

REALIZAÇÃO DE EXAMES SANITÁRIOS EM PAPAGAIOS-DE-PEITO-ROXO (AMAZONA VINACEA) PARTICIPANDO DE UM PROGRAMA DE REINTRODUÇÃO

André Becker Saidenberg^{1,4}, Cristiane Kiyomi Miyaji Kolesnikovas²; Vanessa Tavares Kanaan³; Joice Reche Pedroso³, Priscilla Anne Melville¹, Nilson Roberti Benites¹

RESUMO

A reintrodução de espécies ameaçadas devido à ação direta ou indireta do homem é uma ferramenta importante em crescente desenvolvimento para projetos de conservação. O Papagaio-de-peito-roxo (*Amazona vinacea*) é ameaçado de extinção, tendo desaparecido de áreas como o Parque Nacional das Araucárias, SC. Um projeto para reintroduzir indivíduos dessa espécie foi realizado e como parte dos protocolos sanitários pré-soltura, amostras de swabs cloacais foram testadas para a Doença de Newcastle, Influenza aviária, Poxvírus, Coronavírus, e *Escherichia coli* Enteropatogênica, utilizando a técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase. Todos os exames revelaram ser negativos. Procedimentos adequados de quarentena e exames sanitários são capazes de minimizar os riscos de doenças neste tipo de projeto. Uma maior parceria entre pesquisadores, universidades e órgãos ambientais poderia auxiliar de maneira mais eficiente o desenvolvimento de protocolos sanitários mínimos para projetos de reintrodução, sendo condizentes com as dificuldades financeiras e auxiliando as espécies dos estudos em questão. Apesar do pequeno número de aves estudadas, a baixa frequência dos agentes também demonstra a viabilidade de serem realizados programas de soltura com esta e outras espécies.

Palavras chave: *Amazona vinacea*, bactérias, psitacideos, reintrodução, vírus.

SUMMARY

The reintroduction of endangered species due to direct or indirect human activities is an increasingly important tool being developed for conservation projects. The Vinaceous Amazon (*Amazona vinacea*) is threatened with extinction having disappeared from areas such as the Araucarias National Park, SC. A project to reintroduce this species was carried on and as part of the pre-release health assessment surveys, cloacal swab samples were tested for Newcastle's disease, Avian Influenza, Poxvirus, Coronavirus, and Enteropathogenic *Escherichia coli* employing the Polymerase Chain Reaction technique. All exams yielded negative results. Adequate quarantine and health exams procedures are able to minimize the risks of outbreaks in this kind of efforts. A stronger partnership between researchers, universities and environmental agencies could help in a more efficient manner to develop health assessment protocols for reintroductions, taking into account the financial constraints and helping the studied species. Even though a small number of birds were studied, the low frequency of the agents also shows the feasibility for developing release programs with this and other species.

Key words: *Amazona vinacea*, bacteria, psittacines, reintroduction, virus.

Animais silvestres vítimas de ações humanas diretas ou indiretas, incluindo o tráfico, são comumente encaminhados para os Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) e zoológicos. A falta de opções de encaminhamento faz com que animais de pouco interesse econômico permaneçam por tempo indeterminado, comprometendo seu bem-estar. Os centros de resgates são superlotados e possuem poucos recursos, resultando em altas taxas de mortalidade e má qualidade de vida (VANSTREELS et al., 2010). Uma das ferramentas atuais na conservação é a relocação de espécies definida como reintrodução, introdução, reforço populacional e translocação (IUCN, 2002).

Os indivíduos a participarem de tais projetos devem ser considerados livres de agentes com potencial patogênico para a espécie, de modo a prevenir a ocorrência de surtos e a disseminação para

¹ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 05508 270.

² Associação R3 Animal, Florianópolis, SC, 88061-500.

³ Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88034-001.

⁴ Autor para contato: Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 05508 270. Fone: +55 11 30917651, email: andresaidenberg@usp.br

outros animais residentes no local (BALLOU, 1993).

O Papagaio-de-peito-roxo (*Amazona vinacea*) é uma espécie endêmica da Mata Atlântica e no passado era comumente encontrado por todo o sudeste da América do Sul. Porém, atualmente devido ao desmatamento e captura para o comércio de animais de estimação encontra-se isolado em “ilhas” remanescentes de seu habitat original (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2011). Essa espécie foi declarada extinta no Parque Nacional das Araucárias (PARNA) no oeste de Santa Catarina, sendo a reintrodução sugerida pelo Plano de Manejo do Parque.

Este estudo objetivou testar 13 indivíduos desta espécie para diversos patógenos como protocolos sanitários pré-soltura sugeridos pela Instrução Normativa 179 (IN-179) através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) (Paramixovírus tipo 1 – Doença de Newcastle, Influenza aviária – Influenza tipo A, Poxvírus, Coronavírus, e *Escherichia coli* Enteropatogênica).

