



MARCOS TÚLIO BARCELOS LIMA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO
LABORATÓRIO DE SANIDADE DAS AVES –
DEPARTAMENTO MEDICINA VETERINÁRIA
PREVENTIVA – UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS
GERAIS - UFMG**

LAVRAS-MG

2023

MARCOS TÚLIO BARCELOS LIMA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO LABORATÓRIO DE SANIDADE
DAS AVES – DEPARTAMENTO MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA –
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG**

Relatório de estágio supervisionado
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Medicina Veterinária, para a
obtenção do título de Bacharel.

Profa. Dra. Glauca Frasnelli Mian

Orientadora

LAVRAS-MG

2023

MARCOS TÚLIO BARCELOS LIMA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NO LABORATÓRIO DE SANIDADE
DAS AVES – DEPARTAMENTO MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA –
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG**

**SUPERVISED INTERNSHIP CARRIED OUT AT THE LABORATORY OF AVIAN
DISEASES - DEPARTMENT OF PREVENTIVE VETERINARY MEDICINE -
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG**

Relatório de estágio supervisionado
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Medicina Veterinária, para a
obtenção do título de Bacharel.

APROVADO EM 14/07/2023

Profa. Dra. Glaucia Frasnelli Mian FZMV/UFLA

Dra. Dircéia Aparecida da Costa Custódio FZMV/UFLA

MSc. Maysa Serpa Gonçalves FZMV/UFLA

Profa. Dra. Glaucia Frasnelli Mian
Orientadora

**LAVRAS-MG
2023**

AGRADECIMENTOS

Acredito que ninguém consegue nada sem a ajuda do outro. As realizações e conquistas são acompanhadas de pessoas que contribuem para sua concretização, sejam de maneira direta ou indireta. Aqui quero agradecer as pessoas que fizeram parte de mais esta etapa, um sonho a realidade que vivo hoje!

Dou início agradecendo toda proteção espiritual e tudo que sou. Agradeço primeiramente à Nossa Senhora Aparecida, Nossa Senhora de Fátima, por me abençoar grandemente, me iluminar e guiar meus passos em todos os momentos.

Agradeço aos meus pais, Marcos Antônio Lima e Eliana de Fátima Barcelos, por sempre estarem ao meu lado, por acreditarem em mim e não medirem esforços para que meus sonhos pudessem ser realizados. Obrigado pelo incentivo à minha progressão intelectual, pois foi através da educação e amor que recebi em casa que alcancei esta conquista.

Às minhas irmãs Ana Carolina Lima e Ana Luísa Barcelos Lima, por sempre me darem conselhos e me fazerem sorrir até mesmo nos momentos mais difíceis. Meu muito obrigado por todo o suporte, por todo o amor incondicional e por sempre me motivarem a seguir em frente, vocês foram essenciais nesta longa caminhada. Amo muito vocês!

Aos professores da UFLA, em especial aqueles pertencentes ao corpo docente do Departamento de Medicina Veterinária, pela transmissão do conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender e crescer. Gostaria de agradecer principalmente à minha professora, Priscilla Barrios, que me inspirou a seguir a área de doenças das aves. Obrigado por todo o conhecimento transmitido durante a graduação, por todas as oportunidades concedidas e por sempre ser tão atenciosa!

Um parêntese muito especial à minha orientadora Prof^a Dr^a Gláucia Mian, por tantos ensinamentos, dentro e fora do Núcleo de Estudos em Microbiologia Veterinária (NEMIV). Saiba que você faz parte da minha trajetória e aprendizado na área da microbiologia, em sua inteligência, generosidade, sábios conselhos e palavras, sempre veio a me conduzir ao crescimento profissional, serei eternamente grato.

A todos os integrantes do Grupo de Estudos em Medicina Aviária (GEMA), que me

ensinaram tanto e me ajudaram a definir meu caminho. Sempre me apoiaram e compartilharam seus conhecimentos, com um sonho incomum, o de nos tornarmos profissionais aptos a cuidar das aves. Obrigado especialmente aos professores e coordenadores de grupo, Priscila Barrios e Juliano Vogas que sempre me ajudaram tanto. Vocês são muito especiais para mim! Obrigado por serem tão queridos comigo e por sempre estarem à disposição quando eu precisava tirar minhas dúvidas.

Ao meu amigo Otávio Machado, que sempre me deu suporte e me incentivou, além claro de me passar todo o conhecimento técnico na área dos passeriformes, em especial, a canaricultura. Você foi essencial para sedimentar todo o conhecimento adquirido de forma teórica durante a graduação, me ensinando a colocá-lo em prática. Muito obrigado, principalmente pela parceria da FOB. Aproveito para agradecer à toda equipe da Federação Ornitológica do Brasil (FOB), que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes.

Agradeço também aos meus amigos de infância da rua Alexandre Queiroz, que fizeram as idas à minha terra amada, momentos inesquecíveis e de mais pura descontração ao longo de tantos anos de amizade, vocês são essenciais na minha vida.

Aos meus amigos mais próximos e que se fizeram presentes nessa etapa, como a Fernanda Silva (feg), que tenho como inspiração e que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, me fazendo ter uma percepção diferente dos desafios. Ao meu irmão de vida Lucas Urias Campos, que compartilhei meus momentos de agonia, medo e incertezas e me acolheu e aconselhou, pelo simples fato de me querer bem, pelo fato de ser um “estudante” adulto e saber o peso emocional que carregamos ao optarmos pela segunda graduação, me fazendo entender mais sobre esse processo e me fazendo olhar com mais carinho e me orgulhar de toda a minha trajetória.

Aos meus amigos de Lavras, da Veterinária, Daniela Aoki, Letícia Castro, Vanessa Mendieta, Lucas Cruz, Mônica Faria, Aline Tosta e Victória Veiga pelo carinho, compreensão e incentivo, sem sombra de dúvidas vocês se tornaram minha segunda família durante o período de graduação. O meu muito obrigado a vocês que me ensinaram exercer a profissão de forma ética, com honestidade e competência para que o sucesso seja uma consequência, além de dividirem comigo o mesmo sonho de um dia nos tornarmos “Médicos Veterinários” contribuintes da sanidade animal, contribuindo assim com o bem social do país. Apesar da distância, vocês sempre estarão no meu coração!

Não poderia deixar de agradecer às minhas amigas da pós-graduação, em especial Dircéia Costa (membro da minha banca, inclusive), Camila Carvalho e Anna Cecília Trolesi, pelo apoio emocional, pela paciência, pelos conselhos e incentivo e principalmente por não me deixarem desistir. A minha admiração por vocês só tende a crescer, e o orgulho, claro, vocês fizeram toda a diferença nesta difícil caminhada. Gratidão por estarem comigo sempre e me ensinarem tanto. Aproveito para agradecer à Maysa Serpa por ter aceito o meu convite de participar da banca e nunca ter medido esforços para me ajudar durante o mestrado e tempos de NEMIV juntos, gratidão.

Ao meu amigo de vida, Felipe Tomita, por toda paciência, conselhos e amizade verdadeira. Obrigado por se fazer tão presente mesmo de longe, pelos momentos de descontração, espero que possamos sempre fazer parte da vida um do outro.

Agradeço também minha prima Ana Cristina Rangel Braga, que esteve sempre ao meu lado, me apoiou e incentivou, me distraiu em diversos momentos que pareciam “mais difíceis” que o normal e principalmente, por ter sido tão solícita em conseguir carona para mim de Belo horizonte para Oliveira e vice-versa, você fez toda a diferença e possibilitou que minha locomoção fosse possível, sempre que precisei, gratidão eterna.

Gostaria de agradecer imensamente ao professor Nelson por ter me aceito como estagiário, por ter aberto as portas do laboratório e me fazer sentir parte da sua equipe de pesquisa, por me apresentar à rotina do laboratório e compartilhar de todo o seu conhecimento teórico/prático. Agradeço também as residentes da UFMG, Júlia Penna e Camilla Faria, pela paciência, por todo o aprendizado durante esse tempo de estágio, pelo ambiente amistoso no qual convivemos e possibilitou solidificar meus conhecimentos principalmente na área da clínica de animais silvestres, eterna gratidão a vocês. Faço um parêntese especial para a residente Julia Penna que nunca hesitou em me ajudar financeiramente, por meio de uma carona amiga que perdurou por todo o estágio, um agrado em forma de um almoço ou palavras de conforto levando em conta minha situação financeira que sempre foi meu maior desafio a ser enfrentado ao me mudar para Belo Horizonte, nunca me esquecerei, gratidão.

Saibam que todos que citei aqui foram muito importantes para minha vida e sou eternamente grato por tudo que vocês proporcionaram!

Muito obrigado!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)

RESUMO

O presente trabalho de conclusão de curso (TCC) tem como objetivo descrever as atividades desenvolvidas durante o estágio supervisionado obrigatório (exigência da disciplina PRG107 para conclusão de curso), que deve ser realizada em instituição ou empresa, escolhidas pelo aluno junto ao orientador, com o intuito de ingressar na vivência profissional da área pretendida. O estágio foi realizado no Laboratório de Sanidade das Aves (Lab. Aves), do departamento de Medicina Veterinária, na Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), localizada na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, durante o período de 03 de abril de 2023 a 30 de junho de 2023, na área de Sanidade das aves, sob a orientação da professora doutora Glaucia Frasnelli Mian e supervisão do Médico Veterinário, professor doutor Nelson Rodrigo da Silva Martins. O estágio teve duração de 480 horas e ao longo do período foram realizadas diversas tarefas voltadas à vigilância e investigação de doenças infecciosas em animais. Essas tarefas envolveram: Preparação de material para a rotina laboratorial; recebimento de materiais biológicos da rotina laboratorial; necropsia com registro detalhado e coleta de tecidos e materiais biológicos; processamento de materiais para bacteriologia, micologia e virologia; extração de DNA ou RNA de tecidos, secreções e cultivos bacterianos e virais; análise filogenética de sequências de etiologias detectadas/selecionadas; interpretação e discussão de resultados; redação de resumo, relatório e ou artigo científico. Portanto, a realização do estágio no local supracitado foi fundamental para a conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária, uma vez que me proporcionou como estudante, a aplicação e aprimoramento dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso de graduação, além de possibilitar a assimilação de novos conhecimentos, sobretudo na área de sanidade das aves, biologia molecular e diagnóstico laboratorial, melhorando o desenvolvimento do pensamento crítico e crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

Palavras-chave: Medicina veterinária preventiva. Doenças infecciosas das aves. Diagnóstico laboratorial. Calopsita. *Macrorhabdus ornithogaster*.

ABSTRACT

This course completion work (TCC) aims to describe the activities developed during the mandatory supervised internship (requirement of the PRG107 subject for course completion), which must be carried out in an institution or company, chosen by the student together with the advisor, with the intention of entering the professional experience of the intended area. The internship was carried out at the Aves Health Laboratory (Lab. Aves), of the Veterinary Medicine department, at the Veterinary Medicine School of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), located in the city of Belo Horizonte, Minas Gerais, during the period from April 03, 2023 to June 30, 2023, in the area of Poultry Health, under the guidance of professor Dr. Glauca Frasnelli Mian and supervision of the Veterinarian, Professor Dr. Nelson Rodrigo da Silva Martins. The internship lasted 480 hours and over the period several tasks were carried out aimed at the surveillance and investigation of infectious diseases in animals. These tasks involved: Preparation of material for the laboratory routine; receipt of biological materials from the laboratory routine; necropsy with detailed record and collection of tissues and biological materials; processing materials for bacteriology, mycology and virology; extraction of DNA or RNA from tissues, secretions and bacterial and viral cultures; phylogenetic analysis of sequences of detected/selected etiologies; interpretation and discussion of results; abstract writing, report and or scientific article. Therefore, carrying out the internship at the aforementioned location was essential for completing the undergraduate course in Veterinary Medicine, as it provided me, as a student, with the application and improvement of the knowledge acquired during the undergraduate course, in addition to enabling the assimilation of new knowledge, especially in the area of poultry health, molecular biology and laboratory diagnosis, improving the development of critical thinking and academic, professional and personal growth.

Keywords: Preventive veterinary medicine. Infectious diseases of birds. Laboratory diagnosis. Cockatiel. *Macrorhabdus ornithogaster*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Vista da entrada do setor de sanidade das aves	17
Figura 2 – Laboratório de bacteriologia	18
Figura 3 - Sala dos alunos	19
Figura 4 - Sala de lavagem e esterelização	20
Figura 5 - Laboratório de microscopia, biologia molecular e sorologia	21
Figura 6 - Sala de aula prática (sala de necrópsia)	22
Figura 7 - Biotério das aves	23
Figura 8 - Laboratório de eletroforese	24
Figura 9 - Sala de produção de ovos especiais (sala de incubação)	25
Figura 10 – Estrutura da megabactéria	28
Figura 11- <i>Macrorhabdus Ornithogaster</i> pela coloração de Gram	29
Figura 12 – Esquema demonstrativo – esplancnologia das aves	35
Figura 13 - Distensão de proventrículo em calopsita	41
Figura 14 - <i>Macrorhabdus Ornithogaster</i> Em microscopia óptica (400x).	42
Figura 15 - Calopsita recebida no setor de animais silvestres do hospital veterinário da escola de veterinária da UFMG.	48
Figura 16 - Exame radiográfico da calopsita.	49
Figura 17 - Coloração de Gram das fezes da ave.	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Atividades acompanhadas e realizadas durante o estágio no laboratório de sanidade de aves e hospital veterinário da ufmg. _____ 26

LISTA DE SIGLAS

ASD – Sabouraud dextrose

AST – Aspartato aminotransferase

BHI – Brain Heart Infusion

CO₂ – Dióxido de carbono

DMVP – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática

INCT – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia

MALDI TOF – Ionização por Dessorção a Laser Assistida por Matriz com analisador por tempo de voo.

