio Medrado, onde foram identificadas 149 espécies de aves.

FREITAS e MORAES (2009), publicaram um outro levantamento da avifauna da Serra da Jiboia, realizado na Reserva Jequitibá (área de estudo) e entorno. Ao longo de mais de 10 anos, com uma média de duas saídas a campo por ano, por três dias, foram inventariadas 221 espécies de aves, pertencentes a 52 famílias, destacando-se espécies endêmicas do Bioma Mata Atlântica e que se encontram em algum grau de vulnerabilidade ou mesmo ameaçadas de extinção. Observou-se também que diversas espécies do Bioma Caatinga ou áreas de pastagens se fazem presentes na região e ocupam bordas de matas e áreas abertas no entorno da serra.

No ano de 2011, LEMOS e colaboradores, realizaram um novo inventário da avifauna da Serra da Jiboia. Os autores analisaram a riqueza, composição e os grupos tróficos. Foram realizadas duas expedições de cinco dias e em 80 horas de observação, foi encontrada uma riqueza de 122 espécies de aves, distribuídas em 33 famílias.

Em 2014 foi realizado um trabalho de cunho etnoornitológico, desenvolvido por LOSS e colaboradores, no povoado de Pedra Branca, município de Santa Terezinha, onde foi avaliado a etnotaxonomia de aves no povoado catalogando e identificando seus nomes populares obtidos por meio de entrevistas e testes com os munícipes. A população identificou 117 espécies da avifauna local. No ano seguinte, PIRES e colaboradores, desenvolveram um estudo semelhante

no município de Elísio Medrado, com metodologia similar ao estudo anterior utilizando-se de entrevistas com a população local acerca dos seus conhecimentos sobre a avifauna da região. Neste levantamento, os moradores identificaram 106 espécies de aves. Os municípios citados nos dois últimos estudos, são limítrofes à reserva Jequitibá.

Em 2015 foi realizado um censo da fauna presente na Serra da Jiboia com o objetivo de subsidiar uma proposta de criação da Unidade de Conservação da Serra da Jiboia. O referido censo registrou a ocorrência de 194 espécies de aves na região. Este montante foi agregado ao inventário realizado por FREITAS e MORAES (2009), corrigindo-se as eventuais repetições de espécies. A compilação de ambos os estudos possibilita afirmar que a avifauna presente na região da Serra da Jiboia é composta aproximadamente por 285 espécies de aves (GAMBA, 2015). Neste censo de 2015, foram utilizadas cinco redes de neblina (12m x 2,5m, malha de 1,5cm), onde permaneceram abertas das 6h às 12h por um único dia, sendo monitoradas periodicamente, além de incursões diurnas e noturnas aleatórias com registros visuais a olho nu ou com auxílio de binóculos e registros auditivos.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho obteve aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da EMEVZ/UFBA, registrado com o número 60/2018 (ANEXO A) e autorização do Sistema de Informações da Biodiversidade (SISBIO), número 63652-1 (ANEXO B).

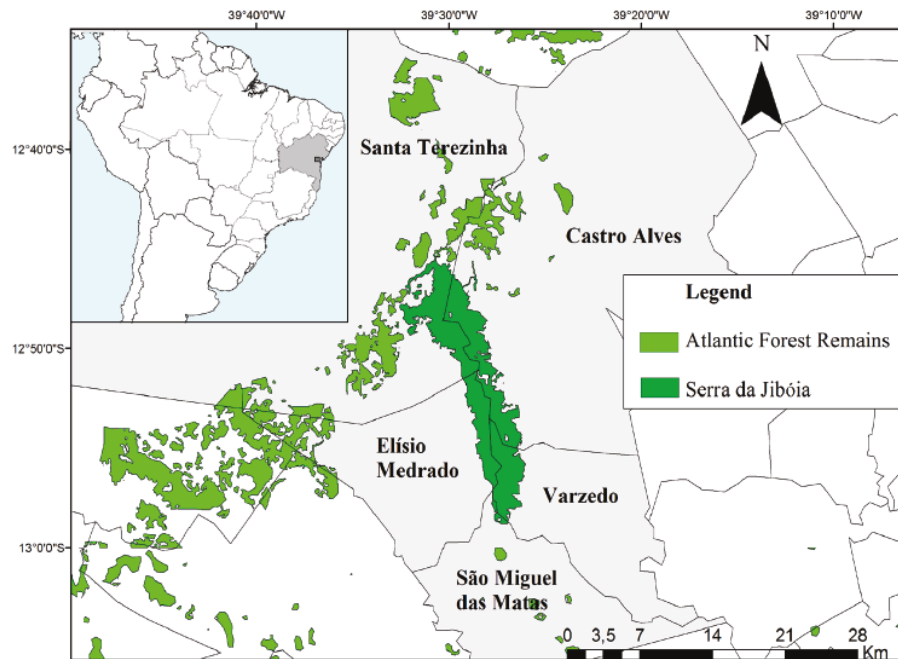
### **5.1 Área de estudo**

O presente estudo foi realizado na área de preservação denominada Reserva Jequitibá (39°28'1.89''W 12°52'4.35''S), situada na Serra da Jiboia, município de Elísio Medrado, Bahia, Brasil. A reserva tem uma extensão de 146 hectares, onde ocorrem espécies da avifauna típicas do Bioma Mata Atlântica.

A Serra da Jiboia detém o maior maciço serrano ainda bem preservado na região do Recôncavo Sul da Bahia (Figura 1). Estende-se por cinco municípios: Elísio Medrado, Santa Terezinha, Castro Alves, Varzedo e São Miguel das Matas, com uma extensão de 8.611 hectares, dos quais 5.616 hectares de remanescente florestal contínuo do Bioma Mata Atlântica

em transição com Caatinga, em diferentes estágios de conservação e regeneração, além de paisagens transformadas pela agricultura e pecuária nas regiões mais baixas da Serra. Possui um clima sub-úmido a seco, temperatura média anual de 20°C, precipitação média anual de 1200 mm e altitude de até 820 m (CARVALHO-SOBRINHO et al., 2005).

Figura 2 – Localização geográfica da Serra da Jiboia, Bahia, Brasil.



Fonte: FREITAS et al., 2018.

## 5.2 Captura das aves e coleta de material

Os locais de captura das aves na área da Reserva Jequitibá e seu entorno, foram selecionados por apresentarem fragmentos de mata preservada, trechos de capoeira e riachos, frequentados por diversos bandos de aves, divididos em cinco pontos amostrais, sendo uma área no interior da mata e os outros quatro em regiões do entorno da Reserva com uma vegetação mais antropizada e mata em estágio de regeneração.

Para a captura das aves, foram instaladas 25 redes de neblina, tamanho 12x2m, sempre dispostas em transectos lineares, das quais, cinco redes foram armadas no interior da mata e as restantes foram dispostas em intervalos espaçados nas áreas do entorno da reserva. As redes foram abertas ao alvorecer e fechadas aproximadamente às 19h, objetivando também a captura de algumas aves de hábito noturno, por um único dia sendo vistoriadas a cada 30 minutos para a retirada das aves presas. As aves foram acondicionadas em sacos de tecido e conduzidas para

o laboratório de campo, para coleta de dados referentes às aves coletadas. Todos os dados foram registrados em planilhas de campo (Apêndice 1), como a identificação da espécie, sexo e idade da ave, amostras coletadas e dados de anilhamento. As recapturas foram excluídas para evitar que o mesmo indivíduo fosse amostrado mais de uma vez, através do uso de combinação de anilhas coloridas.

As identificações taxonômica, de sexo e idade, foram realizadas com o auxílio de guias de campo (GRANTSAU, 2010), seguindo as recomendações do Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CRBO). O cálculo do peso da ave foi realizado com o uso de balança tipo pesola, pesando o animal dentro do saco e em seguida pesando o saco vazio para descontar seu peso e obter o peso final da ave (Figura 3). Esses dados foram obtidos de forma complementar para relatórios do anilhamento.

Figura 3 – Pesagem de uma ave em saco de tecido utilizando balança tipo pesola;



Fonte: Pedro Lima.

As amostras biológicas foram coletadas por meio de *swab* com haste de alumínio estéril (marca Absorve – código 23021), na cavidade oral e de cloaca (quando o tamanho do animal permitiu), obtidas por fricção da mucosa oral (Figura 4A) e da cloaca (Figura 4B). Os *swabs* de cada espécime foram acondicionados em um único microtubo estéril de 2,0 ml (marca Kasvi – código K6-0200), seguidos de refrigeração para diagnóstico em *pool* de amostras de cada indivíduo. A contenção dos animais foi manual e o procedimento de colheita das amostras foi

realizado no menor tempo possível a fim de evitar o estresse das aves. Após a manipulação, as aves foram soltas nos locais das capturas.

Figura 4 – Colheita de amostras por meio de *swab* estéril de cavidade oral (A) e cloaca (B).



Fonte: Pedro Lima.

Todas as amostras foram acondicionadas em freezer (temperatura até  $-20^{\circ}\text{C}$ ) e encaminhadas ao Laboratório de Ecopatologia de Aves da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP), em caixa térmica UN 3373-B (marca Polar Técnica – código GPT096) por transporte aéreo, onde foi realizado o diagnóstico de infecção por *Chlamydia psittaci*.

### 5.3 Diagnóstico molecular de *C. psittaci*

Para o diagnóstico de *C. psittaci*, foi realizado um protocolo estabelecido e adaptado pelo Laboratório da USP com base nos trabalhos de EHRICHT et al., 2006 e DENAMUR et al., 1991. Para a extração do DNA das amostras, foi adicionado 1mL de solução fisiológica (0,9%) e homogeneizar por 5 minutos em vórtex. A extração é individual, utilizando-se um *kit* comercial QIAamp DNA Stool Mini kit (Qiagen, Alemanha), seguindo instruções do

fabricante, eluído em 200 µL e estocado a -80°C. O DNA dos *swabs* foi extraído segundo SAMBROOK (2001), utilizando-se 250 µL de cada amostra. Por fim, o *pellet* de DNA é eluído em 30 µL de Tris EDTA (10:0,1) e estocado a -80°C.