As 13 amostras foram coletadas através de *swabs* cloacais estéreis e armazenadas em meio de Stuart, conservando-se a 10°C até o processamento. As culturas bacterianas foram feitas ao se mergulhar o *swab* em caldo BHI (Brain and heart infusion - Difco®) para *Escherichia coli* (*E.coli*) e posteriormente semeada em ágar MacConkey, sendo incubada por 37°C/24 horas. As colônias foram identificadas através de testes bioquímicos (Enterokit®). Uma suspensão de duas a três colônias de *E.coli* foi ressuspensa em 200µL solução salina (PBS pH 7.5) para posterior extração de DNA e armazenado a -20°C. A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo de Boom et al. (1990) seguida da PCR com os protocolos descritos para *E.coli* Enteropatogênica (ARANDA et al., 2007). Os *swabs* também foram empregados para constituir uma suspensão em PBS de modo a averiguar a presença de partículas virais, sendo realizada a extração de DNA viral pelo método de Boom et al. (1990) e utilizando o reagente TRIZOL (Invitrogen®) para vírus RNA, armazenando-se a -20°C. A reação para Poxvírus foi feita de acordo com Lueschow et al. (2004), enquanto que a de Influenza detectou todos os vírus do tipo A (PODDAR, 2002), e de Paramixovírus tipo 1 para a Doença de Newcastle (TIWARI et al., 2004); e para Coronavírus tipo 1, 2, e 3 (ESCUTENAIRE et al., 2007). Os produtos amplificados foram separados em gel de agarose a 1.5%, corando-se com brometo de etídio e visualizando-se os fragmentos através de transiluminação ultravioleta. Não se obtiveram amostras positivas para os agentes testados neste estudo. Embora psitacídeos confiscados ou entregues voluntariamente, e especialmente animais de estimação com muitos anos de cativeiro, sejam vistos por grande parte da comunidade científica como os piores candidatos para programas de relocação devido a riscos sanitários, inúmeros exemplos no exterior e no Brasil (PARÁS et al., 2002; LO, 2006), ilustram a possibilidade de sucesso desde que sejam seguidas medidas adequadas no processo de reabilitação. Apesar de não haverem sido encontrados portadores assintomáticos para os agentes com potencial infeccioso, não há como garantir que um animal seja totalmente livre de patógenos e/ou excluir a possibilidade de ocorrência de doença (BALLOU, 1993). Sempre haverá riscos envolvidos nesse tipo de projeto, contudo não existir certa tolerância pode resultar na paralisação de projetos de vital importância se não houver uma análise sobre o assunto (BALLOU, 1993). Procedimentos adequados de quarentena e exames sanitários diminuem consideravelmente os riscos de doenças nas metapopulações (HESS, 1996). É necessário haver maiores discussões sobre quais seriam os protocolos mínimos para selecionar, tratar, e se necessário, excluir indivíduos de projetos. Os exames foram adequados de acordo com a legislação brasileira. Avaliar protocolos sanitários é de suma importância, pois muitos locais onde ocorrem apreensões não possuem laboratórios adequados ou os custos associados tornam esse tipo de trabalho inviável. Uma alternativa seria uma maior conectividade com universidades, pesquisadores e conservacionistas para salvar espécies e combater o tráfico. Apesar do pequeno número de aves estudadas, a baixa frequência dos agentes com potencial infeccioso também demonstra a viabilidade de serem realizados programas de soltura com esta e outras espécies.

AGRADECIMENTOS:

World Parrot Trust, Associação R3 Animal, Polícia Ambiental de Santa Catarina, IBAMA, CEMAVE, ICMBio, PGA-UFSC e FAPESP processo 2010/51015-0.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANDA, K.; FABBRICOTTI, S.H.; FAGUNDES-NETO, U. et al. Single multiplex assay to identify simultaneously enteropathogenic, enteroaggregative, enterotoxigenic, enteroinvasive and shiga toxin producing *Escherichia coli* strains in Brazilian children. *FEMS Microbiology Letters*, v.267, p. 145-150, 2007.
- BALLOU, J. Assessing the risks of infectious disease in captive breeding and reintroduction programs. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v.24, p. 327-335, 1993.
- BIRDLIFE INTERNATIONAL. 2011. Species factsheet: *Amazona vinacea*. Disponível em <www.birdlife.org> Acesso em 20/05/2011.
- BOOM, R.; SOL, C.J.A.; SALIMANS, M.M.M. et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*, v.28, p. 495-503, 1990.
- ESCUTENAIRE, S.; MOHAMED, N.; ISAKSSON, M. et al. SYBR Green real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for the generic detection of coronaviruses. *Archives of Virology*, v.152, p. 41-58, 2007.
- HESS, G. Disease in metapopulation models: Implications for conservation. *Ecology*, v.77, p. 1617-1632, 1996.
- IUCN – INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES. Guidelines for the placement of confiscated animals, IUCN/SSC Re-introduction specialist group. IUCN, Gland, Switzerland and ERWDA, Abu Dhabi, United Arab Emirates, 2002. p. 23.
- LO, V. K. Repatriação, revigoramento e monitoramento de aves silvestres em área de soltura – Tremedal – BA. In: I ENCONTRO DE ASM ESTADO DE SP - Relatório de Atividades. São Paulo, SP: IBAMA, 2006. p. 45-57.
- LUESCHOW, D.; HOFFMANN, T.; HAFEZ, H.M. Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. *Avian Diseases*, v.48, p. 453-462, 2004.
- PARÁS, A.; MACIAS, C.; CIEMBOR, P. et al. Pre-release Health Evaluation of Amazona Parrots in Northeast Mexico. In: PROCEEDINGS OF THE ASSOCIATION OF AVIAN VETERINARIANS, Monterey, CA, EUA, 2002, p.365-367.
- PODDAR, S.K. Influenza virus types and subtypes detection by single step single tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and agarose gel electrophoresis. *Journal of Virological Methods*, v. 99, p. 63-70, 2002.
- TIWARI, A.K.; KATARIA, R.S.; NANTHAKUMAR, T. et al. Differential detection of Newcastle disease virus strains by degenerate primers based RT-PCR. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 27, p. 163-169, 2004.
- VANSTREELS, R. E. T.; TEIXEIRA, R. H. F.; CAMARGO, L. C. et al. Impacts of animal traffic on the Brazilian Amazon parrots (*Amazona* species) collection of the Quinzinho de Barros Municipal Zoological Park, Brazil, 1986–2007. *Zoo Biology*, v.29, p. 600–614, 2010.