MM - Meio mínimo

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PDD – Síndrome da dilatação do proventrículo

RNA – Ácido ribonucleico

SFB – Soro fetal bovino

SPF – Livres de patógenos específicos

UFLA – Universidade Federal de Lavras

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	14
2.DESCRICÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	16
3.DESCRICÃO DAS ATIVIDADES	25
4.REVISÃO DE LITERATURA: MACRORHABDUS ORNITHOGASTER	27
4.1.Megabacteriose	27
4.2.Etiologia	28
4.3 Epidemiologia	30
4.4 Patogenia e sinais clínicos	33
4.5 Diagnóstico	36
4.5.1 Clínico	37
4.5.2 Laboratorial	38
4.5.3 Exame direto	38
4.5.4 Cultura microbiológica	39
4.5.5 Necropsia	40
4.5.6 Histopatologia	41
4.6 Tratamento	42
5.RELATO DE CASO: MEGABACTERIOSE EM CALOPSITA (NYMPHICUS HOLLANDICUS)	47
6.DISSCUSSÃO	50
REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO

O curso de Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA) é composto por dez períodos, nos quais os discentes cursam disciplinas obrigatórias e eletivas buscando cumprir a carga horária exigida (3300,8 e 283,3 horas, respectivamente), participam de atividades acadêmico-científico-culturais com carga horária mínima de 612 horas, até que estejam aptos, no décimo período, a cursar a atividade “Estágio Supervisionado” (PRG 107). Tal disciplina tem carga horária total de 476 horas, divididas em 408 horas práticas e 68 horas teóricas.

O período destinado às atividades práticas é realizado em um ou mais locais determinados pelo aluno, em concordância com o orientador, onde o discente tem a chance de aplicar e aperfeiçoar os conhecimentos adquiridos durante a graduação, aprofundando seus conhecimentos na área escolhida. Já o período destinado às atividades teóricas consiste na elaboração e apresentação do presente relatório de estágio a uma banca avaliadora. Portanto, o estágio supervisionado tem como objetivo dar ao discente oportunidade de agregar conhecimentos, bem como aplicar os que já possui, preparando-o melhor para desenvolver habilidades buscadas no mercado de trabalho, bem como o desenvolvimento de habilidades pessoais e interpessoais que favoreçam seu posicionamento em campo de forma crítica e objetiva. Para isso, o aluno deve contar também com seu supervisor de estágio, profissional da área que deve instruir o estagiário e aconselhá-lo para um melhor aproveitamento do estágio.

Para a realização do estágio supervisionado foi escolhido o Laboratório de Sanidade das Aves da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob a Supervisão do Dr. Nelson Rodrigo da Silva Martins, Docente da instituição e Coordenador do Lab. Aves e Orientação da professora. Dr (a). Gláucia Frasnelli Mian, Docente do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, no período de 03 de abril de 2023 a 30 de junho de 2023, totalizando 480 horas de estágio. O Laboratório de Sanidade das Aves foi o local de escolha para a realização de estágio supervisionado por ser um laboratório que oferece atividades de ensino, extensão e pesquisa nas principais doenças de aves domésticas e silvestres. O laboratório realiza diversas pesquisas e diagnósticos no âmbito da micologia, bacteriologia, virologia e biologia molecular, proporcionando uma oportunidade

excepcional de aprendizado nessa área.

As Aves pertencem a uma das maiores classes de vertebrados terrestres, exercendo uma inter-relação milenar com o ser humano por compartilharem os recursos do planeta ao qual vivem. Os animais sempre foram partes constituintes do meio ambiente, participando das relações ecológicas. Entretanto, o aumento do desmatamento e destruição de seus habitats naturais e a mudança de hábitos antrópicos, aliados ao crescimento populacional, culminou no processo da domesticação. Esse processo exerce grande força até os dias de hoje, quando a humanidade usufrui dos animais, especialmente a classe das aves, para a obtenção de recursos como alimentação, ornamentação e companhia. Essa estreita relação torna a saúde humana e animal indissolivelmente ligadas, favorecendo o processo de disseminação de patógenos pelas aves, como, por exemplo, os fungos (especialmente leveduras) que se dispersam por meio de fômites contaminados com excrementos de aves portadoras do agente infeccioso, alimentos regurgitados e fezes.

Os fungos são capazes de colonizar diversos hospedeiros causando doenças, agindo como patógenos primários ou secundários. Nesse tocante, os recursos disponíveis atualmente para o controle e tratamento são bastante escassos, visto que, entre as diversas problemáticas de ordem sanitária que acometem as aves, as doenças fúngicas se destacam atualmente como emergentes. De ocorrência mundial, as infecções fúngicas em seres humanos e animais aumentaram nos últimos anos, em especial nos seres humanos imunocomprometidos. É válido salientar o surgimento de cepas com fenótipos de resistência a diferentes medicamentos convencionais, que aliado à baixa disponibilidade de drogas antifúngicas no mercado, dificulta ainda mais o sucesso do tratamento. Portanto, o conhecimento da epidemiologia das doenças fúngicas e de técnicas de diagnóstico laboratorial são fundamentais para a prevenção, tratamento e controle de doenças infecciosas, como no caso da megabacteriose.

A megabacteriose também conhecida como “Síndrome *Going Light*” é uma doença gástrica, causada pelo fungo leveduriforme denominado *Macrorhabdus ornithogaster*, de distribuição mundial. O *M. Ornithogaster* coloniza a região do proventrículo e ventrículo de diversas espécies de aves, sendo as portadoras assintomáticas as principais fontes de infecção em que a transmissão ocorre principalmente por meio da contaminação oro-fecal ou a alimentação dos filhotes pela regurgitação. A apresentação clínica da doença pode ser aguda ou crônica e se não tratada,

torna-se fatal (MARTINS et. al., 2006; CAVALCANTE et al., 2017; SILVA et al., 2022). A patogenia da doença não está totalmente esclarecida e os sinais clínicos são manifestados quando ocorre um desequilíbrio hospedeiro-microrganismo seja por imunossupressão, estresse, desnutrição, má higienização, uso prolongado de antibioticoterapia (CAVALCANTE et al., 2017; SILVA et al., 2022). Os sinais clínicos mais comuns incluem: fraqueza, letargia, perda progressiva de peso, regurgitação, diarreia, problemas de empenamento, entre outros (MOREIRA, 2019).

2. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

A Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) foi fundada em sete de setembro de 1927, na cidade de Belo Horizonte, no Estado de Minas Gerais. Atualmente, oferece cursos de Graduação e Pós-graduação que são agrupados em seções específicas, de acordo com sua respectiva área de estudo. A Escola de Medicina Veterinária, fundada em 1932, faz parte dos setores da UFMG e é composta por diversos Departamentos, estando entre eles o Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), no qual o Laboratório de Sanidade de Aves está inserido.

O Laboratório de Sanidade de Aves é coordenado pelos Docentes do Departamento da Preventiva, Prof. Dr. Nelson Rodrigo da Silva Martins e Prof. Dr. Oliveira Caetano de Freitas Neto com a colaboração do Prf. Dr Marcelo Pires Nogueira de Carvalho. É constituído ainda pelos técnicos: André Almeida Fernandes e Derci Paiva e Mailson da Silva Teixeira, e conta com a participação das residentes Camila Faria Soares e Julia Penna de Andrade. Além disso, conta com a colaboração dos alunos de Pós-graduação e Graduação, que realizam pesquisas em diversos campos de estudo, fornecendo o diagnóstico laboratorial de diferentes doenças que acometem as aves.

O Setor de Sanidade das Aves (Figura 1) mantém laboratórios para o ensino, extensão e pesquisa em doenças das aves, no bloco C do prédio da Escola, com a seguinte estrutura laboratorial em convênio com o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT):

- I) Laboratório de Bacteriologia (Figura 2);
- II) Sala dos alunos (Figura 3);
- III) Sala de lavagem e esterilização de materiais (Figura 4);
- IV) Laboratório de Microscopia, Biologia molecular e Sorologia (Figura 5);
- V) Sala de Aulas práticas (Sala de Necropsia) (Figura 6);

- VI) Biotério de aves (Figura 7);
- VII) Laboratório de termociclagem e eletroforese (Figura 8);
- VIII) Setor de Produção de Ovos Especiais (Incubatório) (Figura 9);
- IX) Sala da pós graduação;
- X) Sala dos professores.

Essa estrutura do Laboratório de Sanidade de Aves é organizada de forma sistemática, a fim de dividir as áreas de acordo com o risco biológico e de buscar maior eficiência para a realização das atividades.

Figura 1- Vista da entrada do setor de sanidade das aves



Legenda: A: Lado externo do setor de Sanidade das aves. B: Vista no lado interno do setor.

Fonte: Do autor (2023)

Figura 2 – Laboratório de bacteriologia



Fonte: Do autor (2023)

No laboratório de bacteriologia é realizado o processamento de amostras recebidas no Laboratório das Aves. A partir do recebimento, são realizadas técnicas de isolamento bacteriano para identificação de microrganismos, tais quais, plaqueamento em diferentes meios (Brain Heart Infusion, Sabouraud, Macconkey, Ágar sangue, entre outros). Após o isolamento, são realizadas provas bioquímicas, catalase e oxidase, citrato, entre outras. A confirmação da espécie é realizada pelo MALDI TOF em laboratório parceiro, também localizado no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Por fim, pode ser realizado antibiograma para determinar o perfil de sensibilidade dos microrganismos aos antibióticos mais utilizados na rotina veterinária e específica para a espécie estudada. A sala possui uma capela de fluxo laminar, uma geladeira para armazenamento de meio de cultura, uma estufa, um armário para armazenamento de reagentes, uma estante com material, reagentes e luvas.

Figura 3 - Sala dos alunos



Fonte: Do autor (2023)

A sala dos alunos é um ambiente para estudos, é o local onde são confeccionados laudos referentes aos exames de necropsias, microbiológicos, parasitológicos realizados no setor. O espaço é também utilizado para reuniões e discussão de casos clínicos atendidos, destina-se ao recebimento de amostras e anotação dos pedidos e registros de clientes, recebimento de equipamentos e reagentes que serão utilizados no setor. Conta com um armário para guardar materiais, livros e objetos dos estudantes. Dois computadores, mesas e cadeiras, uma geladeira e um microondas para uso dos estudantes e funcionários.

Figura 4 - Sala de lavagem e esterilização



Fonte: Do autor (2023)

A área de lavagem e esterilização de materiais é utilizada para descarte de elementos de potencial risco biológico e para esterilização de vidrarias e materiais utilizados em necrópsias, instrumentos cirúrgicos, ponteiras para micropipetas. É nesse local que é preparado os meios de cultura solúveis para esterilização. O local conta com duas autoclaves que permitem que o processo de esterilização seja realizado por meio de alta pressão e vapor, matando microrganismos, possui um tanque para lavagem e desinfecção de materiais. Por fim, também conta com estufa para secagem de materiais que foram autoclavados e bancada de armazenamento de utensílios utilizados na rotina laboratorial, tais quais papel pardo utilizado para embalar os materiais que serão levados à autoclave, tesouras, pinças, cabo de bisturi e vidrarias específicas.

Figura 5 - Laboratório de Microscopia, Biologia molecular e Sorologia



Legenda: A: Vista da porta mostrando os freezers ao fundo do laboratório e equipamentos da sala. B: Vista do fundo do laboratório mostrando as salas com as capelas de fluxo contínuo e equipamentos.

Fonte: Do autor (2023)

Laboratório de cultivo e avaliação de cultivos primários e de linhagem para pesquisa, incluindo a estrutura de microscopia e estufas de atmosfera de CO₂. Neste mesmo laboratório, faz-se extração de DNA, RNA e preparações de soluções para as reações em cadeia da polimerase (PCR). Neste laboratório está também disponível a estrutura para sorologia por ELISA. É feito exames coproparasitológicos, exames microscópicos, pesagem de reagentes e preparo de meios de cultura. O laboratório conta com balanças analíticas, capelas de fluxo laminar, centrífugas, agitadores vórtex, microscópios ópticos, freezers, e outros vários equipamentos e materiais que possibilitam a realização de técnicas como PCR, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), entre outras. Além disso, possui uma pia para lavagem e desinfecção de materiais, armários para armazenamento de reagentes, ponteiras, equipamentos de proteção individual (EPIs), materiais para necrópsia, etc.

Figura 6 - Sala de aula prática (Sala de Necrópsia)



Fonte: Do autor (2023)

O local é destinado para aulas práticas das disciplinas relacionadas à sanidade das aves e para realização de necrópsia da rotina laboratorial. Conta com piso, pias e bancadas de fácil manutenção e limpeza, além de mesas de aço inoxidáveis laváveis e de fácil desinfecção. Também, conta com armários de armazenamento de materiais para realização de necrópsia e para coleta de amostras de histopatologia e PCR. Apresenta dois quadros de giz para a ministração de conteúdo teórico relacionado às disciplinas e que são utilizados durante as aulas práticas e quadros informativos de doenças comumente associadas a avicultura comercial e aves silvestres e exóticas. Possui ainda uma estufa, freezer para armazenamento de materiais recebidos, uma balança para pesagem das aves, lixeira para materiais contaminados, uma câmara fria para armazenamento e conservação de amostras e animais que chegam para necrópsia. Uma estante para armazenamento de tubos, máscaras e luvas, seringas, gazes e algodão, swab estéril para coleta de material, placas de petri e cassetes histológicos.

Figura 7 - Biotério das aves



Fonte: Do autor (2023)

Este espaço é destinado para a criação ou manutenção das aves que serão utilizadas na pesquisa científica, na preparação de produtos biológicos, em exames toxicológicos e para exames diagnósticos realizados no laboratório. Possui características próprias, que atende às exigências para o recebimento de animais, proporcionando-lhes bem-estar e saúde, respeitando a Resolução Normativa do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) nº 51, de 19 de maio de 2021, que dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões de Ética no Uso de Animais - CEUAs e dos biotérios ou instalações animais. A estrutura é constituída de bancada de fácil higienização e desinfecção, um conjunto de gaiolas para galinhas, tanque para lavagem e desinfecção dos utensílios ali utilizados, como por exemplo comedouros e bebedouros, possui baldes para armazenamento de ração, caixas vazadas para transporte de frangos e galinhas, suporte para lâmpadas que são utilizadas no aquecimento das aves quando filhotes.