A PCR para a detecção de *C. psittaci* foi realizada conforme descrito por RASO et al. (2006), com algumas adaptações. Os *primers* utilizados foram com base no gene da proteína da membrana principal externa (MOMP) da bactéria. As sequências são as seguintes: Ch23S-F (5'-CTGAAACCAGTAGCTTATAAGCGGT-3') e Ch23S-R (5'-ACCTCGCCGTTTAACTTAACTCC-3') (LAROUCAU, et al. 2009) para a primeira reação, produzindo um produto de 111pb, e APC-F (5'-CATGCAAGCTATTGAGAAAAGTGGT -3') APC-R (5'-CCTTGATATGTACGTGTTTTCTCG -3') (ZOCEVIC, et al. 2013) para a segunda reação, produzindo um fragmento de 108pb. Em volumes finais de 25µL, as reações são realizadas com 2mM de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen, EUA), 0,2mM de dNTPs (Invitrogen, EUA), 1U de Taq *Platinum* polimerase (Invitrogen, EUA), 0,5µM de cada *primer*, 5µL de DNA genômico, para primeira reação, e, para a segunda reação, 1µL do produto da primeira. Controles positivos e negativos são utilizados em cada lote de reação. As reações foram colocadas em termociclador a 94°C por 10 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 60 segundos, 54°C por 60 segundos (para primeira reação) e 52°C (para segunda reação) e 72°C por 90 segundos, com uma extensão final de 72°C por quatro minutos. Os produtos das PCRs foram corados com solução de *Sybr Gold* (Invitrogen, EUA) e submetidos à corrida eletroforética horizontal em gel de agarose 1,5%, em tampão Tris borato EDTA (TBE), juntamente com o marcador de peso molecular 100pb (Invitrogen, EUA). Os resultados foram visualizados num transluminador e fotodocumentados (Biometra, Alemanha).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram capturados 111 exemplares de aves de vida livre e identificados em 55 espécies diferentes de aves silvestres, em junho de 2019 na área de preservação Reserva Jequitibá situada na Serra da Jiboia, município de Elísio Medrado, Bahia, Brasil (Tabela 3). Esta diversidade representa uma riqueza de cerca de 49,10% dentre o n amostrado. Foram identificadas espécies pertencentes a 6 ordens diferentes.

Tabela 3 – Inventário das espécies de aves capturadas, status de ameaça de extinção e identificação para *Chlamydia* na área de preservação Reserva Jequitibá, Serra da Jiboia, município de Elísio Medrado, Bahia, Brasil, junho de 2019. (Continua)

ORDEM	ESPÉCIE	IUCN	n	<i>Chlamydia sp.</i> +	<i>C. psittaci</i> +
<b>Apodiformes</b>	<i>Amazilia nigricauda</i>	LC	1	-	-
	<i>Glaucis hirsutus</i>	LC	4	-	-
	<i>Thalurania glaucopis</i>	LC	1	-	-
<b>Caprimulgiformes</b>	<i>Nyctidromus albicollis</i>	LC	4	-	-
<b>Columbiformes</b>	<i>Columbina picui</i>	LC	1	-	-
	<i>Columbina talpacoti</i> *	LC	4	-	-
	<i>Geotrygon montana</i>	LC	1	-	-
	<i>Leptotila verreauxi</i>	LC	1	-	-
<b>Galbuliformes</b>	<i>Galbula ruficauda</i>	LC	2	1	0
<b>Passeriformes</b>	<i>Arremon taciturnus</i>	LC	2	-	-
	<i>Basileuterus flaveolus</i> *	LC	6	-	-
	<i>Camptostoma obsoletum</i>	LC	1	1	0
	<i>Capsiempis flaveola</i>	LC	2	-	-
	<i>Ceratopipra rubrocapilla</i>	LC	2	1	1
	<i>Coereba flaveola</i> *	LC	2	-	-
	<i>Conopophaga melanops</i> *	LC	1	-	-
	<i>Dacnis cayana</i>	LC	4	-	-
	<i>Drymophila squamata</i>	LC	2	-	-
	<i>Elaenia chilensis</i>	LC	4	-	-
	<i>Elaenia cristata</i> *	LC	4	-	-
	<i>Elaenia flavogaster</i>	LC	2	-	-
	<i>Furnarius leucopus</i>	LC	2	1	0
	<i>Furnarius rufus</i> *	LC	1	-	-
	<i>Lanio cristatus</i>	LC	2	1	0
	<i>Manacus manacus</i>	LC	3	-	-
	<i>Myiarchus ferox</i>	LC	1	-	-
	<i>Myiophobus fasciatus</i> *	LC	2	1	1
	<i>Myiozetetes similis</i>	LC	4	-	-
	<i>Myrmotherula urosticta</i>	VU	1	-	-
	<i>Pachyramphus viridis</i>	LC	1	-	-
	<i>Phacellodomus rufifrons</i>	LC	1	-	-
	<i>Pitangus sulphuratus</i> *	LC	1	-	-
	<i>Poecilatriccus fumifrons</i>	LC	1	-	-
	<i>Ramphocelus bresilius</i>	LC	1	-	-
	<i>Sporophila nigricollis</i>	LC	4	-	-
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	LC	1	-	-	

ORDEM	Espécie	IUCN	N	<i>Chlamydia sp.</i> +	<i>C. psittaci</i> +
	<i>Synallaxis frontalis</i>	LC	4	-	-
	<i>Tachyphonus rufus</i> *	LC	2	-	-
	<i>Tangara cayana</i> *	LC	3	-	-
	<i>Taraba major</i>	LC	1	-	-
	<i>Tersina viridis</i>	LC	1	-	-
	<i>Thamnophilus ambiguus</i>	LC	1	-	-
	<i>Thlypopsis sordida</i> *	LC	2	-	-
	<i>Thraupis sayaca</i>	LC	1	-	-
	<i>Thryothorus genibarbis</i>	LC	1	-	-
	<i>Todirostrum cinereum</i>	LC	2	-	-
	<i>Tolmomyias flaviventris</i>	LC	3	-	-
	<i>Troglodytes musculus</i>	LC	1	-	-
	<i>Turdus amaurochalinus</i>	LC	1	-	-
	<i>Turdus leucomelas</i> *	LC	2	-	-
	<i>Turdus rufiventris</i> *	LC	3	-	-
	<i>Volatinia jacarina</i> *	LC	1	-	-
	<i>Xiphorhynchus fuscus</i>	LC	2	-	-
<b>Psittaciformes</b>	<i>Aratinga cactorum</i>	LC	1	-	-
	<i>Forpus xanthopterygius</i> *	LC	2	-	-
<b>Total</b>			<b>111</b>	<b>6 (5,40%)</b>	<b>2 (1,80%)</b>

(Conclusão)

**Legenda:** \* Espécies com registro de análise para *Chlamydia* na literatura; **IUCN:** Status de ameaça de extinção baseado na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da International Union for Conservation of Nature (IUCN), sendo LC, Least Concern, significando “pouco preocupante” e VU, significando “vulnerável”; **n:** total de espécimes; ***Chlamydia sp.* +:** resultados positivos para o PCR de triagem de *Chlamydia sp.*; ***C. psittaci* +:** resultados positivos para PCR de *C. psittaci*.

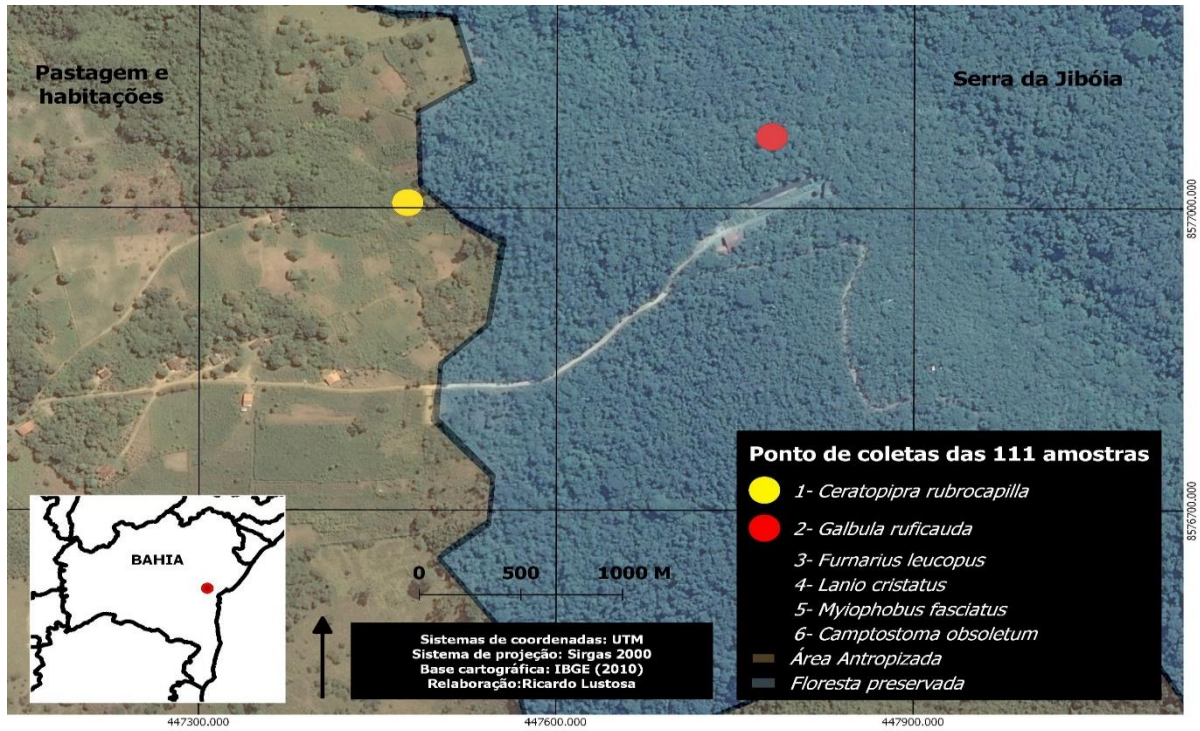
Na tabela 3, foi atribuída uma classificação baseada na International Union for Conservation of Nature (IUCN), que leva em consideração o status de ameaça de extinção por espécie, definido por meio de critérios que incluem a taxa de declínio da população (entendida como o número de indivíduos por espécie), o tamanho e a distribuição da população, a área de distribuição geográfica e o grau de fragmentação. As categorias são: Segura ou pouco preocupante, *Least Concern*, em inglês (LC), que é a categoria de risco mais baixo; quase ameaçada ou *Near Threatener*, em inglês (NT), onde a espécie incluída nessa categoria está perto de ser classificada ou provavelmente será incluída numa das categorias de ameaça num futuro próximo; Categorias Ameaçadas: vulnerável ou *Vulnerable* (VU), quando a espécie enfrenta um risco elevado de extinção na natureza em um futuro bem próximo, a menos que as circunstâncias que ameaçam a sua sobrevivência e reprodução melhorem; em perigo ou *Endangered* (EN), quando a espécie provavelmente será extinta num futuro próximo;

criticamente em perigo ou *Critically Endangered* (CR), é a categoria de maior risco atribuído pela Lista Vermelha para espécies selvagens; extinta na natureza ou *Extinct in the Wild* (EW), quando a espécie é presumida como tal quando estudos exaustivos em seus habitats não conseguem encontrar um único indivíduo em vida livre; extinta ou *Extinct* (EX), quando não há qualquer dúvida razoável que o último indivíduo morreu, a espécie é considerada extinta.

São inéditos os dados obtidos no presente estudo com a identificação de *Chlamydia psittaci* em aves silvestres *Myiophobus fasciatus* e *Ceratopipra rubrocapilla*, (1,80%, 2/111) de hábitos de área antropizada de borda e de interior de florestas (OLIVEIRA, 2012), respectivamente, bem como, de *Chlamydia sp.* em *Camptostoma obsoletum*, *Furnarius leucopus*, *Galbula ruficauda* e *Lanio cristatus* (3,60%, 4/111) presentes em bordas das matas, áreas de cerrado ou caatingas, todas de Bioma Mata Atlântica (MOREIRA-LIMA, 2013), na Serra da Jiboia, estado da Bahia (Figura 5). São escassos os trabalhos que tenham relatado a identificação de *Chlamydia* em aves de vida livre no Brasil e no mundo.

Pode-se afirmar que *Chlamydia* circula em aves silvestres de vida livre no bioma Mata Atlântica. Estes achados, hábitos, individualidades ou coabitação de espécimes com excreções de aves infectadas (Quadro 1) pode integrar diferentes perfis de paisagem antropizada ou preservada, contribuindo para manutenção ou dispersão de *Chlamydia* entre avifauna silvestre e humanos. As amostras testadas positivas para *Chlamydia sp.*, representam 5,40% (6/111) do total de aves amostradas e dentre a quantidade de espécies inventariadas, as amostras positivas representam 10,90% (6/55) do total.

**Figura 5.** Locais de coleta de 111 amostras de aves de vida livre e espécies infectadas por *Chlamydia sp.*, na região da Serra da Jiboia, Bahia, Brasil, 2019.



Aves infectadas por *Chlamydia psittaci* (1 e 5) e por *Chlamydia* sp. (2, 3, 4, 6).

**Quadro 1.** Aves silvestres positivas para *Chlamydia psittaci* ou *Chlamydia* sp., distribuição e biogeografia, características de forrageamento, nidificação e alimentação, Serra da Jiboia, Bahia, Brasil, 2019.

<b>Espécie</b>	<b>Distribuição e biogeografia</b>	<b>Características</b>	<b>Referência</b>
<b>1 - <i>Ceratopipra rubrocapilla</i> *</b>	Espécie comum nos estratos baixos e médio de florestas úmidas e capoeiras maduras.	Animal frugívoro	OLIVEIRA, 2012.
<b>2 - <i>Myiophobus fasciatus</i> *</b>	Geralmente não penetra no interior dos ambientes florestados, usando as bordas das matas, áreas de cerrado, caatingas ou campos com arbustos adensados. Comum em áreas alteradas, especialmente nos primeiros estágios de recuperação.	Insetívoro capturando insetos em voo	SICK, 1997.
<b>3 - <i>Camptostoma obsoletum</i> **</b>	Ocorre em áreas de campos com arbustos de todo o país, adaptando-se a ambientes urbanos com alguma arborização, desde a copa das árvores mais destacadas até próximo ao chão. Na Mata Atlântica, habita bordas e clareiras de florestas e áreas com vegetação arbustiva.	Espécie sem dimorfismo sexual que se alimenta de frutos e invertebrados.	MOREIRA-LIMA, 2013.
<b>4 - <i>Furnarius leucopus</i> **</b>	Comum em paisagens abertas e semi-abertas, como capões e florestas de galeria. Vive solitário ou aos pares, andando no chão. Na Mata Atlântica, habita áreas abertas geralmente próximo a água e adapta-se bem a ambientes alterados, incluindo áreas rurais.	Alimenta-se pegando insetos diretamente no solo ou procurando-os sob folhas caídas.	PIACENTINI, 2015.
<b>5 - <i>Galbula ruficauda</i> **</b>	Ocorre em boa parte do Brasil, nas áreas florestadas e secas, nos ambientes mais adensados, especialmente em suas bordas e clareiras.	Insetívoro, caçando exclusivamente insetos em voo. São monogâmicos, vivendo em casais durante o ano.	CHAINED, 2010.
<b>6 - <i>Lanio cristatus</i> **</b>	Comum nos estratos médio e superior de florestas úmidas de terra firme e de várzea, e com menor frequência nas bordas de florestas, capoeiras arbóreas e pequenas clareiras adjacentes. Na Mata Atlântica, habita as bordas e os estratos médio e superior de florestas de terras baixas e submontana	Caça insetos ativamente na folhagem e alimenta-se também de frutos, bem acima do solo. Vive aos pares ou em pequenos grupos familiares que pode ser acompanhado de bandos mistos de outras aves. Faz ninho no sub-bosque da floresta.	CLEMENTS, 2005.

\* Aves positivas para *Chlamydia psittaci*; \*\* Aves positivas para *Chlamydia* sp.

São elas: Apodiformes, Caprimulgiformes, Columbiformes, Galbuliformes, Passeriformes e Psittaciformes. A ordem Passeriformes foi a que obteve o maior número de exemplares, com 44 espécies, seguido da Columbiformes, com 4 espécies, Apodiformes com 3 espécies, Psittaciformes com 2 espécies e Caprimulgiformes e Galbuliformes, com 1 espécie cada (Tabela 3). De forma complementar, as seis amostras positivas para *Chlamydia* sp. foram submetidas a um novo PCR convencional para identificação de positividade para *C. avium*, porém nenhuma apresentou resultado positivo. O potencial zoonótico de *C. avium* é desconhecido, no entanto existe relatos de infecção em psitacídeos e columbídeos (ZOZEVIC, 2013).

O número de espécimes de cada espécie foi equilibrado diante do total de amostras (111), onde a espécie que foi capturada com um maior número de indivíduos (*Basileuterus flaveolus*), representou apenas seis exemplares. Pode-se inferir que a condição do ambiente e a oferta de alimento, mesmo tendo espécies com diferentes nichos, tem sido capaz de sustentar populações diversificadas sem que haja preponderância de alguma (s) dela (s), o que poderia sinalizar certo grau de desequilíbrio ecológico na área estudada.

A Bahia está inserida no Bioma Mata Atlântica, considerado um dos 36 *hotspots* do mundo para a conservação da biodiversidade. A Bahia possui uma diversidade aviária alta, com mais de 930 espécies, e no seu Corredor Central, mais de 50% das espécies de aves endêmicas de Mata Atlântica, 15% delas não sendo encontradas em nenhum outro lugar do mundo (MYERS, 2000). No Anexo B, observa-se que todas as 55 espécies capturadas no estudo, estão classificadas na categoria LC (pouco preocupante), exceto a espécie *Myrmotherula urosticta* a qual possui sua distribuição restrita ao Corredor Central da Mata Atlântica, sendo enquadrada na categoria ameaçada como vulnerável (VU). A vulnerabilidade das espécies é causada principalmente por perda ou destruição de habitat. Espécies vulneráveis são monitoradas e, frequentemente, encontradas em cativeiro, onde podem ser abundantes (BirdLife International, 2016). Os esforços para coletar espécimes de hábito noturno resultaram na captura de quatro indivíduos de *Nyctidromus albicollis*, sobre a qual, segundo o nosso conhecimento ainda não constam dados de investigação de infecção por *C. psittaci*. O mesmo ocorrendo com a maioria das espécies (72,72%, 40/55) capturadas no presente estudo, estando sem o símbolo asterisco no Anexo B. Foram capturados indivíduos das ordens Columbiformes (6,30%, 7/111) e Psitaciformes (2,70%, 3/111) as quais, na literatura apresentam frequente relação com casos de infecção por *C. psittaci* (RASO, 2014).