Figura 8 - Laboratório de eletroforese



Fonte: Do autor (2023)

A eletroforese é muito utilizada no laboratório nos testes diagnósticos, pois permitem realizar a separação de macromoléculas como DNA, RNA, proteínas e enzimas com tamanhos e cargas diferentes. O laboratório possui estrutura para a pesquisa e diagnóstico através da detecção e caracterização genética de microrganismos. O espaço é composto por bancadas, pias, freezer, termocicladores e sistemas de eletroforese para a execução de testes, detecção e análise de produtos de PCR. Possui um transiluminador para visualização de géis de eletroforese e leitura do resultado dos testes, agitadores vortex, cubas de eletroforese, microondas, materias para a produção de gel de agarose, e outros vários equipamentos e materiais que possibilitam a realização de técnicas como o ensaio de imun absorção enzimática (ELISA).

Figura 9 - Sala de Produção de Ovos Especiais (Sala de incubação)



Fonte: Do autor (2023)

Esse setor é responsável por receber reprodutoras da espécie *Gallus gallus domesticus*, para a produção de ovos férteis e aves para o ensino, extensão e pesquisa. Recebe também os ovos embrionados e livres de germes patogênicos (SPF), que são utilizados na produção de vírus, que, por sua vez, são usados na produção de vacinas, como por exemplo a vacina que previne a Bronquite infecciosa das galinhas. Após a verificação da qualidade do ovo e se há mesmo um embrião ali, o vírus vivo é inoculado diretamente no ovo por meio de uma agulha. Como estrutura da sala, temos prateleiras com incubadoras de ovos, ovoscópio, e embalagens próprias para armazenamento dos ovos.

3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

Foi estabelecido pelo supervisor de estágio professor Nelson Martins, antes do início das atividades, um plano de trabalho para ser seguidos durante os três meses de estágio. Esse plano previu a realização de técnicas laboratoriais para desenvolvimento e aplicação de testes diagnósticos para os agentes etiológicos de infecções de importância animal e com potencial zoonótico, com participação na avaliação e validação

experimental desses testes principalmente em doenças das aves domésticas e selvagens, nativas e exóticas.

O Laboratório de Sanidade das Aves realiza diversas atividades voltadas à Vigilância e pesquisas de Doenças Infecciosas em Animais. As duas primeiras semanas foram destinadas à adaptação à rotina do laboratório e ao aprendizado das técnicas diagnósticas utilizadas, da rotina das residentes e eventuais atendimentos de animais silvestres no Hospital Veterinário. Da terceira à quarta semana, realizou-se o acompanhamento das aulas práticas das disciplinas ofertadas pelos professores Oliveira e Nelson, auxílio nas extrações de DNA e RNA, técnicas de PCR (convencional e PCR em tempo real) para detectar patógenos como: Adenovirose, Anemia das Galinhas, Bronquite Infecciosa das Galinhas, Doença do Bico e das Penas dos Psitacídeos, Doença Infecciosa Bursal (várias espécies), Doença de Newcastle, Influenza Aviária, Reovirose e Rotavirose das Aves (em parceria com o Laboratório do Prof. Marcos Bryan Heinemann), Doenças Bacterianas, tais como, Colibacilose, Clamidioses, Clostridioses (em parceria com o Laboratório do Prof. Francisco Lobato), Micoplasmose e Salmonelose, e Doenças Parasitárias por Protozoários, Coccidioses e Malária (parceria com o Laboratório de Malária, coordenado pela Profa. Éricka Martins Braga), Helmintoses e Ectoparasitoses por Ácaros e Piolhos. A partir da quinta semana, houve o isolamento e cultivo viral em ovos SPF e linhagens celulares, realizou-se coleta de amostras de animais atendidos pelas residentes, e posterior isolamento bacteriano e fúngicos dos materiais coletados, coloração de Gram para posterior leitura e diagnóstico laboratorial. Além disso, foram realizados exames coproparasitológicos para diagnóstico de Doenças Parasitárias (Quadro).

Quadro 1 - Atividades acompanhadas e realizadas durante o estágio no Laboratório de Sanidade de Aves e Hospital Veterinário da UFMG.

Atividades	Número
Consultas acompanhadas	20
Extração de DNA	30
Extração de RNA	4
PCR	435
Eletroforese	435

Exame coproparasitológico	25
Necrópsias	63
Inoculação em ovos SPF	1
Isolamento parasitológico	186
Isolamento fúngico	90
Coloração de Gram	120

Fonte: Do autor (2023).

4. Revisão de Literatura: *Macrorhabdus ornithogaster*

4.1. Megabacteriose

A megabacteriose é uma infecção fúngica causada pelo agente recém-classificado *Macrorhabdus ornithogaster*, uma levedura comumente encontrada na microbiota das aves, sendo considerada por alguns autores como doença de caráter crônico que induz a ave a uma fraqueza progressiva e, conseqüentemente, a morte de diversas espécies, incluindo aves de produção (BRUNO, 2019; MOORE, 2001; PHALEN; MOORE, 2003). Entretanto, o tempo de evolução da doença ainda não está muito bem definido, sendo também descritos casos em que o animal evolui para óbito em poucas semanas, o que sugere que a enfermidade apresenta inclusive quadros infecciosos considerados agudos (ALMEIDA et al., 2019; VIEIRA et al, 2022).

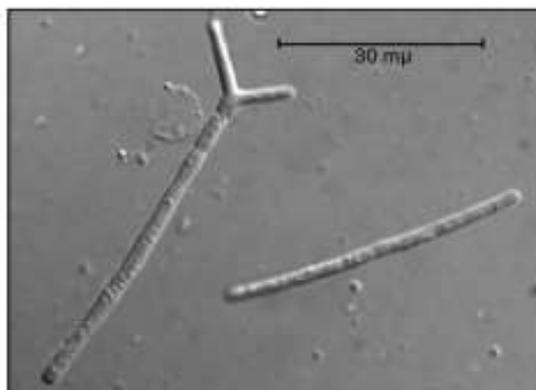
No laboratório de aves da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), há relatos de ocorrência de casos novos de infecção por megabactéria em outras espécies, como por exemplo: galinha-d'angola (*Numida meleagris*), pombo doméstico (*Columba livia*), rola-rolinha (*rolinha - Columbina talpacoti*), tucano (*Ramphastos toco*), perdiz (*Alectoris chukar*), peru (*Meleagris gallopavo formadomestica*), que são diagnosticadas em serviços de atendimento no hospital veterinário da universidade. Segundo Martins et al (2006), a falta de conhecimento sobre o quadro da megabacteriose no Brasil está associado ao fato de muitos criadores e proprietários de aves não recorrerem ao atendimento clínico especializado diagnóstico laboratorial, o que também é dificultado pelo fato da ausência de profissionais especializados na doença e a negligência da maioria dos veterinários para a ocorrência dessa enfermidade em nosso meio, ou até mesmo o desconhecimento sobre o assunto.

4.2.Etiologia

Macrorhabdus ornithogaster possui classificação taxonômica ainda controversa por possuir estrutura diferenciada. Em 1980, em sua primeira descrição, a megabactéria foi considerada uma levedura por Dorrestein et al. (1980). No entanto, sua semelhança comparada a um bacilo e sua característica basofílica na coloração de Gram fizeram com que o Microrganismo passasse a ser considerado uma bactéria (REVOLLEDO & PIANTINI-FERREIRA, 2009). As considerações taxonômicas feitas inicialmente, de fato, são aceitáveis se levarmos em conta sua forma fina e alongada, além de não se visualizar um núcleo e organelas citoplasmáticas, justificado também pelas dificuldades e restrições daquela época em se caracterizar a presença de organelas e componentes nucleares (SCANLAN & GRAHAM, 1990, HARRISON & LIGHTFOOT, 2006).

No que concerne ao tamanho do microrganismo, é algo que intriga ainda mais os pesquisadores para a classificação taxonômica, pois a megabactéria apresenta um tamanho superior ao observado na maioria dos microrganismos procarióticos. Normalmente uma bactéria apresenta medidas que variam de 1-5 μm , enquanto a “megabactéria” pode alcançar dimensões tão grandes quanto 1-5 μm apenas na largura, enquanto seu comprimento pode chegar a 20-90 μm (Figura) *in vivo* (SEGABINAZI et al, 2004, MARTINS et al, 2006 & SILVA, 2007).

Figura 10 – Estrutura da Megabactéria



Legenda: Estrutura da megabactéria na forma comum (direita), alongada e na forma ramificada “em Y” (esquerda), considerada rara, visto por microscopia de luz em exame direto na objetiva de 400x.

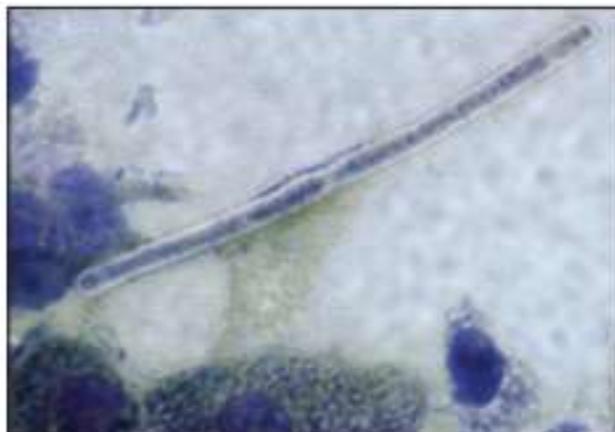
Fonte: Clinical Avian Medicine, 2006.

Somente após os anos 2000 começou-se a identificar características do Microrganismo que indicavam de fato se tratar de uma levedura e a presença de estruturas similares a núcleos foram observadas no estudo realizado por Thomaszewski et al (2003), caracterizando o microrganismo como eucarioto e derrubando a teoria de ser uma bactéria. Estudos estruturais complementares demonstraram a existência de três camadas distintas compostas por celulose e quitina, um polissacarídeo encontrado em Eucariontes e não presentes em bactérias, que recobre a membrana celular da célula (GERLACH, 2001, LACAZ et al, 2002, & THOMASZEWSKI et al, 2003).

Esse fato foi comprovado por meio de análise filogenética, na qual os pesquisadores confirmaram a relação de proximidade da megabactéria com o Reino *Fungi*. A análise das sequências 18S e 26S (domínios d1/d2) do DNA ribossomal por PCR, identificaram a megabactéria como sendo a forma anamórfica de um Fungo Ascomiceto leveduriforme, denominado *Macrorhabdus ornithogaster*, termo grego que se refere à “grande haste em estômago de aves”, sendo essa a única espécie de levedura representante de seu gênero (

Figura) (TOMASZEWSKI et al., 2003; PHALEN, 2005; HANNAFUSA et al., 2007; BRUNO, 2016).

Figura 11- *Macrorhabdus Ornithogaster* pela coloração de Gram



Legenda: *Macrohabdhus ornithogaster* por microscopia de luz na objetiva de 400x, apenas o citoplasma corado por coloração de Gram. Geralmente, muitos dos organismos se coram levemente ou nem se coram com a coloração de Gram.

Fonte: Clinical Avian Medicine, 2006.

A denominação atual *Macrorhabdus ornithogaster* foi proposta para esse novo gênero e nova espécie de microrganismo. Mediante essa nova proposta de classificação taxonômica, foi cogitada pela comunidade científica a necessidade de uma mudança na nomenclatura da doença, pois acreditam que o termo consagrado “megabacteriose” era inadequado e poderia ser alterado para “macrorhabdiose”. Contudo, alguns pesquisadores argumentaram que se considerarmos que a “megabacteriose” é uma micose e que os sufixos “ose” ou “micose” compõem o nome da maior parte das doenças micológicas estudadas, tanto a designação “macrorhabdiose” como “macrorhabdomicose” seriam pertinentes (LACAZ et al, 2002, THOMASZEWSKI et al, 2003, SPEER et al, 2004 & BRUNO, 2016).

No que tange a sensibilidade do agente a antifúngicos, este tema ainda é pouco elucidado pela literatura. Segundo Phalen (2005), a realização de testes de sensibilidade *in vitro* e *in vivo* deve ser estimulada, com o objetivo de determinar a sensibilidade ou resistência do *Macrorhabdus ornithogaster*, frente aos antifúngicos, bem como, a determinação dos pontos de corte e valores das concentrações inibitórias (CIM) a fim de estipular tais parâmetros, uma vez que o isolamento desse Microrganismo é pouco frequente.

4.3 Epidemiologia

Na década de 1980, a doença foi diagnosticada mediante surgimento dos primeiros relatos de megabacteriose em periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*). Desde então novos casos foram relatados, chamando a atenção de Médicos Veterinários para a gravidade da doença, principalmente pelo fato de acometer diferentes tipos de espécies de aves (GERLACH, 2001). A doença foi descrita no Brasil pela primeira vez por Werther et al. (2000), que encontrou o agente no exame pós-morte de canários (*Serinus canaria*), periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*), agapornis (*Agapornis sp*) advindos de Ribeirão Preto, estado de São Paulo. Posterior a esse relato, a doença foi descrita em emas (*Rhea americana*), avestruzes (*Struthio camelus*) e calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), além do canário belga já relatado anteriormente (SEGABINAZI et al, 2004; FLORES et al, 2005; MARTINS et al, 2006; BRUNO, 2016; CAVALCANTE et al, 2017; MOREIRA, 2019). Na Alemanha, a infecção foi encontrada em galinhas de postura e também em reprodutores de diferentes lotes, sugerindo, assim, uma ampla distribuição da megabacteriose entre a população de aves domésticas, o que

traz sérios riscos para a avicultura industrial devido a perdas econômicas significativas (PHALEN & MOORE, 2003 & MARTINS et al, 2006). Com isso, reforça-se a necessidade apontada por alguns pesquisadores da realização de investigações e controle referente à presença de megabactérias em criações avícolas em nível de escala industrial e não somente nas criações domésticas (FLORES et al, 2005 & MOREIRA, 2019).

A megabacteriose é uma doença que tem sido estudada em todo o mundo por ser importante em diferentes espécies de aves de cativeiro como canário (*Serinus canarius*), periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*), agapornis (*Agapornis spp.*), frango doméstico (*Gallus gallus*), peru (*Alectura lathami*), tucano (*Tucano toco*), cacatuas (*Cacatua galerita*), mandarin (*Taeniopygia guttata*), pombo (*Columba livia*), rolinha (*Columbina talpacoti* e *C. livia*), avestruz (*Struthio camelus*), ema (*Rhea americana*), perdiz (*Alectoris rufa*), e até alguns mamíferos, mas não é considerada uma doença zoonótica até o momento (SIMPSOM, 1992, BAKER, 1992, HUCHZERMEYER et al, 1993, TONELLI, 1993, FILIPPICH & HENDRIKZ, 1998, COOKE, 2000, HUCHZERMEYE & HENTON, 2000, GERLACH, 2001, SCULLION & SCULLION, 2004; FLÔRES et al, 2005, MARLIER et al, 2006, MARTINS et al, 2006 & ROBINO et al, 2019).

Embora o *Macrorhabdus ornithogaster* seja um patógeno de ocorrência global em avicultura, acomete principalmente os gêneros passeriformes e psitaciformes, porém os estudos são incipientes. Alguns pesquisadores acreditam que essa prevalência aparente seja justificada pela popularidade que essas espécies domésticas desempenham na sociedade, e por isso, o maior número de trabalhos relacionados a essas espécies (FILIPPCH & AMP; HENDRIKZ, 1998, FLÔRES et al, 2005 & AMP; MARLIER et al, 2006).

De acordo com Dorrestein (2010), a colonização da zona de transição entre proventrículo e ventrículo em pássaros de companhia nem sempre está associada a sinais clínicos ou lesões, tendo aves com aspectos clínicos normais como reservatórios naturais do agente patológico. O microrganismo pode ser detectado em aves assintomáticas, sendo estas fontes de transmissão para outros indivíduos hígidos, porém predispostos à infecção e colonização. Na literatura encontramos diversos relatos de diferentes tipos de aves como: periquito australiano (*Mellopsitacus undulatus*), canário belga (*Serinus canaria*), ema (*Rhea americana*), agapornis (*Agapornis sp.*), tucanos (*Ramphastos toco*), avestruz (*Struthio camelus*) com sua microbiota normal acometida pela megabactéria, o que nos

indica que a megabactéria pode ser encontrada em aves clinicamente saudáveis (MARTINS et al., 2006, QUEIRÓS et al., 2013; BORRELLI et al., 2015, BRUNO, 2016;). A condição de imunossupressão ou não das aves, associada ao quadro de colonização fúngica prévia, é um fator predisponente para manifestação de doenças. A megabacteriose apresenta ampla variação nos índices de mortalidade, podendo variar de 12,5% a 100%, a depender da condição clínica das aves acometidas e também do grau de evolução da doença (FILIPPICH, 2004, PHALEN, 2005, FLÔRES et al, 2005 & MARTINS et al, 2006).

Em criações de aves domésticas encontramos uma ampla variedade de espécies que coabitam nos mais diversos ambientes, fundamentando a teoria da ocorrência da transmissão interespecífica, que por sua vez está associada às políticas de biossegurança adotada por esse tipo de criação (GOTTDENKER et al, 2005). As infecções fúngicas em aves, de um modo geral, constituem um grande problema nos aviários, principalmente nas granjas, pois estes habitats normalmente apresentam condições ideais para a propagação do agente patológico, como alta densidade de indivíduos, clima úmido, inadequação do sistema de higienização dos utensílios alimentares, uso de antimicrobianos de forma prolongada, além de situações de estresse e/ou a deficiência imunológicas (geralmente relacionadas ao próprio estresse) (NOURI & KAMYABI, 2010). Em estudos experimentais, Pennycott et al (2003) confirmaram a ocorrência simultânea de doenças de caráter imunocomprometedor como Marek, candidíase e megabacteriose em galinhas domésticas (*Gallus gallus*) e codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), sendo o estresse um fator predisponente para a ocorrência da imunossupressão (PENNYCOTT et al, 2003 & JANSSON et al, 2008).

O *macrorhabdus ornithogaster* é um microrganismo isolado preferencialmente na mucosa do proventrículo e fezes, o que facilita e caracteriza a via oral como a principal fonte de transmissão horizontal do agente. As aves infectadas liberam o microrganismo nas fezes e alimentos regurgitados, e as aves saudáveis suscetíveis entram em contato com esse conteúdo, podendo ser infectadas (MOORE et al., 2001, LANZAROT et al., 2013). Estudos experimentais com periquitos australianos indicaram que a transmissão vertical (mãe para filhote) não é considerada importante para essa doença. Porém, muitos criadores e pesquisadores recomendam que, por prevenção, os ovos dos ninhos daquelas fêmeas em que o microrganismo foi encontrado sejam destinados à incubação artificial, a fim de proteger o filhote, evitando, assim, a exposição do mesmo ao agente infeccioso

e sua possível infecção (MOORE et al, 2001). Além disso, acredita-se que, embora não ocorra transmissão vertical do agente, pode-se ter infecção no momento da alimentação dos filhotes, uma vez que esta é realizada por meio da regurgitação do alimento do glúvio dos pais infectados para o filhote até então hígido (MOORE et al., 2001).

Relatos recentes que indicam ainda a ocorrência do *M. ornithogaster* em mamíferos. Um dos trabalhos demonstrou grande quantidade do agente no trato respiratório superior de um gato filhote e em lavado broncoalveolar de um cão da raça Poodle de dois anos de idade (COOKE, 2000). Em outro trabalho, realizado por Martins et al. (2006), com camundongos (*Mus musculus*), constatou-se 100% de mortalidade após infecção experimental, com animais apresentando lesões hepáticas importantes. Esses achados relatados por Cooke (2000) e Martins et al (2006) evidenciam a capacidade do *M. ornithogaster* em infectar, colonizar e causar lesões também nos mamíferos.

Deste modo, considerando a atual realidade da relação próxima entre animal de estimação e seus tutores, não podemos descartar a possibilidade de infecção de humanos que coabitam e mantêm relação íntima e promíscua com seus animais, especialmente as aves. Uma hipótese levantada para explicar a infecção em mamíferos é a constituição química do muco, presente no sistema respiratório superior dos mamíferos (proteína coilina,) ser similar ao das aves, porém não foram fornecidas imagens do agente para melhor conferência desses achados (COOKE, 2000; HUCHZERMEYER & HENTON, 2000; SON et al, 2004).

4.4 Patogenia e sinais clínicos

Os animais acometidos por *M. ornithogaster* nem sempre manifestam sinais clínicos, o que dificulta seu controle, pois a ave pode conviver com o microrganismo por muito tempo sem manifestação da doença, promovendo sua disseminação (PHALEN et al., 2002; KHEIRANDISH e SALEHI 2011). Os sinais manifestados são descritos como “síndrome light going” por alguns pesquisadores, entretanto essa síndrome não possui características expressamente esclarecidas, uma vez que os sinais não são específicos para megabacteriose (não patognomônicos), apresentando expressões e especificidade variáveis de acordo com a imunidade do animal acometido (QUEIRÓS et al., 2011 & FILHO et al, 2017). Os sinais apresentados pelas aves no início da infecção são: apatia, letargia, fraqueza, atrofia muscular, penas arrepiadas, hipotermia, podendo ser confundidos com outras doenças (candidíase, micoplasmose, salmonelose) pelo

proprietário e pelos clínicos, que precisam estar atentos para a condição de saúde do animal no transcorrer da infecção e estágio da doença, pois serão fatores determinantes na expressão dos sinais clínicos que variam de brandos à severos (CHRISTENSEN et al, 1997, SEGABINAZI et al, 2004, FILIPPICH, 2004, FLÔRES et al, 2005 & MARTINS et al, 2006).

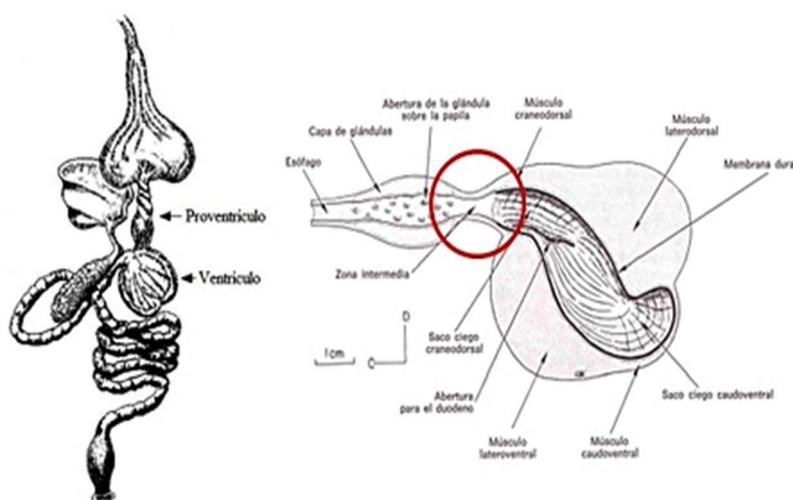
Como pode-se observar, a patogenia da megabacteriose não é bem esclarecida, entretanto trata-se de um microrganismos oportunista como a maioria dos fungos, que se proliferam especialmente quando o animal apresenta alguma debilidade relacionada à sua imunidade (imunossupressão), tornando-se então patogênico (MUNHOZ et al., 2008). O oportunismo do *M. ornithogaster* é reforçado mediante ocorrência de megabacteriose concomitante a outras doenças, havendo relatos de casos de megabactéria associada a coccidiose em tucanos e calopsitas, doença de Marek em frangos, tricomoníase em pombos, candidíase em galinhas, circovírus em agapornis e periquitos, dentre outras enfermidades, aumentando assim a taxa de mortalidade nos plantéis acometidos (PENNYCOT et al., 2003; MARTINS et al., 2006; CARVALHO et al., 2011; QUEIROZ et al., 2011). Grande parte dos autores mencionam a ocorrência evidente da megabacteriose em periquito australiano. Ozmen et. al (2013), evidenciaram a ocorrência da megabacteriose associada a eimeriose causada por *Eimeria dunsingi* nessa espécie de psitacídeo. Já Silva et. al (2014) relataram a doença concomitante a outras duas doenças fúngicas, como a aspergilose causada por *Aspergillus flavus* e a candidíase causada por *Candida albicans*, também em periquito australiano.

Em relação a ação no organismo das aves, o que se pode afirmar é que o patógeno coloniza o trato digestório do hospedeiro, mais precisamente na junção entre o proventrículo e ventrículo, logo após a exposição do mesmo, causando uma proventriculite, que é o quadro clínico mais comum associado à megabacteriose. Assim, o animal pode expressar sinais mais marcantes como disfagia, regurgitação intermitente do alimento ingerido - impactando na digestão e conseqüentemente na absorção dos nutrientes, aparente polifagia associada a emagrecimento progressivo, culminando em caquexia, e uma diminuição da conversão alimentar e frequente acúmulo de fezes na cloaca, devido a diarreia causada pelo microrganismo na mucosa gástrica (BAKER, 1992, PHALEN & MOORE, 2003, SEGABINAZI et al, 2004, SPEER et al, 2004, FLÔRESI et al, 2005 & MARTINS et al., 2006).

Na Figura 12, podemos observar a região de maior ocorrência da megabactéria,

sendo neste ambiente que ela se prolifera em condições favoráveis ao seu crescimento, penetrando profundamente na membrana coilina (formada de forma natural pelo muco das glândulas que, em contato com a acidez do estômago, cria uma camada firme sobre a mucosa). O micorganismo estimula, assim, uma hipersecreção das glândulas mucosas daquela região e promove posterior atrofia ou até mesmo necrose das estruturas ali presentes, além de um espessamento da parede do ventrículo associada a hemorragias (DORRESTEIN et al., 1980; VAN HERCK et al., 1984; WERTHER et al., 2000; MOORE et al., 2001; GUIMARÃES, 2006; MUNHOZ et al., 2008; GIOIA-DI CHIACCHIO et al., 2009).

Figura 12 – Esquema demonstrativo – Esplancnologia das aves



Legenda: Anatomia do sistema digestório das aves, evidenciando a região de maior incidência de megabactéria- junção entre proventrículo e ventrículo, circulado de vermelho.

Fonte: Romão, 2011, adaptado.

O tempo de manifestação dos sinais clínicos após a infecção é bastante variável, podendo aparecer em poucos dias, semanas, e até anos, a depender da espécie acometida, a quantidade de microrganismos, entre outros fatores. Alguns relatos evidenciam que em periquito australiano não há desenvolvimento da doença antes dos 3 a 4 anos de idade, já em avestruzes a megabactéria foi encontrada em aves jovens (BAKER, 1985; SIMPSON, 1992; FILIPPICH e PARKER 1994). Alguns autores relatam que a megabacteriose pode se manifestar de duas formas, aguda e crônica, sendo a última forma mais frequente, onde as aves convivem com o microrganismo por mais tempo (PHALEN, 2005; LANZAROT

et al., 2013).

A forma aguda é relatada por casos em que a ave aparenta hígidez, mas de repente se torna apática e comumente vem a óbito em pouco tempo, a variar entre dias ou até mesmo horas, pois a megabactéria cresce de forma abrupta, causando a proventriculite, com presença de ulcerações e hemorragias na mucosa do proventrículo, culminando em estase gástrica (PHALEN, 2005; HOPPES, 2012; LANZAROT et al., 2013). A ave nesta fase se encontra severamente debilitada, tornando-se evidente quando as aves estão em boas condições de saúde e subitamente tornam-se letárgicas e com as penas arrepiadas, muita das vezes se posicionando em decúbito esternal em consequência da fraqueza, quadro que evolui frequentemente para óbito (CUBAS et al., 2014).