A região estudada apresenta uma floresta, cuja fisionomia é típica de Florestas Estacionais Semidecíduais, classificada como uma Floresta Estacional Semidecidual Primária (Figura 5). Ela apresenta uma fisionomia arbórea dominante, com formação de um dossel uniforme. Há ocorrência e grande abundância de serapilheira, grande diversidade de epífitas e trepadeiras, que se apresentam como lenhosas. Essas características predominam em florestas pouco degradadas, já que requerem condições muito específicas de microclima e estrutura da vegetação. No entanto, as aves testadas na região de borda da mata, sofrem intensa pressão do ambiente humano nas comunidades periféricas à Serra (CARVALHO-SOBRINHO et al., 2005).

Apesar de não terem sido registrada *Chlamydia* em aves de vida livre comumente traficadas, como, *Aratinga cactorum* e *Forpus xanthopterygius* inventariadas neste estudo, observa-se que estas podem coabitar com outras espécies de aves positivas. O *Sporophila nigricollis* possui o hábito de forragear em ambientes antropizados como áreas abertas com gramíneas em ambiente rural e urbano, também utilizados por algumas das espécies (MOREIRA-LIMA, 2013) descritas no Quadro 1.

Existem poucos estudos com a identificação de *Chlamydia* em espécies de aves de vida livre no Brasil. Em 2006, RASO e colaboradores, investigaram a infecção por *C. psittaci* em filhotes de *A. aestiva* e *A. hyacinthinus* de vida livre no Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram coletadas amostras de *swabs* de orofaringe e cloaca de 32 papagaios e de 45 araras, e analisadas por meio de *semi-nested* PCR. *Swabs* de dois espécimes de *A. aestiva* foram positivos para o de DNA de *Chlamydia* (6,3%). Nas araras, os *swabs* de orofaringe e cloaca foram positivos em 8,9% e 26,7% das amostras, respectivamente. Esses resultados indicaram ampla disseminação desse patógeno nas duas populações avaliadas de psitacídeos. As aves não apresentaram sinais clínicos sugestivos de clamidiose. Esse foi o primeiro relato com a avaliação de prevalência para *C. psittaci* em aves de vida livre nessas duas espécies no Brasil.

No Estado do Paraná, RIBAS, et al. (2014) investigaram a presença de *C. psittaci* em populações de vida livre de *A. brasiliensis*. Para a pesquisa da infecção, amostras de *swab* cloacal e traqueal foram coletadas de 117 filhotes dos psitacídeos e submetidos à teste de PCR. O DNA de *C. psittaci* foi detectado em apenas 1,2% (1/117) das amostras das aves analisadas. Já em 2017, VAZ e colaboradores, avaliaram amostras de sangue de 64 espécimes de *A. brasiliensis* e testadas quanto à presença de anticorpos de *C. psittaci* por meio de ELISA e amostras de *swabs* de cloaca e orofaringe foram coletadas de 50 filhotes de papagaios para

diagnóstico por meio de PCR, no entanto, todas as amostras pesquisadas por ELISA e PCR foram negativas.

RIBEIRO e colaboradores, em 2013, analisaram amostras de sangue e cloaca de 53 espécies de aves de vida livre no Distrito Federal (DF). O diagnóstico de *Chlamydia* foi realizado por *nested-PCR*. A prevalência de *C. psittaci* foi observada em 83% das espécies aviárias estudadas. *Myiophobus fasciatus* foi uma das espécies identificadas como positivas para *Chlamydia*, em dois espécimes nesse estudo do DF, coincidindo com uma das espécies positivas no nosso estudo.

A grande maioria das espécies avaliadas no presente estudo foram investidas pela primeira vez. A quantidade de aves amostrada foi elevada, visto que, o n atingido foi conseguido em um único dia e utilizando-se de apenas uma metodologia. Em outros estudos, no mesmo local, foram adotados um esforço amostral maior como registros fotográficos, vocalização em gravadores para atrair determinada espécie, uso de binóculos e identificação de ninhos (MORAES e FREITAS, 1999; FREITAS e MORAES, 2009; GAMBA, 2015).

Estudos sugerem que a prevalência de *Chlamydia* pode ser influenciada pela antropização do habitat. Essas condições podem contribuir para a redução da área natural disponível e conseqüentemente para o aumento da densidade populacional do hospedeiro. Embora nenhuma das aves estudadas tenha mostrado sinais clínicos sugestivos de clamidiose, o patógeno pode ser eliminado de forma intermitente nas fezes (RIBEIRO, 2013).

Mais estudos são necessários para entender melhor a contribuição dessas espécies na transmissão do patógeno para outras espécies selvagens ou domésticas, e especialmente para humanos. Isto se mostra importante no caso de espécies como *Myiophobus fasciatus*, que é muito comum em áreas antropizadas e diagnosticada positiva para *C. psittaci*. As espécies *Furnarius leucopus* e *Camptostoma obsoletum* também merecem atenção especial, pois são muito comuns em paisagens abertas adaptando-se bem a ambientes alterados, incluindo áreas rurais, e uma vez que essas espécies coabitam ambientes antropizados, podendo contaminar o ambiente com a bactéria nessas áreas, sendo possível atingir novas espécies hospedeiras aviárias ou humanas.

## 7 CONCLUSÕES

A Área de Proteção Ambiental da Serra da Jiboia, localizada no Bioma Mata Atlântica da Bahia, possui uma elevada diversidade de aves de vida livre, com 55 espécies registradas neste estudo para áreas antropizadas e de floresta. Dentre as espécies, *Myrmotherula urosticta* foi registrada, sendo esta uma ave categorizada como vulnerável pela International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN).

A partir dos estudos realizados, pode-se afirmar que *Chlamydia* circula em aves vida livre no bioma Mata Atlântica, bem como foram realizados registros inéditos de sua identificação em *Ceratopipra rubrocapilla*, *Camptostoma obsoletum*, *Furnarius leucopus*, *Galbula ruficauda* e *Lanio cristatus* para o Brasil e em *Myiophobus fasciatus* para o Bioma Mata Atlântica. Estes raros achados contribuem no estudo epidemiológico de *Chlamydia* para aves de vida livre.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAZIZ, R.; GOURLAY, P.; VORIMORE, F., SACHSE, K., SIARKOU, V. I.; LAROUCAU, K. Chlamydiaceae in North Atlantic seabirds admitted to a wildlife rescue center in western France. **Appl Environ Microbiol.** França. v. 81, p.4581– 4590. 2015.
- ALMEIDA, M. A. B.; SANTOS, E.; RASO, T. F. Ocorrência de psitacose humana no Estado do Rio Grande do Sul associada ao contato com Caturritas (*Myiopsitta monachus*). XII Congresso Brasileiro de Ornitologia, 2002. Blumenau/SC. **Anais do XII Congresso da SBO, 2004**, p. 131. 2004.
- ANDERSEN, A. A. Comparison of pharyngeal, fecal, and cloacal samples for the isolation of *Chlamydophila psittaci* from experimentally infected cockatiels and turkeys. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.** USA. v.8, p.448-450, 1996.
- ANDERSEN, A. A.; VANROMPAY, D. Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne D.E. **Diseases of poultry**, 11th ed. Ames (IA): Iowa State University Press; p. 863–79, 2003.
- BALSAMO, G.; MAXTED, A. M.; MIDLA, J. W.; MURPHY, R. W. Compendium of Measures to Control Chlamydia psittaci Infection Among Humans (Psittacosis) and Pet Birds (Avian Chlamydiosis), **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.1, p.161-167, 2017.
- BEDSON, S.P.; WESTERN, G.T.; SIMPSON, S.; LEVY, S. *Observations on the aetiology of psittacosis.* **Lancet** 1930, I: 235-6. 1930.
- BirdLife International. *Myrmotherula urosticta* . A Lista Vermelha da IUCN de Espécies Ameaçadas 2016: e.T22701533A93834692. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T22701533A93834692.en>. 2016.
- BOMMANA, S.; POLKINGHORNE, A. Mini Review: Antimicrobial Control of Chlamydial Infections in Animals: Current Practices and Issues. Inglaterra. **Front. Microbiol.** v.10, n.113. 2019.
- BONELLO, F. L. **Avaliação do manejo e do potencial zoonótico de papagaios-verdadeiros (Amazona aestiva) mantidos em cativeiro domiciliar.** 2006. 71p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista, 2012.
- BOREL, N.; POLKINGHORNE, A.; POSPISCHIL, A. A Review on Chlamydial Diseases in Animals: Still a Challenge for Pathologists?. Suíça. **Veterinary Pathology.** v. 55, n. 3, p. 374-390. 2018.
- BRANLEY, J.; BACHMANN, N.L.; JELOCNIK, M.; MYERS, G.S.A.; POLKINGHORNE, A. Australian human and parrot Chlamydia psittaci strains cluster within the highly virulent 6BC clade of this important zoonotic pathogen. **Sci Rep** v.6. 2016.
- BRAZ, M. A.; SILVA, M. E. B.; GARCIA, S. D.; NAKAMURA, A. A.; MEIRELES, M. V. Detecção e classificação molecular de *Chlamydophila psittaci* em amostras fecais de aves assintomáticas. Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.1, p.161-167, 2014

- BURNARD, D.; POLKINGHORNE, A. Chlamydial infections in wildlife—conservation threats and/or reservoirs of ‘spill-over’ infections? Austrália. **Veterinary Microbiology** v.196 p. 78–84. 2016.
- CARVALHO-SOBRINHO, J. G.; QUEIROZ, L.P. *Composição florística de um fragmento de Mata Atlântica na Serra da Jibóia, Santa Teresinha, Bahia*. **Sitientibus**. 2005
- CHAINED, N. M. Rufous-tailed Jacamar (*Galbula ruficauda*), **Neotropical Birds Online** (T. S. Schulenberg, Editor). Ithaca: Cornell Lab of Ornithology; retrieved from Neotropical Birds Online, 2010.
- CHEONG, C. H. et al., Chlamydiaceae: Diseases in Primary Hosts and Zoonosis. **Microorganisms**. Malásia. v. 7, n. 146. 2019.
- CLEMENTS, J. F.; **The Clements Checklist of Birds of the World**. Cornell: Cornell University Press, 2005.
- DENAMUR, E.; SAYADA, C.; SOURIAU, A.; ORFILA, J.; RODOLAKIS, A.; ELION, J. Restriction pattern of the *momp* gene provides evidence for a homogeneous invasive group among ruminant isolates of *C. psittaci*. **J.Gen. Microbiol.**, Grã-bretanha v. 137, p.2525-30, 1991.
- DUSEK, R. J.; JUSTICE-ALLEN, A.; BODENSTEIN, B. Chlamydia psittaci in feral rose-faced lovebirds (*agapornis roseicollis*) and other backyard birds in Maricopa county, Arizona, usa. **Journal of Wildlife Diseases**, USA. v. 54, n.2, p. 248–260, 2018.
- ECCO R., PREIS I.S., MARTINS N.R.S., VILIELA D.A.R., SHIVAPRASAD H.L. An outbreak of chlamydiosis in captive psittacines. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**.v.2, n.2, 85-90, 2009.
- EHRICHT, R.; SLICKERS, P.; GOELLNER, S.; HOTZEL, H.; SACHSE, K. Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR amplifiable target copies. **Mol Cell Probes**. Alemanha v. 20, p. 60–63. 2006.
- EVERETT, K. D. E.; BUSH, R. M.; ANDERSEN, A. A. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. **International Journal of Systematic Bacteriology**. v.49, p.415-440, 1999.
- EVERETT, K. D. E. Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye. **Veterinary Microbiology**. v.75, p.109-126, 2000.
- FREITAS, M.A.; MORAES, E.P.F. Levantamento da avifauna da reserva Jequitibá (Serra da Jiboia), município de Elísio Medrado, Bahia. **Atualidades Ornitológicas**, v. 147, p. 73-76. 2009.
- FREITAS, M. A.; ABEGG, A. D.; DIAS, I. R.; MORAES, E. P. F. Herpetofauna from Serra da Jiboia, na Atlantic Rainforest remnant in the state of Bahia, northeastern Brazil. **Herpetology Notes**. v. 11, p. 59-72. 2018.

GAMBA (Grupo Ambientalista da Bahia). Proposta de Unidade de Conservação da Serra da Jiboia. **Salvador**, BA. 230p. 2015

GEDYE, K. R.; FREMAUX, M.; GARCIA-RAMIREZ, J.; GARTRELL, B. D. A preliminar survey of *Chlamydia psittaci* genotypes from native and introduced birds in New Zealand, **New Zealand Veterinary Journal**, 2018.

GEENS, T.; DESPLANQUES, A.; LOOCK, M. V.; BONNER, B. M.; KALETA, E. F.; MAGNINO, S.; ANDERSEN, A. A.; EVERETT, K. D. E.; VANROMPAY, D. Sequencing of the *Chlamydophila psittaci* ompA Gene Reveals a New Genotype, E/B, and the Need for a Rapid Discriminatory Genotyping Method. **Journal of Clinical Microbiology**. v.43, n.5, p. 2456-2461, 2005.

GERLACH, H. **Chlamydia**. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. Avian Medicine: principles and application. Florida: Wingers, Cap. 34, p. 984-996. 1994.

GOSBELL, I.B.; ROSS, A. D.; TURNER, I.B.; Chlamydia psittaci infection and reinfection in a veterinarian. **Aust Vet J** v. 77, p. 511–513. 1999.

GRANTSAU, R. **Guia completo para identificação das aves do brasil**. 1. ed. São Paulo: Editora Vento Verde, 1280p. 2010.

GUZMAN, D. S. M.; DIAZ-FIGUEROA, O.; JR, T. T.; CIEMBOR, P.; MORGAN, T.; WALDEN, M.; POSTON, R. P.; FLAMMER, K.; MITCHELL, M. A.; RITCHIE, B. Evaluating 21-day Doxycycline and Azithromycin Treatments for Experimental *Chlamydophila psittaci* Infection in Cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**. v. 24, n. 1, p. 35-45, 2010.

HARKINEZHAD, T.; GEENS, T.; VANROMPAY, D. *Chlamydophila psittaci* infections in birds: A review with emphasis on zoonotic consequences. **Veterinary Microbiology**. v. 135, p.68-77, 2009.

HARKINEZHAD, T.; VERMINNEN, K.; BUYZERE, M.; RIETZSCHEL, E.; BEKAERT, S.; VANROMPAY, D. Prevalence of *Chlamydophila psittaci* infections in a human population in contact with domestic and companion birds. **Journal of Medical Microbiology**. v.58, p.1207-1212, 2009.

IUCN. **International Union for Conservation of Nature and Natural Resources** A Lista Vermelha da IUCN de Espécies Ameaçadas. Versão 2019-3. <http://www.iucnredlist.org>. 2019.

KALETA, E. F.; TADAY, E. M. Avian host range of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. **Avian Pathology**. v. 32, p. 435-461, 2003.

KALMAR, I. D., DICXK, V., DOSSCHE, L., VANROMPAY, D. Zoonotic infection with *Chlamydia psittaci* at na avian refuge centre. **The Veterinary Journal**. Bélgica. v. 199, p. 300–302, 2014.

KRAWIEC, M. PIASECKI T.; WIELICZKO A. Prevalence of *Chlamydia psittaci* and Other *Chlamydia* Species in Wild Birds in Poland. **Vector-borne and zoonotic diseases**. v. 15, n. 11, 2015.

- LAROUCAU, K.; THIERRY, S.; VORIMORE, F.; BLANCO, K.; KALETA, E.; HOOP, R.; MAGNINO, S.; VANROMPAY, D.; SACHSE, K.; MYERS, G. S. A.; BAVOIL, P. M.; VERGNAUD, G.; POURCEL, C. High resolution typing of *Chlamydophila psittaci* by multilocus VNTR analysis (MLVA). **Infection, Genetics and Evolution**. v.8, p.171–181, 2008.
- LAROUCAU, K.; BARBEYRAC, B.; VORIMORE, F.; CLERC, M.; BERTIN, C.; HARKINEZHAD, T.; VERMINNEN, K.; OBENICHE, F.; CAPEK, I.; BEBEAR, C.; DURAND, B.; ZANELLA, G.; VANROMPAY, D.; GARIN-BASTUJI, B.; SACHSE, K. Chlamydial infections in duck farms associated with human cases of psittacosis in France. **Veterinary Microbiology**. v.135, p.82-89, 2009.
- LEAL, D. C. **Epidemiologia da infecção por *Chlamydophila Psittaci* em psittaciformes e columbiformes no Estado da Bahia**. 2013. 122p. Tese (Doutorado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2013.
- LEMOS, M.S.; SANTANA, C. S.; FLORES, F. M; MACHADO, C. G. Avifauna de un Fragmento de Mata Atlántica en Noreste de Brasil. **Anais: Libro de Resúmenes del IX Congreso de Ornitología Neotropical**. 2011.
- LEMUS JA, FARGALLO JA, VERGARA P, PAREJO D, BANDA E. Natural cross chlamydial infection between livestock and free-living bird species. **PLoS One** v. 52. 2010.
- LIU, SZU-YU.; LI, KUANG-PO.; HSIEH, MING-KUN. Prevalence and Genotyping of *Chlamydia psittaci* from Domestic Waterfowl, Companion Birds, and Wild Birds in Taiwan. **Vector-borne and zoonotic diseases**. v. 20, n. 20, 2019.
- LONGBOTTOM, D.; COULTER, L.J. Animal Chlamydiosis and zoonotic implications. **Journal of Comparative Pathology**, v.128, p.217-244, 2003.
- LOSS, A.T.G; NETO, E. M. C.; MACHADO, C. G.; FLORES, F. M. Ethnotaxonomy of birds by the inhabitants of Pedra Branca Village, Santa Teresinha municipality, Bahia state, Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 10, p. 1-15, 2014.
- LUJÁN-VEJA, C.; HAWKINS, M. G.; JOHNSON, C. K. Atypical Chlamydiaceae in wild populations of hawks (*buteo* spp.) in California. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 49, n. 1. p. 108–115, 2018.
- MARIA BLOMQUIST; CHRISTERSON LINUS; WALDENSTROM. *Chlamydia psittaci* in Swedish Wetland Birds: A Risk to Zoonotic Infection? **Avian Diseases** v. 56, p. 737–740, 2012.
- MESSMER, T. O; SKELTON, S. K.; MORONEY, J. F; DAUGHARTY, H.; FIELDS, B. S. Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 35, n.8, p. 2043–2046, 1997.
- MEYER, K.F., Eddie, B. *Latent psittacosis infections in shell parakeets*. **Proc Soc Exptl Biol Med**, v. 30, p. 484-488. 1933.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, D. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**. v. 403, p. 853-858. 2000.

METEYER, U. C.; CHIN, R. P.; CASTRO, A. E. An epizootic of chlamydiosis with high mortality in a captive population of euphonias (*Euphonia violacea*) and hummingbirds (*Amazilia amazilias*). **J Zoo Wildl Med**, v. 23, p. 222-229, 1992.