Já na forma crônica, considerada mais comum, a ave pode ou não apresentar sintomas, permanecendo com o microrganismo por longos períodos de tempo, uma vez que os sinais clínicos manifestados na maioria das vezes não são evidentes, passando despercebidos na maioria dos casos. Esse estágio da doença pode ser recorrente, por períodos intermitentes alternando entre recuperação e re-infecção, resultando em um agravamento do quadro e condição da ave, levando-a a óbito (LANZAROT et al., 2013). Em ambas as formas de apresentação da doença é possível afirmar que possui prognóstico reservado a ruim, uma vez que, a partir do momento em que a ave manifesta sintomatologia clínica da doença, caso esta não seja tratada, evolui para óbito.

4.5 Diagnóstico

Para se obter um diagnóstico definitivo da megabacteriose, muita das vezes utiliza-se o diagnóstico pós-morte do animal em virtude do rápido avanço que a doença apresenta e o animal vem a óbito antes mesmo do diagnóstico. Com isso, se faz necessário a aplicação de técnicas diagnósticas mais sensíveis, capazes de detectar a infecção de forma precoce, facilitando o tratamento e possibilitando a sobrevivência do animal acometido. Entretanto, na prática, o diagnóstico clínico geralmente se baseia na utilização de metodologia clássica, que incluem histórico físico, exame clínico e laboratorial. Além disso, pode-se recorrer às técnicas de biologia molecular (SPEER et al, 2004 & PHALEN, 2005).

A Megabacteriose possui sinais muito inespecíficos como já mencionado anteriormente, o que pode ser confundido com outras doenças que possuem os sintomas parecidos, com o curso clínico bastante semelhante. Com isso, se faz necessário o

diagnóstico diferencial para doenças como: candidíase, giardíase, helmintíase, ventriculite bacteriana, tricomoniase, enterite, intoxicação por metais pesados, síndrome da dilatação do proventrículo causado por bornavirus, corpo estranho e também para neoplasia do estômago (HOPPES, 2012). Dentre as doenças supracitadas, deve-se voltar a atenção para a síndrome da dilatação do proventrículo (PDD), pois de forma geral, as aves desenvolvem os mesmo sinais e sintomas da megabacteriose. Para tal, deve-se fazer o exame de PCR para Bornavirus, a fim de eliminar qualquer possibilidade.

Diante disso, torna-se essencial a coleta correta de materiais importantes para a realização do diagnóstico de forma adequada, sendo o mais fidedigno possível, para que não haja confusão nos diagnósticos e se possa instituir um tratamento que seja específico e eficiente.

4.5.1 Clínico

O diagnóstico consiste principalmente em encontrar o microrganismo nas amostras coletadas de animais acometidos (diagnóstico direto). Para esse fim, a metodologia mais utilizada é a coleta de muco do proventrículo e ventrículo, sendo feito também um imprint da região supracitada. Outra forma de diagnóstico é por meio das excretas do animal (MARTINS et al., 2006; HOPPES, 2011). Entretanto, não é recomendado se ater somente aos sinais clínicos ou à presença do agente em exames diretos, nem tampouco à exames hematológicos e bioquímicos, por constituírem ferramentas pouco específicas. Quando é feito o hemograma, é possível detectar anemias nos casos crônicos da doença, hipoproteinemia, principalmente se tiver ulceração gástrica, baixos valores de sódio, glicose, fosfato e aspartato aminotransferase (AST), enquanto o leucograma revela leucocitose com linfocitose, monocitose e trombocitose, já os bioquímicos acusam decréscimo acentuado das concentrações de eletrólitos (HENDERSON et al, 1988 & SON et al, 2004). Essas duas variáveis precisam ser avaliadas de forma cautelosa e criteriosa por meio da coleta e encaminhamento de amostras clínicas satisfatórias, sendo condutas a serem seguidas pelo clínico de aves.

O exame radiográfico, apesar de pouco utilizado, é indicado como técnica auxiliar para o diagnóstico. A radiografia contrastada com sulfato de bário pode detectar, em casos positivos de infecção de *M. Ornithogaster*, a retração das paredes da região de intersecção do proventrículo e ventrículo, que confere um aspecto de ampulheta formado por essas estruturas, bem como possibilita avaliar o tempo de trânsito gastrointestinal do alimento

ingerido, o que, segundo diversos autores, representa um forte indício diagnóstico para a doença, pois se torna bastante aumentado de tamanho (WERTHER et al., 2000; HOPPEs, 2012).

4.5.2 Laboratorial

Esse tipo de diagnóstico é bastante incipiente e não está bem estabelecido. Acredita-se que, com o avançar das pesquisas e o aumento do número de casos, novos métodos serão propostos e empregados na rotina da clínica veterinária, conforme decorrerem os trabalhos de pesquisas propostos. Atualmente a técnica utilizada para um diagnóstico preditivo e definitivo é obtido por meio do exame direto, seja individualmente ou em massa, a cultura microbiológica, necropsia e exame pós-morte e histopatologia (SPEER et al, 2004, PHALEN, 2005, MARTINS et al, 2006 & BARON et al, 2021).

4.5.3 Exame direto

Esse procedimento consiste em achar o microrganismo no animal doente e até mesmo assintomático. Para tal, existem dois métodos utilizados na prática clínica: decalque da mucosa da região do proventrículo confeccionado em lâmina de vidro para visualização na microscopia (SEGABINAZI et al, 2004 & MARTINS et al., 2006), e o mais comum, esfregaço de fezes (SEGABINAZI et al, 2004, FLÔRES et al., 2005 & MARTINS et al, 2006). O método de decalque da mucosa é indicado para aves que vieram a óbito de forma natural ou mesmo eutanasiadas, onde se utiliza uma lâmina de vidro limpa, seca e sem contaminação ou qualquer tipo de sujidade, para se ter uma melhor visualização ao ser levada ao microscópio de luz (CRISTENSEN et al., 1997, SPEER et al., 2004, SEGABINAZI et al, 2004 & MARTINS et al, 2006). O muco produzido pela irritação do proventrículo também é comumente utilizado como conteúdo utilizado no exame direto. Este conteúdo também é coletado em aves vivas por meio de lavado do proventricular, embora muitos autores não concordarem com a relação à sensibilidade do exame quanto a esse tipo de material e forma de coleta do mesmo (SEGABINAZI et al, 2004, FLÔRES et al, 2005 & MARLIER et al, 2006).

Podemos determinar a presença de *M. ornithogaster* por meio das fezes, onde é adicionada uma pequena amostra que é diluída em água destilada e colocando essa mistura em uma lâmina para posterior visualização no microscópio. As fezes podem ser coletadas por cinco dias consecutivos em plantéis que não apresentam sinais clínicos,

onde se pode fazer um pool de fezes ou coleta individual, esse mesmo procedimento é adotado para aves doentes. É válido salientar que, apesar de se coletar por diversas vezes, existe a possibilidade de não detectar e visualizar o microrganismo nas preparações, principalmente quando coletadas as fezes de aves aparentemente saudáveis, sem sinais clínicos aparentes (MARTINS et al, 2006, BRUNO, 2016). Segundo Speer et. al (2006), quando a lâmina é feita com fezes frescas, ainda não fixadas ou coradas, são mais fáceis de visualizar o microrganismo.

A amostra de fezes pode ser corada com Panótico rápido ou coloração de Gram, preferencialmente após serem fixadas pelo calor. No momento, também são aplicadas rotineiramente as colorações Wright, Leishman, Diff-quick Calcofluor branco M2R e Giemsa, sendo estas últimas menos empregadas, mas que conferem resultados semelhantes à coloração de Gram. A parede celular da megabactéria é formada por quitina, sendo corada por Calcofluor e visualizada apenas no microscópio de fluorescência, o que dificulta sua adesão na rotina, por não ser uma técnica muito acessível mediante aos valores elevados desse investimento (PHALEN, 2005). A técnica de Gram ainda é a mais difundida em bacteriologia e é bastante utilizada no diagnóstico do *M. ornithogaster* desde quando o patógeno ainda era considerado um procarionte.

4.5.4 Cultura microbiológica

A cultura desses microrganismos é de difícil obtenção, impossibilitando avanços nos estudos e no conhecimento desse agente infeccioso (SON et al, 2004). Entretanto, de acordo com a literatura, é possível fazer o isolamento do fungo *in vitro*, utilizando-se o meio de cultura com caldo Lactobacillus (MRS), em uma câmara úmida, com ambiente microaerofílico, necessitando de 48 horas de incubação para seu crescimento (GYLSTORFF e GRIMM 1987; WERTHER et al., 2000). Em experimentos mais recentes, Martins et al (2006) relataram que o fungo *M.ornithogaster* se desenvolve melhor quando incubado a 37°C com 5% de dióxido de carbono (CO₂). Num outro experimento, Ravelhofer-Rotheneder et al (2000) tiveram crescimento em cultura isolando amostras provenientes da clínica em meio mínimo (MM), acrescido de 20% de soro fetal bovino (SFB) e 5% de glicose.

Segundo Martins et al. (2006), a cultura pode ser obtida por isolamento de amostras advindas de espécimes clínicas em meio sólido e próprios para fungos como é o caso do ágar Sabouraud dextrose (ASD) e também por meio seletivo para fungos

patogênicos. Embora não tenha sido bem esclarecido por parte do autor, acredita-se que o meio Sabouraud tenha sido suplementado com 0,5 g/l de cloranfenicol, 0,1 g/l de cicloheximida, obedecendo aos padrões utilizados no laboratório de infecções fúngicas (LACAZ et al., 2002). O mesmo autor acredita que, se o meio for mais acidificado, o fungo apresentará um crescimento mais exuberante.

Outro experimento avaliou o crescimento e a capacidade do fungo em assimilar carboidratos de *M. ornithogaster* sob condições diferentes de pH, meio de cultura, temperatura e tensão de oxigênio. Neste trabalho os autores afirmaram conseguir condições ótimas de crescimento quando o microrganismo foi isolado em meio básico de Eagle suplementado com 2% de SFB e 5% de glicose, pH entre 3 e 4, temperatura de 42°C e condições de microaerofilia (HANNAFUSA et al, 2007).

4.5.5 Necroscopia

O diagnóstico definitivo para megabacteriose é fundamental, principalmente quando se trata de um plantel, pois detectando o microrganismo é possível instituir um tratamento e evitar a morte de outras aves. Uma ferramenta que é comumente utilizada no diagnóstico da megabacteriose é o exame pós-morte. A partir do exame necroscópico observamos o real estado no animal acometido pelo *M. ornithogaster*. Geralmente os achados anatomopatológicos incluem palidez manifestada pela serosa e acentuada distensão (

Figura), como primeira alteração macroscópica observadas no proventrículo (FLÔRES et al, 2005, MARTINS et al, 2006 & JANSSON et al, 2008), atrofia da musculatura peitoral, exaustão da gordura muscular e coronariana são identificadas como consequência da caquexia (SON et al., 2004, HOPPEs, 2012).

A mucosa oral apresenta-se esbranquiçada e espessa com uma fina camada de muco branco na região entre proventrículo e ventrículo, podendo haver lesões que incluem proventriculite com presença de úlceras hemorrágicas, hiperemia da mucosa gástrica, adelgaçamento da região entre os estômagos (mecânico e químico) e grande aumento do muco de aspecto leitoso, observado em toda a extensão da superfície da mucosa gástrica (HOPPEs, 2012; PHALEN, 2014). A presença de alimento mal digerido no ingluvío, com coloração escurecida e presença de hemorragia são comuns. Além disso, o acometimento hepático é evidente, com pontos de hemorragia e áreas amareladas (FLÔRES et al, 2005 & MARTINS et al, 2006).

Após o exame necroscópico, partes dos órgãos podem ser fixados em solução de formol a 10%, onde é possível realizar o exame histopatológico, a fim de se identificar alterações naqueles tecidos acometidos pela ação do agente patológico. Em outra parte pode ser realizado o raspado da região de junção do proventrículo e ventrículo com uma lâmina de bisturi, deixando evidentes os microrganismos ali presentes (VAN HERCK, 1984; BAKER, 1985; SCHMIDT et al., 2003; PHALEN, 2005).

Figura 13 - Distensão de proventrículo em Calopsita



Legenda: Distensão proventricular (seta) em calopsita (*Nymphicus hollandicus*) jovem por infecção natural por *Macrorhabdus ornithogaster*. Um dos sinais mais evidentes para essa enfermidade. Na maioria dos casos encontramos essa porção repleta de alimento não digerido, seja ração amolecida, sementes, frutas e legumes, a depender do manejo nutricional do animal.

Fonte: Atlas de Micologia Médica Veterinária - UFMG – 2019.

4.5.6 Histopatologia

Neste exame pode-se observar as alterações histológicas provocadas pelo *M. ornithogaster*, que causa o comprometimento do revestimento da coilina na mucosa após colonizar a superfície do ventrículo, tornando-se bastante perceptível. As glândulas constituintes da mucosa do ventrículo secretam complexos glicoprotéicos que vão solidificar na superfície da mucosa criando uma cutícula protetora. Os microrganismos, ao penetrarem a membrana coilina da mucosa, causam degeneração das glândulas e, como

resultado, essas lesões progridem produzindo atrofia e necrose da camada glandular, com destruição da camada coilina, visualizada nos cortes histológicos (PHALEN & MOORE, 2003 & SON et al, 2004).

Na histopatologia do proventrículo observa-se atrofia das glândulas do proventrículo, proliferação, necrose tecidual e descamação epitelial, com relativa metaplasia e infiltrado de células inflamatórias na camada basal (VAN HERCK, 1984; BAKER, 1985; SCHMIDT et al., 2003; HANAFUSA, 2007), em casos graves, ulceração da parede gástrica ou adelgaçamento da membrana coilina (BAKER, 1992; PHALEN, 2005). Em casos crônicos, pode haver células mononucleares, como linfócitos e macrófagos e, ocasionalmente, heterófilos infiltrados na mucosa proventricular em casos de ulceração. Segundo Martins et al (2006), células de *M. ornithogaster* tendem a se acumular na mucosa e nas glândulas do proventrículo área que apresenta pH alcalino, podendo ser observadas na microscopia óptica no aumento de 100x - 400x (

Figura) (SON et al., 2004).

Figura 14 - *Macrorhabdus ornithogaster* em microscopia óptica (400X).



Legenda: Conteúdo do lúmen e mucosa do proventrículo de Calopsita (*Nymphicus hollandicus*), evidenciando células em formato alongado (bastonetes longos), típicas de *Macrorhabdus ornithogaster* (seta), com comprimento variável entre 20-80 μm , visto por microscopia óptica na objetiva de 400x.

Fonte: Atlas de Micologia Médica Veterinária - UFMG - 2019, adaptado.

4.6 Tratamento

O tratamento para megabacteriose é bastante complicado e considerado um desafio segundo a maioria dos autores. Nos dias atuais, enfrenta-se um problema muito

sério relacionado ao uso indiscriminado de antibióticos, antivirais, antiparasitários e antifúngicos, principalmente quando se trata daqueles criadores que fazem uso desses produtos como forma preventiva. Para evitar tal situação, deve-se levar em consideração o estado de saúde da ave, para que os medicamentos escolhidos não sejam administrados de forma indevida. A condição clínica das aves deve ser avaliada, isto é, se apresentam sinais clínicos característicos da doença ou se pertencem ao grupo de animais reservatórios assintomáticos. Mediante essa informação o tratamento deve ser instituído considerando os animais que manifestam sinais clínicos inerentes à megabacteriose, que devem ser tratados, sendo esta estratégia unânime entre a maioria dos autores. Entretanto, isso não se aplica para as aves assintomáticas (SPEER et al, 2004 & MARTINS et al, 2006).

O tratamento propriamente dito consiste no uso de antifúngicos como a nistatina, anfotericina B e alguns azóis, como itraconazol e fluconazol (CUBAS et al., 2014). Os primeiros relatos consideravam eficazes somente anfotericina B e a nistatina, pelo mecanismo de ação desses antifúngicos. Atualmente, essas drogas continuam como preferidas, pois são da classe dos polienos e têm tropismo pelo ergosterol presente na membrana celular do fungo, inativando-o (FILIPPICH e HENDRIKZ, 1998; HOPPE, 2012). Além desses protocolos terapêuticos, inúmeros outros têm sido propostos por pesquisadores dedicados ao estudo da doença e por profissionais da área ao longo dos últimos anos.

Há relatos que mostram que a anfotericina B se mostra mais eficaz quando administrada por via oral, seja diretamente, misturada à água de bebida ou por sonda para gavagem (método que consiste na alimentação e/ou administração de medicamentos a pacientes com dificuldades ou impossibilitados de deglutir). Todavia, trata-se de um medicamento de alto custo, o que o torna inviável quando se tem um grande plantel. A dose recomendada para o tratamento com a anfotericina B varia de 25 a 100mg/kg para aves maiores, administrada via oral, duas vezes ao dia, durante um período de 10 a 14 dias, na qual é notada uma melhora considerável entre a segunda a quarta aplicação (PHALEN 2014). Gerlach (2001) e Ozmen et al. (2013), por sua vez, recomendam uma dosagem diferente para aves menores como no caso dos periquitos australianos, sendo administrados de 0,15 a 0,3 ml por animal de uma solução contendo 100 mg/L, também por via oral, duas vezes ao dia com duração de 30 dias. Além desses, outro protocolo bastante utilizado para tratamento com a anfotericina B consiste na aplicação de 200

mg/kg, duas vezes ao dia, por via oral (direto no bico), durante 14 dias ou na água de bebida na dose de 100 mg/ml num prazo de 21 dias (CHRISTENSEN et al., 1997, SPEER et al, 2004 & FLÔRES et al, 2005).

Outros trabalhos existentes relatam a eficácia do fluconazol como alternativa de tratamento, na dosagem de 5 a 100 mg/kg, a depender da espécie tratada, devendo-se atentar para sua toxicidade quando administrado em doses altas. Nos psitacíformes, a dose recomendada é de 5 mg/kg, duas vezes por dia, com duração de 5 dias, sendo uma dose segura, porém não tão eficaz. Para o tratamento de gallíformes e tinamíformes, a dosagem recomendada é de 100 mg/kg, durante 15 a 20 dias (CUBAS et al., 2014; PHALEN, 2014).

Madani et al. (2014) realizaram pesquisas com benzoato de sódio, uma droga nova, desenvolvida na Austrália, que consiste em um conservante utilizado em cosméticos e alimentos e possui potencial antibactericida e antigúngica, solúvel em água e de baixo custo, sendo uma alternativa ao uso da anfotericina B. Foi comprovado por eles resultados significativos a partir de 20 dias de tratamento, com administração de 500 mg/L a 1 g/L na água de bebida das aves, por 4 a 8 semanas. Nesse caso também deve-se atentar à superdosagem, pois há relatos na literatura sobre sinais neurológicos e morte dos animais, principalmente nos animais que estiverem em época de reprodução ou que vivem em locais com temperaturas elevadas, pois tendem a beber mais água. Sendo o medicamento diluído e fornecido na água, aumentam as chances de intoxicação. Nesses casos, indica-se cerca da metade ou $\frac{1}{4}$ da dosagem recomendada (HOPPES, 2012).

Outra alternativa estudada é associar ao tratamento preconizado ao aumento do pH do trato gastrointestinal das aves, uma vez que o microrganismo tem melhor desenvolvimento em meios mais alcalinos. Além disso, segundo Cubas et al. (2014), a acidificação da água de beber pode ser utilizada não apenas como forma de tratamento mas também como forma de prevenção, além de ser aconselhável por favorecer a absorção do fluconazol (BRUNO, 2016). Para tal, é recomendado fornecer ácidos orgânicos como o vinagre de maçã, vinagre branco ou suco de cidra; também pode-se obter a acidez com a administração de *Lactobacillus* spp. por meio de gavagem (GERLACH, 2001; SON et al., 2004). Tudo isso deve ser associado a uma dieta de fácil digestibilidade, juntamente com uma terapia de suporte quando for necessário e a depender do quadro apresentado pelo animal. É válido salientar que, para não ter risco de recidiva, a terapia antifúngica e de suporte deve ser associada sempre a medidas de

manejo sanitário da criação.

4.7 Medidas profiláticas

O Brasil é detentor da maior biodiversidade do mundo, sendo considerada referência mundial pela sua riqueza de flora e fauna, abrigando a maior biodiversidade de aves silvestres, além de ser um importante produtor e exportador de carnes e derivados avícolas. A megabacteriose é uma doença infecciosa, complexa pela dificuldade de identificação, com alto potencial de disseminação e transmissão intraespecífico e interespecífica, sendo uma doença de altos indicadores de morbidade e mortalidade em diferentes espécies de aves (FLÔRES et al, 2005, MARLIER et al, 2006 & MARTINS et al, 2006).

Desta forma, é imprescindível que o médico veterinário responsável por criações domésticas, comerciais e em nível de indústria, esteja atento às estratégias de biosseguridade e biossegurança empregadas nos ambientes de criação, além dos sinais clínicos associados à megabacteriose. As medidas de manejo adotadas por esses profissionais, nesse contexto, atuam como mecanismo capaz de reduzir a transmissão do microrganismo que acontece em larga escala em animais de cativeiro que convivem com outras aves, sejam da mesma espécie ou de espécies diferentes. Para tal, se faz necessário adotar o uso da quarentena de novos espécimes ou novos lotes advindos de outros estabelecimentos, e que serão introduzidos ou reintroduzidos em populações já estabelecidas naquele local, evitando assim a transmissão de *M. ornithogaster* entre diferentes populações (FILIPPICH, 2004; SPEER et al, 2004; PHALEN, 2005; MARTINS et al, 2006).

Outro fator predisponente à doença apontado por Phalen (2005) está relacionado ao manejo sanitário, considerado o mais importante dentre os demais fatores supracitados. O manejo incorreto é um grande complicador dessa enfermidade, tornando-se indispensável adotar procedimentos higiênicos adequados, sendo estes baseados na desinfecção dos ambientes que abrigam as aves, sendo necessário em grandes plantéis ou criação realizarem o vazio sanitário periódico, promovendo a limpeza, higienização e desinfecção de todas as instalações e utensílios utilizados na criação, incluindo gaiolas, viveiros, poleiros, vasilhames com o intuito de evitar contato das aves ali presentes com as fezes contaminadas (SPEER et al, 2004; PHALEN, 2005 & FLÔRES et al, 2005).

De acordo com Phalen (2005), outro fator que deve ser levado em consideração,

é a predisposição genética. Os animais descendentes de indivíduos acometidos pela doença devem ser separados dos pais, levados e criados de forma artificial, fornecendo papinha própria para filhotes, a fim de evitar que o filhote receba alimentos regurgitados dos pais positivos para megabacteriose. Deve-se evitar a reprodução de animais infectados, pois esse processo reprodutivo é bastante estressante para as aves, o que pode deixá-las imunocomprometidas, podendo desenvolver a forma clínica da doença, gerando assim descendentes com predisposição genética inata à megabacteriose.

Complementar aos fatores predisponentes que afetam as aves seria uma possível variação nas cepas de *Macrorhabdus ornithogaster* (PHALEN, 2005). Não há nada comprovado nesse sentido, entretanto existem indícios de que existam cepas resistentes a alguns fármacos comumente utilizados no mercado, como é o caso da anfotericina B e nistatina, que são efetivas em outras cepas do microrganismo (PHALEN, 2005; MARTINS et al, 2006).

Para evitar a ocorrência dessa possível resistência antifúngica, é preciso realizar o diagnóstico diferencial para as doenças que apresentam sinais clínicos parecidos com a megabacteriose, a fim de evitar o tratamento incorreto, que pode causar resistência. Acompanhar se o resultado de tratamentos instituídos está surtindo efeito no tempo descrito pela literatura é importante, pois, caso não seja compatível com o esperado, deve-se fazer a mudança do protocolo de tratamento, considerando a possibilidade da cepa em questão ser resistente ao fármaco inicialmente utilizado, como visto em trabalhos de Madani et al. (2014). Segundo Martins et al. (2006), é possível encontrarmos diferenças entre os microrganismos que infectam um mesmo animal fazendo-se necessário um sequenciamento genético para confirmar se possuem semelhanças e/ou diferenças genéticas.

O *M. ornithogaster* é considerado por alguns autores como patógeno oportunista, com isso, doenças que se desenvolvem concomitantes à megabacteriose devem ser controladas nesses ambientes, evitando o imunocomprometimento dos indivíduos e possível infecção por megabactéria. Além das doenças capazes de produzir imunocomprometimento, deve-se atentar a degradação do estado geral de saúde dos animais, como fatores de estresse, tais quais produção de ovos, muda de penas, alterações ambientais e climáticas, superlotação, antibioticoterapia prolongada, lesões ou ferimentos, manejo nutricional inadequado (bastante comum principalmente em aves de companhia). Além disso, o uso de medicamentos como promotores de crescimento ou

como preventivos de doenças bacterianas, fúngicas ou virais constituem fatores predisponentes importantes na casuística da megabacteriose, por favorecer a proliferação do agente patogênico.

Por fim, mas não menos importante, pode-se acompanhar os animais suspeitos de estarem infectados ou que estejam no estágio inicial da doença, apresentando sinais clínicos, sendo estes discretos e quase imperceptíveis. Nesse acompanhamento o médico veterinário pode monitorar o peso do animal, pois é uma prática de fácil execução, permitindo ao profissional identificar de forma fácil a perda de peso progressiva que é uma das características provocadas pela megabacteriose. Outra medida que pode ser adotada é o monitoramento das excretas dos animais, objetivando identificar o aspecto e coloração anormal das fezes, odor, possíveis episódios de diarreia, presença de alimentos não digeridos e melena. Moore et al. (2001) recomendam inclusive que o médico veterinário responsável pelos animais realize exames microscópicos diretos das fezes coletadas de forma preventiva (*check up* preventivo das aves).

5. RELATO DE CASO: MEGABACTERIOSE EM CALOPSITA (*Nymphicus hollandicus*)

Na manhã do dia 11/05/2023, foi encaminhado ao Setor de Animais Silvestres do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG, uma calopsita (*Nymphicus hollandicus*), macho, lutino, 2 anos, pesando 65g, sendo relatado pelo tutor que o animal estava apresentando diarreia, com fezes verdes escuras, regurgitação, elevada perda de peso, além de prostração e desinteresse pela comida.

Durante a anamnese, o tutor informou que havia perdido outra ave da mesma espécie no dia 06/05/2023, e que o problema havia iniciado no dia 01/05/2023. O tutor relatou que o animal tinha histórico de convívio com outras aves, sendo elas outras calopsitas, além de roselas (*Platycercus eximius*), ringneck (*Psittacula krameri*), red rumped (*Psephotus haematonotus*), entre outros psitacídeos, todos criados em cativeiro, porém somente as calopsitas apresentaram esse quadro. Mencionou ainda que as calopsitas ficam alojadas em três viveiros diferentes (Viveiro A - 12 aves, Viveiro B - 06 aves e Viveiro C - 06 aves). Ocorreu a confirmação de Megabactéria (*Macrorhabdus ornithogaster*) por exames diretos e começou a fazer o tratamento com Fluconazol e Glicopam desde o dia 03/05/2023, receita obtida por uma Médica Veterinária, no sábado

dia 06/05/2023, o proprietário mudou o tratamento por conta própria para Nistatina 0,4 ml/ave e com o Glicopam + 01 gota de Tilosina.