MINA, A., FATEMEH. A., JAMSHID, R. Detection of *Chlamydia psittaci* Genotypes Among Birds in Northeast Iran. **Journal of Avian Medicine and Surgery** 33(1):22–28, 2019.

MORAES, E.P.F.; FREITAS, M. A. Levantamento da Ornitofauna e Mastofauna da Serra da Jibóia, Município de Elísio Medrado e Santa Terezinha BA. **In: XII Encontro Nordestino de Zoologia**. 1999.

MOREIRA-LIMA, L. **Aves da Mata Atlântica: riqueza, composição, status, endemismos e conservação**. 2013. 513p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 2013.

NASPHV - NATIONAL ASSOCIATION OF STATE PUBLIC HEALTH VETERINARIANS. **Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* infection among humans (psittacosis) and pet birds (avian chlamydiosis)**. 2010.

OKUDA, H.; OHYA, K.; SHIOTA, Y.; KATO, H.; FUKUSHI, H. Detection of *Chlamydophila psittaci* by Using SYBR Green Real-Time PCR. **Journal of Veterinary Medical Science**. v.73, n.2, p.249-254, 2011.

OIE. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. 2004.

OLSEN, B.; PERSSON, K.; BROHOLM, K-A. PCR detection of *Chlamydia psittaci* in faecal samples from passerine birds in Sweden. **Epidemiology & Infection**. v.121, p.481-483, 1998.

OLIVEIRA, F. G. S. **Influência da estacionalidade no comportamento de corte de *Pipra rubrocapilla* (Passeriformes: Pipridae) em um remanescente de Mata Atlântica no estado de Pernambuco**. 2012. Recife. 61f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2012.

ORIGLIA, J.; CADARIO, M. E.; FRUTOS, M. C.; LOPEZ, N. F. Detection and molecular characterization of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus* in psittacine pet birds in Buenos Aires province, Argentina. **Rev Argent Microbiol**. 2018.

ORTEGA, N.; APAZA, D.; GONZALEZ, F. Occurrence of Chlamydiaceae in non-symptomatic free-living raptors in Spain. **Eur J Wildl Res** v. 58, p. 351–355. 2012.

PADILLA, L. R.; FLAMMER, K.; MILLER, R. E. Doxycycline-medicated drinking water for treatment of *Chlamydophila psittaci* in exotic doves. **J Avian Med Surg**, v. 19, n. 2, p. 88-91, 2005.

PANTCHEV, A.; STING, R.; BAUERFEIND, R.; TYCZKA, J.; SACHSE, K. New real-time PCR tests for species specific detection of *Chlamydophila psittaci* and *Chlamydophila abortus* from tissue samples. **The Veterinary Journal**. v.181, p.145-150, 2009.

PANTCHEV, A.; STING, R.; BAUERFEIND, R.; TYCZKA, J.; SACHSE, K. Detection of all *Chlamydophila* and *Chlamydia* spp. of veterinary interest using species-specific real-time PCR assays. **Microbiology and Infectious Diseases**. v.33, p.473-484, 2010.

PARUT S, RATTANAPORN O, WITTHAWAT W, NAREERAT S, PAISIN L, LADAWAN S. Occurrence of *Chlamydia* spp. in wild birds in Thailand. **Asian Pac J Trop Med** v. 12, n.2, p. 67-71. 2019.

PIACENTINI, P. **Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee** / Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia*, v. 23, n.2, p. 91–298. 2015.

PIRES-SANTOS, D., LOSS, A. T. G., ANDREA, M. V., NETO, E. M. C. O conhecimento etnoornitológico dos moradores do município de Elísio Medrado, Bahia, Brasil. **Revista Ouricuri**, Paulo Afonso, Bahia, v.5, n.1, p. 67-85, 2015.

POSPISCHIL, A. From disease to etiology: historical aspects of *Chlamydia*-related diseases in animals and humans. **Drugs Today**, v. 45, p.141-146. 2009.

PROENÇA L.M., CARVALHO C.M., COSTA E.L., CARVALHO A.M., & FAGLIARI J.J. Estudo epidemiológico e avaliação de diferentes protocolos de tratamento para *Chlamydomydia psittaci* em aves de companhia no Distrito Federal. **Anais do XIII Congresso ABRAVAS**. 2010.

PROENÇA, L. M.; FAGLIARI, J. J.; RASO, T. F. *C. psittaci* infection: a review with emphasis in psittacines. **Ciência Rural**, v.41, n.5, 2011.

RASO, T. F. **Detecção de infecção por *Chlamydia psittaci* em papagaios do gênero *Amazona* mantidos em cativeiro**. Jaboticabal/SP, 1999. 61p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP.

RASO, T. F.; BERCHIERI JR., A.; PINTO, A. A. Evidence of *Chlamydomydia psittaci* infection in captive amazon parrots in Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v.33, p.118-121, 2002.

RASO, T. F.; GODOY, S. N.; MILANELO, L.; SOUZA, C. A. I.; MATUSCHIMA, E. R.; ARAÚJO, J. P.; PINTO, A. A. An outbreak of chlamydiosis in captive blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) in Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v.35, p.94-96, 2004.

RASO, T. F.; SEIXAS, G. H. F.; GUEDES, N. M. R.; PINTO, A. A. *Chlamydomydia psittaci* in free-living Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) and Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Microbiology**. v.117, p. 235-241, 2006.

RASO, T. F. Clamidiose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (org.). **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2007. Cap. 47, p. 760-767.

RASO, T. F.; CARRASCO, A. O. T.; SILVA, J. C. R.; MARVULO, M. F. V.; PINTO, A. A. Seroprevalence of Antibodies to *Chlamydomydia psittaci* in zoo Workers in Brazil. **Zoonoses and Public Health**. v.57, p.411-416, 2010.

RASO, T. F.; GRESPAN, A.; FERREIRA, V. L.; PINHEIRO, S. R. *Chlamydomydia psittaci* infection in pet cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) in Brazil. **1st International Congress on Pathogens at the Human-Animal Interface (ICOPHA)**: Impact, Limitations and Needs in

Developing Countries, United Nations Conference Center, Addis Ababa, Ethiopia. Proceedings? p. 41, 2011.

RASO, T. F.; FERREIRA, V. L.; TEIXEIRA, R. H. F.; PINTO, A. A. Survey on *Chlamydomphila psittaci* in captive rhamphastids in São Paulo State, Brazil. **Ciência Rural**, v. 42, n. 7, p. 1249-1252, 2012.

RASO, T. F.; TEIXEIRA, R. H. F.; CARRASCO, A. O. T.; JUNIOR, J. P. A.; PINTO, A. A. *Chlamydomphila psittaci* infection in Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) originate from illegal trade in São Paulo, Brazil. **Journal Zoo and Wildlife Medicine**, v. 44, n. 1, p. 169-172, 2013.

RASO, T. F. **Clamidiose – Novas abordagens diagnósticas e terapêuticas**. In: CUBAS, Zalmir S.; SILVA, Jean C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (org.). Tratado de animais selvagens. São Paulo: Roca, 2014. Cap. 67, p. 1497-1509.

READ TD, JOSEPH SJ, DIDELOT X, LIANG B, PATEL L, DEAN D. Comparative analysis of *Chlamydia psittaci* genomes reveals the recent emergence of a pathogenic lineage with a broad host range. **mBio** v. 4. 2013.

RIBAS, J. M.; SIPINSKI, E. A. B.; SERAFINI, P. P.; FERREIRA, V. L.; RASO, T. F.; PINTO, A. A. *Chlamydomphila psittaci* assessment in threatened red-tailed Amazon (*Amazona brasiliensis*) parrots in Paraná, Brazil. **Veterinary Microbiology** v. 196, p. 78–84. 2016.

RIBEIRO, V.; GUEDES, L. B. S.; CAVALCANTE, W. S.; CAPARROZ, R. Prevalence of *Chlamydia* in free-living birds in Distrito Federal, Brazil. **Revista Brasileira de Ornitologia**. v. 21, n. 2, p. 114-119, 2013.

ROBERTSON, T.; BIBBY, S.; O'ROURKE, D.; BELFIORE, T.; LAMBIE, H.; NOORMOHAMMADI, A. H. Characterization of *Chlamydiaceae* species using PCR and high resolution melt curve analysis of the 16S rRNA gene. **Journal of Applied Microbiology**. v.107, p. 2017-2028, 2009.

RODOLAKIS, A.; MOHAMAD, K. Y. Zoonotic potential of *Chlamydomphila*. **Veterinary Microbiology**. v.140, p. 382-391, 2010.

SACHSE, K.; LAROUCAU, K.; HOTZEL, H.; SCHUBERT, E.; EHRLICH, R.; SLICKERS, P. Genotyping of *Chlamydomphila psittaci* using a new DNA microarray assay based on sequence analysis of ompA genes. **Bio Med Central Microbiology**. v.8, n.63, p.1-12, 2008.

SACHSE, K.; LAROUCAU, K.; VORIMORE, F.; MAGNINO, S.; FEIGE, J.; MULLER, W.; KUBE, S.; HOTZEL, H.; SCHUBERT, E.; SLICKERS, P.; EHRLICH, R. DNA microarray-based genotyping of *Chlamydomphila psittaci* strains from culture and clinical samples. **Veterinary Microbiology**. Alemanha. v.135, p.22-30, 2009.

SACHSE. K., LAROUCAU, K.; RIEGE, K.; WEHNER, S.; DILCHER, M. Evidence for the existence of two new members of the Family *Chlamydiaceae* and proposal of *Chlamydia avium* sp. nov. and *Chlamydia gallinacea* sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology** v. 37, p. 79–88. 2014.

SACHSE, K.; LAROUCAU, K.; VANROMPAY, D. Avian chlamydiosis. **Curr Clin Microbiology Rep**. Alemanha. v. 2, p. 10–21, 2015.