Após esse tratamento, procurou um segundo Médico Veterinário que prescreveu o Chemitril (Enrofloxacino) + Predsin oral (Prednisolona) receita do dia 09/05/2023. Como não foi solucionado o problema, ele procurou a UFMG para realizar novamente os exames e instituir um novo tratamento para suas aves, porém no mesmo dia a ave veio a óbito e foi encaminhada para a necropsia do Laboratório de Sanidade das aves - UFMG. Além disso, o tutor trouxe amostras de fezes de outras duas calopsitas do seu plantel.

Figura 15 - Calopsita recebida no Setor de Animais Silvestres do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG.



Fonte: Do autor (2023)

O estado do paciente foi considerado grave, então optou-se pelo aquecimento do mesmo com o uso de luvas contendo água aquecida, para estabilização do quadro. A terapia de suporte também foi realizada, com uso de Metoclopramida na dose de 0,5 mg/kg, Intramuscular (IM), para reduzir o quadro de regurgitação, fluidoterapia com Ringer com Lactato na dose de 1,75 ml, por via subcutânea (SC) acrescido de glicose 5%, para reposição e manutenção hídrica, eletrolítica e energética. Além disso, foi feita a sondagem para a retirada do conteúdo que não foi digerido retido no ingluvío da ave. O

animal foi encaminhado para outra clínica veterinária para a internação e observação, porém não resistiu.

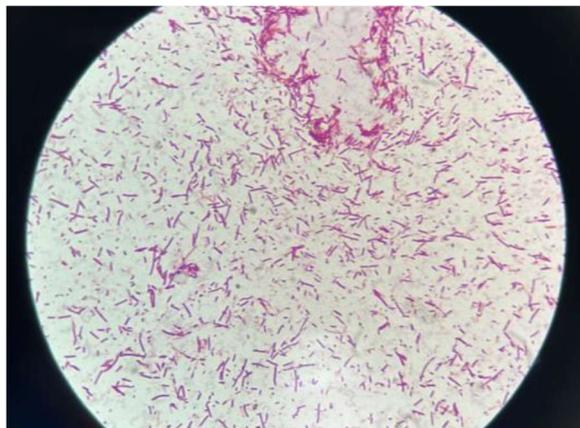
Pelo relato do tutor e suspeitas das residentes, a ave foi encaminhada para o exame radiográfico onde não foram visualizadas alterações significativas (Figura 16). Além da coleta do material do inglúvio para análise microbiológica a partir de coloração de Gram, que foi realizada com uso de sonda de gavagem e seringa, foram coletadas também amostras de cloaca e fezes com o uso de swab. Foi feito também o exame coproparasitológico pelas técnicas de exame direto e de centrífugo-flutuação pelo método de Sheather, nos quais foram encontradas alterações que indicassem a presença do *Macrorhabdus ornithogaster*. Nas amostras de cloaca nenhuma alteração foi encontrada, porém foram encontradas alterações nas lâminas referentes às amostras de inglúvio, onde foi possível visualizar estruturas compatíveis à megabactéria fechando assim o diagnóstico de megabacteriose, já que as manifestações clínicas apresentadas pelo animal condizem com o agente identificado e foi visualizado a presença do microrganismo nas amostras de fezes e conteúdo do inglúvio.

Figura 16 - Exame radiográfico da Calopsita.



Fonte: Do autor (2023).

Figura 17 - Coloração de Gram das fezes da ave.



Fonte: Do autor (2023).

A partir do resultado obtido, iniciou-se o tratamento específico para megabacteriose, instituindo a terapia com antifúngicos, sendo usada a Nistatina na dose de 500.000 unidades internacionais por quilo (UI/kg), duas vezes ao dia (BID), por via oral (VO), porém a primeira dose foi administrada diretamente no Inglúvio do animal através de gavagem com sonda rígida. Complementar a medicação aplicada, e devido ao episódio de regurgitação, a metoclopramida foi utilizada na dose de 0,5 mg/kg, IM.

Diante do óbito do paciente, o tutor autorizou a realização de necropsia, encaminhando o animal para o Laboratório de Sanidade das Aves, para possível identificação de alterações macroscópicas nos órgãos internos, porém sem a autorização de fotos para a utilização no meu trabalho de conclusão de curso (TCC). Nas amostras advindas do mesmo criatório foi possível observar moderada quantidade de *M. ornithogaster* no exame direto das fezes trazidas pelo criador. Uma das amostras foi positiva para o gene que codifica sequência de oligonucleotídeos derivados do espaço 16S-23S RNA ribossomal de *Mycoplasma spp*, pela PCR (NAKAGAWA et al., 1992).

6. DISCUSSÃO

O relato de caso descrito refere-se a um acompanhamento clínico de uma calopsita (*Nymphicus hollandicus*), espécie pertencente à família *Psittacidae*, diagnosticada com Megabacteriose, que foi atendida e tratada durante o estágio supervisionado. Os

fringílídeos (canários, pintassilgos, mandarim), assim como no caso dos psitacídeos (periquitos australianos, calopsitas, agapornis) são aves comumente acometidas pela megabacteriose, sendo essas duas famílias e suas subespécies as que mais possuem casos relatados pela literatura. Relatos como o estudo de Werther et al. (2000) fazem menção dessas espécies sendo as mais acometidas, a exemplo, o periquito australiano e o canário belga, o que corrobora com o trabalho de Hoppes (2012), que também traz essa mesma informação de susceptibilidade por parte dessas espécies supracitadas. Kheirandish e Salehi (2011), Ozmen et al. (2013), Silva et al. (2014) são alguns dos autores que também relataram a doença em periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*), e Cavalcante et al. (2017) relatam um caso dessa doença em calopsitas.

Mediante esses relatos, podemos sugerir que a megabacteriose está associada à condição de cativeiro em que vivem os psitacídeos e fringílídeos, por ser um ambiente comum de criação em gaiolas e viveiros dessas espécies, como animais de companhia que são muitas vezes vendidos como pets não convencionais. Essa hipótese pode ser justificada e vai de encontro com a literatura, pela escassez de relatos de megabacteriose em animais de vida livre, onde apenas Filippich e Parker (1993) estudaram e relataram a ocorrência da doença em aves da região da Austrália. Além deste, Doneley (2012) relatou um caso da doença em um indivíduo jovem de uma espécie de Cacatua; e por Pennycott et al. (1998), que estudou a incidência em animais de vida livre da Europa.

Com relação à transmissão da megabacteriose e o caso acompanhado, quando questionado sobre o histórico da ave, o tutor relatou durante a anamnese, que o animal convive com outros animais da mesma espécie e de espécies diferentes, fato este que pode ter contribuído para a transmissão do agente patogênico. Na literatura a transmissão é definida por Cubas et al. (2014), como horizontal, sendo transmitida de indivíduo infectado para outro suscetível e disseminada por via orofecal, descrita por Moore et al. (2001).

Seguindo o raciocínio do caso acompanhado, para fechamento de um diagnóstico, foi relatado pelo tutor do animal atendido a presença de episódios de regurgitação do alimento ingerido, com melhoria do quadro em algumas horas, o que corrobora com o estudo realizado por Lanzarot et al. (2013), que defendem o curso da doença como de caráter crônico, com moderadas alterações, podendo apresentar períodos intermitentes de melhoria e recidiva. Outro dado relevante a ser considerado é a perda de peso significativa nos dias que antecederam a consulta, sendo esse um sinal característico da megabacteriose

descrito na literatura por Phalen (2005), que denominou este sinal como “Síndrome de Light Going”, onde o animal perde toda a reserva de gordura corporal, sinal clínico também característico da doença.

Para o correto diagnóstico, a conduta adotada levou em consideração as técnicas descritas por alguns pesquisadores como Martins et al. (2006), Dorrestein (2010) e Ferronato et al. (2011), considerando o histórico clínico do animal, sintomatologia apresentada pelo mesmo, bem como os exames de imagem e exames laboratoriais realizados.

O exame microscópico foi feito com amostras de fezes e conteúdo não digerido, aspirado do inglúvio, corados com a técnica de coloração de Gram. Apesar de não terem sido encontrados na literatura relatos de análise microscópica com uso de amostras provenientes de alimentos não digeridos de inglúvio, foi obtido sucesso, já que foi possível visualizar o *M. ornithogaster* por essa técnica, podendo, portanto, se considerar um método válido e eficaz para identificação desse microrganismo e, conseqüentemente diagnóstico de megabacteriose. Martins et al. (2006) e Hoppes (2012) sugerem que as análises microscópicas sejam realizadas a partir de amostras de fezes ou de muco de proventrículo e ventrículo, variando da forma direta ou podendo ser coradas através de coloração de Ácido Periódico de Schiff (PAS) ou de Gram.

Além da técnica de coloração Gram feita a partir das fezes, as amostras da ave atendida juntamente com as outras amostras das outras duas aves do mesmo dono foram submetidas às análises do exame coproparasitológico direto, utilizando-se a técnica de flutuação por Sheater e coloração de Gram, tendo duas das amostras com moderada presença do microrganismo. Uma das amostras que foi analisada não apresentou alteração alguma, o que é explicado por Filippich (1994), Phalen et al. (2002) e Hoppes (2012), que defendem que o patógeno não é necessariamente eliminado pelo hospedeiro de forma contínua, porém a sua ausência nas análises não garantem a ausência total do agente no organismo do animal, podendo ser expresso em momentos específicos e situações de imunocomprometimento do animal, a depender do estado de saúde do animal também e evolução do quadro clínico.

O exame radiográfico foi realizado no paciente, com o intuito de encontrarmos alguma alteração na região do proventrículo, que geralmente se encontra aumentada de tamanho como sinal característico para a doença. Werther et al. (2000) e Hoppes (2012), sugerem que a radiografia contrastada, apesar de não ser frequentemente utilizada na

clínica, pode ser realizada para auxiliar no diagnóstico da megabacteriose, tendo como achado sugestivo da doença a dilatação do proventrículo e o adelgaçamento da região de transição do proventrículo para o ventrículo, conferindo-lhes um formato que se assemelha a uma ampulheta. Uma alternativa para a melhoria dos resultados desse exame radiográfico seria o uso de contrastes, como o sulfato de bário apontado por esses autores, que possibilitaria a observação do tempo de trânsito gastrointestinal, facilitando a identificação dessa alteração.

Com relação ao tratamento do paciente aqui relatado, não podemos ignorar que as aves deste criatório já haviam sido tratadas e que nem todos os tratamentos foram corretos e nem tampouco seguidos como prescrito pelo médico veterinário que o atendeu anteriormente. A conduta utilizada pelas residentes da UFMG levou em conta o protocolo recomendado por Carpenter (2022), que corrobora com a recomendação de Cubas et al. (2014), onde é preconizado a administração de nistatina, via oral, na dose de 500.000 UI/kg, a cada 8 horas, por 14 dias. Além disso, a escolha da nistatina foi feita por ser um antifúngico de eleição para o tratamento da megabacteriose indicado na literatura, e pelo fato do Hospital Veterinário da Escola de Medicina Veterinária da UFMG dispor desse medicamento. Ainda que o tratamento instituído estivesse de acordo com a literatura, após seu início, o animal apresentou uma piora no quadro e veio a óbito, sendo essa uma evolução vista com frequência, segundo Cubas et al. (2014), e que pode ter sido agravado pelo histórico de tratamento errôneos realizados anteriormente.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do estágio supervisionado obrigatório no Laboratório de Sanidade das Aves foi fundamental para a conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária, pois proporcionou ao estudante o desenvolvimento de uma visão crítica e crescimento pessoal, acadêmico e profissional. Durante esse período várias técnicas de diagnóstico de doenças infecciosas, de biologia celular e molecular foram aprendidas e aprimoradas. Dessa forma, foi possível avaliar o conhecimento adquirido durante a graduação com as atividades realizadas no laboratório. Além disso, o estágio possibilitou o contato com grandes profissionais da ciência, que estão inseridos em diversos projetos relevantes, proporcionando um treinamento digno com as mais variadas experiências nas diferentes áreas de investigação e profissionais da clínica de animais silvestres, que

também proporcionaram um treinamento completo, ensinando sobre diversas condutas a serem seguidas não apenas em relação aos pacientes atendidos, mas também com os seus tutores, propiciando uma ampla visão do mercado de trabalho e do campo da ciência.

Com relação a revisão de literatura relatada neste trabalho, pode-se concluir que a megabacteriose é uma doença de grande importância para aves domésticas e silvestres pelo seu potencial patogênico transmissível e características como alta morbidade e mortalidade, que terá como consequência grandes prejuízos em criações comerciais de larga escala, causando a morte da maioria dos indivíduos do plantel, e traz risco também para criadouros de aves silvestres e exóticas. Diante disso, o *M. ornithogaster* pode ser considerado um agente patogênico de extrema importância para a clínica veterinária de aves, e a relevância sobre o conhecimento dessa doença, incluindo características do agente etiológico, epidemiologia da doença, mecanismos de transmissão e resistência, sinais clínicos, técnicas de diagnóstico e protocolos de tratamento recomendados, são conhecimentos extremamente essenciais, possibilitando que o profissional identifique a doença de forma eficiente, realize o diagnóstico precoce e instaure um tratamento adequado, aumentando as chances de sucesso na terapia escolhida e conseqüentemente, salve o animal.

Por fim, destacam-se então, de forma geral, a importância e a necessidade de mais pesquisas acerca dessa doença, pois a literatura disponível não aborda todas as informações pertinentes à megabacteriose, por trata-se de uma doença relativamente “nova” e que precisa de muitos estudos sobre aspectos importantes para a sua compreensão e que ainda não foram discutidos e relatados.