SANTOS, F. *Chlamydomphila psittaci* em psittaciformes de estimação em Salvador, Bahia, Brasil. 2012. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2012.

SAYADA, C.; ANDERSEN, A. A.; STOREY, C.; MILON, A.; EB, F.; HASHIMOTO, N.; HIRAI, K.; ELION, J.; DENAMUR, E. Usefulness of *omp1* restriction mapping for avian *Chlamydia psittaci* isolate differentiation. **Research in Microbiology**. v.146, p.155-165, 1995.

SCHETTLER, E.; FICKEL, J.; HOTZEL, H.; SACHSE, K.; STEICH, W. J. Newcastle disease virus and *Chlamydia psittaci* in free-living raptors from eastern Germany. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 10, p. 57–63. 2003.

SICK, H. **Ornitologia brasileira - edição revista e ampliada por j. f. pacheco**. Rio de Janeiro: Ed. Nova Fronteira, 1997.

SMITH, K. A., CAMPBELL, C. T., MURPHY, J., STOBIERSKI, M. G., TENGESEN, L. A. Compendium of Measures to Control *Chlamydomphila psittaci* Infection Among Humans (Psittacosis) and Pet Birds (Avian Chlamydiosis), 2010 National Association of State Public Health Veterinarians (NASPHV). **Journal of Exotic Pet Medicine**. v. 20, n.1, p. 32-45, 2011.

SZYMAŃSKA-CZERWIŃSKA M, MITURA A, NIEMCZUK K, ZARĘBA K, JODEŃKO A, PLUTA A, et al. Dissemination and genetic diversity of chlamydial agents in Polish wildfowl: Isolation and molecular characterisation of avian *Chlamydia abortus* strains. **PLoS ONE** v. 12, n. 3. 2017.

TOLBA, H. M. N.; ABOU ELEZ, R. M. M.; ELSOHABY, I. Risk factors associated with *Chlamydia psittaci* infections in psittacine birds and bird handlers. **Journal of Applied Microbiology**. 2018.

VANROMPAY, D.; DUCATELLE, R.; HAESBROUCK, F. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. **Vet Microbiol**, v. 45, p. 93-119, 1995.

VANROMPAY, D.; BUTAYE, P.; SAYADA, C.; DUCATELLE, R.; HAESBROUCK, F. Characterization of avian *Chlamydia psittaci* strains using *omp1* restriction mapping and serovar-specific monoclonal antibodies. **Research in Microbiology**. v. 148, p. 327-333, 1997.

VANROMPAY, D. Update on avian chlamydiosis and its public health significance. **EJCAP**. v.18, n.3, p.267-273, 2008.

VASCONCELOS, T. C. B; NOGUEIRA, D. M.; PEREIRA, V. L. A.; NASCIMENTO, E. R.; BRUNO, S. F. *Chlamydia psittaci* in captive blue-and-gold macaws (*Ara ararauna*) in a triage center of wild animals in Brazil. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 23, n. 1-2, p. 37-41, 2016.

VLAHOVIC, k. Campylobacter, salmonella and chlamydia in free-living birds of Croatia. **Eur J Wildl Res** v. 50, p. 127–132. 2004.

WEST, A. A brief review of *Chlamydomphila psittaci* in birds and humans. **J Exot Pet Med**, v. 20, n. 1, p. 18-20, 2011.

ZOZEVIC, A.; VORIMORE, F.; VICARI, N.; GASPARINI, J.; JACQUIN, L.; A Real-Time PCR Assay for the Detection of Atypical Strains of Chlamydiaceae from Pigeons. **PLoS ONE** v. 8, n. 3, 2013.

## 9 APÊNDICES

APÊNDICE A – Tabela de campo da avifauna por ordem de captura (amostra). Idade: A – adulto; J – jovem; I – indeterminado. Sexo: M – macho; F – fêmea; I – indeterminado. Swabs: Coletado – X. (Continua)

Amostra	Espécie	Idade	Sexo	Peso (g)	Swab Cloaca	Swab Oral	Anilha	Anilha colorida
1	<i>Manacus manacus</i>	A	F	17	X	X	-	ÓBITO
2	<i>Conopophaga melanops</i>	A	M	23	X	X	G97911	vermelha - direito
3	<i>Dryophila squamata</i>	A	M	11	-	X	D73125	azul - direito
4	<i>Geotrygon montana</i>	J	I	100	X	X	N33455	amarela - direito
5	<i>Basileuterus flaveolus</i>	I	I	14	-	X	D71601	azul - esquerdo
6	<i>Ceratopira rubrocapilla</i>	A	F	13	-	X	D71606	azul - esquerdo
7	<i>Basileuterus flaveolus</i>	I	I	12	-	X	D71607	amarela - esquerdo
8	<i>Ceratopira rubrocapilla</i>	A	M	12	-	X	D71650	amarela - direito
9	<i>Arremon taciturnus</i>	A	M	20	X	X	G97912	amarela - direito
10	<i>Xiphorhynchus fuscus</i>	A	I	21	X	X	E55150	azul - esquerdo
11	<i>Dacnis cayana</i>	A	M	12	X	X	E55115	azul - esquerdo
12	<i>Lanio cristatus</i>	A	M	19	X	X	G97913	azul - esquerdo
13	<i>Lanio cristatus</i>	A	F	16	X	X	G97914	azul - esquerdo
14	<i>Dacnis cayana</i>	A	M	12	X	X	E55116	azul - esquerdo
15	<i>Elaenia chilensis</i>	A	I	16	X	X	E55117	amarela - esquerdo
16	<i>Dryophila squamata</i>	A	F	8	X	X	-	ÓBITO
17	<i>Columbina talpacoti</i>	A	M	50	X	X	H92470	-
18	<i>Turdus rufiventris</i>	A	I	51	X	X	J52207	verde - esquerdo
19	<i>Todirostrum cinereum</i>	A	I	7	-	-	D73126	FUGA
20	<i>Elaenia flavogaster</i>	A	I	20	X	X	D73149	verde - esquerdo
21	<i>Thalurania glaucopis</i>	A	F	4	-	X	-	-
22	<i>Synallaxis frontalis</i>	A	I	14	X	X	D73128	azul - esquerdo
23	<i>Leptotila verreauxi</i>	A	I	126	X	X	N33351	amarela - esquerdo
24	<i>Capsiempis flaveola</i>	A	I	7	-	X	D73129	laranja - direito
25	<i>Galbula ruficauda</i>	A	M	22	X	X	G97915	verde
26	<i>Tolmomyias flaviventris</i>	A	I	10	-	X	D73130	verde - direito
27	<i>Troglodytes musculus</i>	A	I	10	-	X	D73131	amarela - direito
28	<i>Turdus rufiventris</i>	A	I	70	X	X	J52208	verde/amarela - dir.

(Continuação)

Amostra	Espécie	Idade	Sexo	Peso (g)	Swab Cloaca	Swab Oral	Anilha	Anilha colorida
29	<i>Sporophila nigricollis</i>	J	M	10	-	X	D73132	roxa - direito
30	<i>Sporophila nigricollis</i>	J	M	10	-	X	D73148	verde - esquerdo
31	<i>Galbula ruficauda</i>	A	F	13	X	X	G97916	verde/branca - dir.
32	<i>Tolmomyias flaviventris</i>	A	I	11	-	X	D73147	verde - esquerdo
33	<i>Columbina talpacoti</i>	A	M	51	X	X	H70960	-
34	<i>Columbina talpacoti</i>	A	M	47	X	X	H92461	-
35	<i>Basileuterus flaveolus</i>	A	I	12	X	X	D73139	roxa - esquerdo
36	<i>Synallaxis frontalis</i>	A	I	14	X	X	D73134	azul - esquerdo
37	<i>Pachyramphus viridis</i>	J	M	17	X	X	G97917	verde - direito
38	<i>Manacus manacus</i>	J	M	14	X	X	D73135	branco - direito
39	<i>Myiophobus fasciatus</i>	A	I	12	X	X	D73136	azul - esquerdo
40	<i>Elaenia flavogaster</i>	A	I	20	X	X	E55118	azul - esquerdo
41	<i>Furnarius leucopus</i>	A	I	38	X	X	G97918	verde/amarela - dir.
42	<i>Synallaxis frontalis</i>	A	I	12	X	X	E55119	verde - direito
43	<i>Basileuterus flaveolus</i>	A	I	12	X	X	E55120	amarela - esquerdo
44	<i>Furnarius leucopus</i>	A	I	35	X	X	G97950	amarela - direito
45	<i>Synallaxis frontalis</i>	A	I	13	X	X	D73146	preto - esquerdo
46	<i>Thlypopsis sordida</i>	A	I	13	X	X	D73138	azul - esquerdo
47	<i>Elaenia cristata</i>	A	I	15	X	X	D73137	azul - esquerdo
48	<i>Elaenia cristata</i>	A	I	16	X	X	D73145	verde - direito
49	<i>Thamnophilus ambiguus</i>	A	F	20	X	X	G97919	verde/amarela - dir.
50	<i>Elaenia cristata</i>	A	I	14	X	X	D73144	-
51	<i>Arremon taciturnus</i>	A	F	27	X	X	G97920	roxa - direito
52	<i>Dacnis cayana</i>	A	F	12	X	X	D73139	-
53	<i>Turdus amaurochalinus</i>	A	I	61	X	X	H92431	vermelha - esquerdo
54	<i>Todirostrum cinereum</i>	A	I	6	-	X	D73140	laranja - direito
55	<i>Todirostrum cinereum</i>	A	I	6	-	X	D73141	preto - direito
56	<i>Sporophila nigricollis</i>	A	F	9	-	X	D73142	laranja - direito

(Continuação)

Amostra	Espécie	Idade	Sexo	Peso (g)	Swab Cloaca	Swab Oral	Anilha	Anilha colorida
57	<i>Volatinia jacarina</i>	A	M	9	-	X	D73143	verde - direito
58	<i>Forpus xanthopterygius</i>	A	F	21	X	X	G97927	roxo - esquerdo
59	<i>Forpus xanthopterygius</i>	A	M	27	X	X	G97922	laranja - esquerdo
60	<i>Ramphocelus bresilius</i>	A	F	33	X	X	G97923	vermelha - esquerdo
61	<i>Turdus leucomelas</i>	A	I	75	X	X	D52249	roxa - esquerdo
62	<i>Tangara cayana</i>	J	M	21	X	X	D71608	-
63	<i>Tolmomyias flaviventris</i>	A	I	12	X	X	D71609	-
64	<i>Tangara cayana</i>	A	M	19	X	X	D76191	-
65	<i>Glaucis hirsutus</i>	A	I	6	-	X	-	-
66	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	A	I	14	-	X	D71611	-
67	<i>Tachyphonus rufus</i>	A	M	31	X	X	G97924	vermelha - esquerdo
68	<i>Basileuterus flaveolus</i>	A	I	12	X	X	D71610	azul/amarela - dir.
69	<i>Sporophila nigricollis</i>	A	M	9	-	X	D71612	verde - direito
70	<i>Columbina talpacoti</i>	J	M	40	X	X	H92435	-
71	<i>Tangara cayana</i>	A	M	18	X	X	D76186	-
72	<i>Tachyphonus rufus</i>	A	F	32	X	X	G97925	laranja - direito
73	<i>Capsiempis flaveola</i>	A	I	6	-	X	D76188	verde - direito
74	<i>Nyctidromus albicollis</i>	A	F	67	X	X	H92418	-
75	<i>Nyctidromus albicollis</i>	A	M	64	X	X	H92421	-
76	<i>Coereba flaveola</i>	A	I	9	-	X	D76194	azul - esquerdo
77	<i>Amazilia nigricauda</i>	A	I	2	-	X	-	-
78	<i>Glaucis hirsutus</i>	A	M	2	-	X	-	-
79	<i>Furnarius rufus</i>	A	I	44	X	X	G97949	vermelha - direito
80	<i>Myiozetetes similis</i>	A	I	28	X	X	E55121	-
81	<i>Camptostoma obsoletum</i>	A	I	7	-	X	D71613	vermelha - direito
82	<i>Coereba flaveola</i>	A	I	8	-	X	D76183	-
83	<i>Poecilotriccus fumifrons</i>	A	I	7	-	X	D71614	-
84	<i>Myiophobus fasciatus</i>	A	I	9	-	X	D71649	-

(Conclusão)

Amostra	Espécie	Idade	Sexo	Peso (g)	Swab Cloaca	Swab Oral	Anilha	Anilha colorida
85	<i>Thryothorus genibarbis</i>	A	I	22	X	X	G97926	-
86	<i>Thraupis sayaca</i>	A	I	34	X	X	G97927	-
87	<i>Aratinga cactorum</i>	A	I	80	X	X	H92411	-
88	<i>Taraba major</i>	A	F	58	X	X	J52209	roxa - esquerdo
89	<i>Dacnis cayana</i>	A	M	12	X	X	D76184	-
90	<i>Basileuterus flaveolus</i>	A	I	12	X	X	D76198	-
91	<i>Elaenia chilensis</i>	A	I	15	X	X	D76199	-
92	<i>Elaenia chilensis</i>	A	I	16	X	X	D73179	-
93	<i>Myrmotherula urosticta</i>	A	M	7	-	X	D73180	vermelha - esquerdo
94	<i>Xiphorhynchus fuscus</i>	A	I	22	X	X	E55122	-
95	<i>Elaenia chilensis</i>	J	I	14	X	X	D73181	-
96	<i>Myiozetetes similis</i>	A	I	26	X	X	E55149	-
97	<i>Columbina picui</i>	A	I	35	X	X	G97929	-
98	<i>Myiozetetes similis</i>	A	I	25	X	X	G97928	-
99	<i>Tersina viridis</i>	A	M	28	X	X	G97932	roxa - direito
100	<i>Nyctidromus albicollis</i>	A	F	57	X	X	H92420	-
101	<i>Glaucis hirsutus</i>	A	I	5	-	X	-	-
102	<i>Nyctidromus albicollis</i>	A	M	61	X	X	H92414	-
103	<i>Pitangus sulphuratus</i>	A	I	38	X	X	G97948	-
104	<i>Myiozetetes similis</i>	A	I	20	X	X	E55123	-
105	<i>Turdus leucomelas</i>	A	I	70	X	X	H92415	-
106	<i>Thlypopsis sordida</i>	A	I	14	X	X	E55124	-
107	<i>Myiarchus ferox</i>	A	I	22	X	X	E55125	-
108	<i>Turdus rufiventris</i>	A	I	63	X	X	J52210	-
109	<i>Elaenia cristata</i>	A	I	23	X	X	E55126	-
110	<i>Phacellodomus rufifrons</i>	A	I	24	X	X	G97930	-
111	<i>Manacus manacus</i>	A	F	14	X	X	D73182	-
112	<i>Glaucis hirsutus</i>	A	I	7	-	X	-	ÓBITO

## 10 ANEXOS

## ANEXO A – Certificado CEUA/CONCEA - EMEVZ/UFBA



**Universidade Federal da Bahia**  
**Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia**  
**Comitê de Ética no Uso de Animais**  
 Av. Ademar de Barros, 500 - Ondina-40170-110 Salvador-BA  
 Fone: (071) 3283-6704/6708/ - Fax: 3283-6718  
 E-mail: [esmevz@ufba.br](mailto:esmevz@ufba.br)

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Chlamydomphila psittaci* em aves de vida livre e de Centro de Triagem de Animais Silvestres, Bahia, Brasil", registrada com o nº **60/2018**, sob a responsabilidade do (a) **Prof. Carlos Roberto Franke**, o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, em reunião de **19.07.2018**.

Finalidade	( ) Ensino ( X ) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	21/08/2018 à 01/05/2019
Nº da solicitação ou autorização SISBIO	63652-1
Atividade(s)	Captura: Aves de vida livre – Redes de neblina e as aves do CETAS – Redes tipo puçá. As aves serão imobilizadas com as mãos, com uso de luva, pelo tempo de 2-3 minutos para a realização de coleta de amostras swab de orofaringe e cloaca. Coleta de espécimes Marcação Outras: Extração de material biológico – Secreção de orofaringe e cloaca.
Espécies/Grupos taxonômicos	Passeriformes e Psitacídeos
Nº de animais	200
Sexo	Ambos
Origem	Aves de vida livre de ocorrência na Serra da Jiboia e aves mantidas em CETAS do Estado da Bahia.
Local (is) de realização das atividades	Aves de vida livre - Serra da Jiboia e aves de cativeiro - CETAS do Estado da Bahia.

Salvador, 25 / 08 / 2018.

Prof. Claudib de Oliveira Romão  
 Coordenador CEUA/EMEVZ-UFBA

## ANEXO B – Certificado de autorização SISBIO – ICMBio (Página 1/3)



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

## Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 63652-1	Data da Emissão: 25/06/2018 09:20	Data para Revalidação*: 25/07/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

## Dados do titular

Nome: CARLOS ROBERTO FRANKE	CPF: 268.922.190-04
Título do Projeto: Chlamydomphila psittaci em aves de vida livre e de Centro Triagem de Animais Silvestres, Bahia, Brasil.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA	CNPJ: 15.180.714/0001-04

## Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Captura, anilhamento e coleta de material biológico das aves	08/2018	01/2019
2	Análises laboratoriais dos materiais biológicos coletados	08/2018	05/2019

## Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/gen">www.mma.gov.br/gen</a> .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

## Outras ressalvas

1	- Esta autorização não exige seu titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
---	---

## Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Gabriela Souza Moraes	Mestranda, participará de todas as etapas do projeto	049.331.345-10	0995548285 SSP-BA	Brasileira
2	PEDRO CERQUEIRA LIMA	Anilhador autorizado pelo CEMAVE, anilhará as aves	158.517.615-04	10.1331 CRMV-BA	Brasileira
3	TÂNIA DE FREITAS RASO	Pesquisadora responsável pelo diagnóstico de <i>C. psittaci</i>	737.841.846-34	4222223 SSP-MG	Brasileira
4	Ricardo Lustosa Brito	Auxílio na coleta e processamento de amostras	953.241.435-53	0902100505 ssp-BA	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 16944232



Página 1/3

(Página 2/3)



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

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 63652-1	Data da Emissão: 25/06/2018 09:20	Data para Revalidação*: 25/07/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: CARLOS ROBERTO FRANKE	CPF: 268.922.190-04
Título do Projeto: Chlamydomyia psittaci em aves de vida livre e de Centro Triagem de Animais Silvestres, Bahia, Brasil.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA	CNPJ: 15.180.714/0001-04

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	ELISIO MEDRADO	BA	Serra da Jibola	Fora de UC Federal
2	SALVADOR	BA	Centro de Triagem de Animais Silvestres	Fora de UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Passeriformes, Psittaciformes
2	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Passeriformes, Psittaciformes
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Passeriformes, Psittaciformes
4	Marcação de animais silvestres in situ	Passeriformes, Psittaciformes

#### Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Fezes, Outras amostras biológicas (secreção de orofaringe)
2	Método de captura/coleta (Aves)	Puçã, Rede de neblina
3	Método de marcação (Aves)	Anilha colorida

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	REITORIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 16944232



Página 2/3