REFERÊNCIAS

- BAKER, J. R. **Clinical and pathological aspects of “going light” in exhibition budgerigars (*Melopsittacus undulates*)**. Veterinary Record, 116:406-408, 1985.
- BAKER, J. R. **Megabacteriosis in Exhibition Budgerigars**. Veterinary Record, 131:12-14, 1992.
- BARON, H. R., STEVENSON, B. C., & PHALEN, D. N. (2021). **Comparison of In-Clinic Diagnostic Testing Methods for *Macrorhabdus ornithogaster***. Journal of Avian Medicine and Surgery, 35(1), 37-44.
- BORRELLI, L.; DIPINETO, L.; RINALDI, L. **New diagnostic insights for *Macrorhabdus ornithogaster* infection**. Journal of Clinical Microbiology. Naples, v.53, p. 3448-3450, nov. 2015.
- BRUNO, D. B. **Métodos de Diagnóstico e Tratamento para Megabacteriose em Aves Selvagens: Revisão Sistemática**. 65 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2016.
- CALVALCANTE FILHO, L. A., NASCIMENTO, J. C. S., FONSECA FILHO, L. B., AMORIM, M. J. A. A. L., BARROS, M. R., MOURA, R.T. D. **Megabacteriose em *Calopsita (Nymphicus hollandicus)***. PUBVET, vol.11, p.646–743, 2017.
- CARPENTER, J. W. **Exotic Animal Formulary**. 6^a ed. London: Elsevier Health Sciences, 2022.
- CARVALHO, P. R.; QUEIRÓS, T. S.; PITA, M. C. G. **Megabacteriose em aves**. Pesquisa & Tecnologia, 8, 1-2, 2011.
- CHRISTENSEN, N. H.; HUNTER, J. E. B.; ALLEY, M. R. **Megabacteriosis in a flock of budgerigars**. New Zealand Veterinary Journal, 45(5): 196-198, 1997.
- COOKE, S. W. **Role of megabacteria in mammals**. Veterinary Record; 147:371-372, 2000.
- CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens – Medicina Veterinária**. 2^a Ed. São Paulo: Roca, 2014.
- DONELEY, B. **Weight loss syndrome in juvenile free-living galahs (*Eolopus roseicapillus*)**. Proceedings Annual Conference Australasian Association of Avian Veterinarians and Unusual and Exotic Pet Veterinarians. p. 9-11, 2012.
- DORRESTEIN, G. M.; **Passeriformes**. In: Tully, T. N.; Dorrestein, G. M.; Jones, A. K. Clínica de Aves, Rio de Janeiro: Elsevier, cp. 8, p.117, 2010.
- DORRESTEIN, G. M.; ZWART, P.; BUITELAAR, M. N. **Problems arising from disease during the periods of breeding and rearing canaries and other aviary birds**. Tijdsch Diegeneesk 105:535–543, 1980.

FERRONATO, P. H.; LOVATO, M.; CEOLIN, L. V.; CORRÊA, I. M. O.; MACEDO, A.; SCHNEIDERS, G. H. **Casuística de canários atendidos pelo LCDPA com megabacteriose entre 2009 e 2011**. Anais 26ª Jornada Acadêmica.

FILIPPICH LJ, CHARLES BG, SUTTON RH, BUCHER AM. **Carboplatin pharmacokinetics following a single-dose infusion in sulphur-crested cockatoos (*Cacatua galerita*)**. Aust Vet J. 2004 Jun;82(6):366-9.

FILIPPICH, L. J.; HENDRIKZ, J. K. **Prevalence of megabacteria in budgerigar colonies**. Australian Veterinary Journal, 76, 92-95, 1998.

FILIPPICH, L. J.; PARKER, M. G. **Megabacteria in birds in Australia**. Australian Veterinary Practitioner, 23:72- 76, 1993.

FILIPPICH, L. J.; PARKER, M. G. **Megabacteria in wild birds in Australia**. Australian Veterinary Practitioner, 24:72-84, 1994.

GERLACH, H. **Megabacteriosis**. Semana Avian Exotic Pet Medicine 10:12–19, 2001.

GIOIA-DI CHIACCHIO, R. M.; PRIOSTE, F. S.; KNOBL, T.; SAINDENBERG, A. B. S. **Megabacteriose em canários (*Serinus canaria*)**. Anais do Congresso Abravas, p.13-17, 2009.

GOTTDENKER, N. L., WALSH, T., VARGAS, H., MERKEL, J., JIMÉNEZ, G. U., MILLER, R. E., DAILEY, M., & PARKER, P. G. (2005). **Assessing the risks of introduced chickens and their pathogens to native birds in the Galápagos Archipelago**. Biological Conservation, 126(3), 429-439.

GUIMARÃES, M. B. **Passeriformes** (Pássaro, Canário, Saíra, Gralha). In: Cubas, Z. S.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. Tratado de Animais Selvagens, São Paulo: Roca, cp. 22, p. 324- 337, 2006.

GYLSTORFF, I.; GRIMM, F. **Vogelkrankheiten**. Stuttgart: Eugen Ulmer GmbH & Co; p.296-297, 1987.

HANNAFUSA, Y.; BRADLEY, A.; TOMASZEWSKI, E. E.; LIBAL, M. C.; PHALEN, D. N.. **Growth and metabolic characterization of *Macrorhabdus ornithogaster***. J. Vet. Diagn. Investig. 19:256–265. 2007.

HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT. T. L. **Clinical Avian Medicine** (2-volume set), Spix Publishing, Inc., Palm Beach, Florida, 2006.

HENDERSON, G. M.; BULLAND, M. D.; HAWKEY, C. M. **Haematological findings in budgerigars with megabacterium and trichomonas infections associated with going light**. Veterinary Record; 123:492-494, 1988.

HOPPE, S. **Treatment of *Macrorhabdus ornithogaster* with sodium benzoate in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*)**. Proceedings of the 23rd Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians. Association of Avian Veterinarians, Seattle (WA), 2012.

HUCHZERMEYER, F. W.; HENTON, M. M.; KEFFEN, R. H. **High mortality associated with megabacteriosis of proventriculus and gizzard in ostrich chicks.** Veterinary Record, London, v.133, n.6, p.143-144, 1993.

HUCHZERNEYER, F. W.; HENTON, N. M. **Megabacteria in mammals.** Veterinary Record, 146:768, 2000.

JANSSON, D. S., BRÖJER, C., MATTSSON, R., FEINSTEIN, R., MÖRNER, T., & SEGERSTAD, C. H. (2008). **Mycotic proventriculitis in gray partridges (*Perdix perdix*) on two game bird farms.** Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 39(3), 428-437.

KHEIRANDISH, R.; SALEHI, M. **Megabacteriosis in budgerigars: diagnosis and treatment.** Comparative Clinical Pathology, 20, 501-505, 2011.

LACAZ, C. S. *et al.*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, n. 5, p. 297–298, 2002.

LANZAROT, P.; BLANCO, J. L.; ALVAREZ-PEREZ, S.; ABAD, C.; CUTULI, M. T.; GARCIA, M. E. **Prolonged fecal shedding of „megabacteria“(*Macrorhabdus ornithogaster*) by clinically healthy canaries (*Serinus canaria*).** Medical Mycology, 51, 888-891, 2013.

MADANI, S. A.; GHORBANI, A.; ARABKHAZAEI, F. **Successful treatment of macrorhabdosis in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) using sodium benzoate.** Journal of Mycology Research, 1, 21-27, 2014.

MARLIER, D., LEROY, C., STURBOIS, M., DELLEUR, V., POULIPOULIS, A., & VINDEVOGEL, H. (2006). **Increasing incidence of megabacteriosis in canaries (*Serinus canarius domesticus*).** The Veterinary Journal, 172(3), 549-552.

MARTINO, R. *et al.* **Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: incidence and risk factors in 395 patients.** Br J Haematol, v. 116, n. 2, p. 475-82, Feb 2002.

MARTINS, N. R. S.; HORTA, A. M.; SIQUEIRA, C. A. M.; LOPES, S. Q.; RESENDE, J. S.; JORGE, M. A. **Macrorhabdus ornithogaster in ostrich, rhea, canary, zebra finch, free range chicken, turkey, guinea-fowl, columbina pigeon, toucan, chuckar partridge and experimental infection in chicken, japanese quail and mice.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.3, p.291-298, 2006.

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

MOORE, R. P.; SNOWDEN, K. F.; PHALEN, D. N. **A method of preventing transmission of so-called “Megabacteria” in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*).** Journal of Avian Medicine and Surgery. v.15, n.4, p. 283-287, out. 2001.

MOREIRA, C. A. D. **Megabacteriose (macrorhabdus ornithogaster): revisão de literatura, relato de caso e elaboração de folder de orientação.** 2019.

MUNHOZ, L. S.; FINGER, P. F.; SIEDLER, B. S.; FISCHER, G.; HUBNER, S. O.; SALLIS, S. E. **Presença de *Macrorhabdus ornithogaster* em canários belgas (*Serinus canarius*) oriundos da cidade de Pelotas - Rio Grande do Sul.** In; Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35, 491- 492, 2008.

NAKAGAWA, T., UEMORI, T., ASADA, K., KATO, I., HARASAWA, R. **Acholeplasma laidlawii has tRNA genes in the 16S-23S spacer of the rRNA operon.** Journal of Bacteriology, v. 174, n. 24, p. 8163-8165, 1992.

NOURI M., MOVASSAGHI A.R. & KAMYABI Z. 2009. **Ventricular candidiasis in a lovebird (*Agapornis fischeri*).** ESVP/ECVP Proceedings 141(4):301.

OZMEN, O.; AYDOGAN, A.; HALIGUR, M.; ADANIR, R.; KOSE, O.; SAHINDURAN, S. **The pathology of *Macrorhabdus ornithogaster* and *Eimeria dunsingi* (Farr, 1960) Infections in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*).** Israel Journal of Veterinary Medicine. Burdur, v.68, n.4, p. 218-224, dez. 2013.

PENNYCOTT, T. W.; ROSS, H. M.; MCLAREN, I.M.; PARK, A.; HOPKINS, G. F.; FOSTER, G. **Causes of death of wild birds of the family Fringillidae in Britain.** Veterinary Record;143:155-158, 1998.

PENNYCOTT, T.W.; DUNCAN, G.; VENUGOPAL, K. **Marek's disease, candidiasis and megabacteriosis in a flock of chickens (*Gallus gallus domesticus*) and Japanese quail (*Coturnix japonica*).** Veterinary Record, n. 153, p. 293-297, 2003.

PHALEN, D. N. **Diagnosis and management of *Macrorhabdus ornithogaster* (formerly Megabacteria).** Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, v. 8, p. 299-306, 2005.

PHALEN, D. N. **Update on the diagnosis and management of *Macrorhabdus ornithogaster* (formerly megabacteria) in avian patients.** Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 17, 203-210, 2014.

PHALEN, D. N.; MOORE, R. **Experimental infection of white-leghorn cockerels with *Macrorhabdus ornithogaster* (Megabacterium).** Avian Disease, 47:254-260, 2003.

PHALEN, D. N.; TOMASZEWSKI, E.; Davis, A. **Investigation into the detection, treatment, and pathogenicity of avian gastric yeast.** In: Proceedings of the 23rd Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians. Monterey, CA: Association of Avian Veterinarians; p. 49-51, 2002.

QUEIRÓS, T. S.; CARVALHO, P. R.; PITA, M. C. G. **Megabacteriose: *Macrorhabdus ornithogaster* em aves – Revisão.** PUBVET, Londrina, v. 5, n. 13, Ed. 160, Art. 1080, 2011.

QUEIRÓS, T. S.; LOURENÇO, P.; PITA, M. C. G. **Análise de esfregaço fecal para diagnóstico de megabactéria (*Macrorhabdus ornithogaster*) em aves domésticas e silvestres.** PUBVET, Londrina, V. 7, N. 13, Ed. 236, Art. 1559, Julho, 2013.

RAVELHOFER-ROTHENEDER, K.; ENGELHARDT, H.; WOLF, O.; AMANN, R.; BREUER, W.; KÖSTERS, J. **Taxonomic classification of megabacteria isolates**

originating from budgerigars (*Melopsittacus undulatus* Shaw, 1805). Tierärztl Prax 28, 415–420, 2000.

REVOLLEDO, L. & PIANTINO-FERREIRA, A. J. **Patologia Aviária.** Manole, 2009.

ROBINO, P., FERROCINO, I., ROSSI, G., DOGLIERO, A., ALESSANDRIA, V., GROSSO, L., GALOSI, L., TRAMUTA, C., COCOLIN, L., & NEBBIA, P. (2019). **Changes in gut bacterial communities in canaries infected by *Macrorhabdus ornithogaster*.** Avian Pathology, 48(2), 111-120.

ROMÃO, R. **Texto de apoio às aulas de Anatomia II: Esplâncnologia das aves.** Universidade de Évora – Departamento de Zootecnia, Portugal, 2011.

SAMOUR JH, NALDO JL. **Pancreatic atrophy in a peregrine falcon (*Falco peregrinus*).** Vet Rec. 2002 Jul 27;151(4):124-5.

SCANLAN C. M.; GRAHAM, D. L. **Characterization of a Gram-positive bacterium from the proventriculus of budgerigars (*Melopsittacus undulatus*).** Avian Disease, 34: 779 – 786, 1990.

SCHMIDT, R.E.; REAVILL, D.R.; PHALEN, D.N. **Pathology of Pet Aviary Birds.** 1^a ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 2003. 312 p.

SCULLION, F. T., & SCULLION, M. G. (2004). **Successful treatment of megabacteriosis in a canary (*Serinus canaria*) with nystatin.** The veterinary record, 155(17), 528-529.

SEGABINAZI, S. D.; FLÔRES, M. L.; KOMMERS, G. D.; BARCELOS, A. S.; VEIT, D. C.; ELTZ, R. D. **Megabacteriose em emas (*Rhea americana*) no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** Ciência Rural, v.34, n.3, p.959-960, 2004.

SILVA, C. S.; LALLO, M. A.; BENTUBO, H. D. L. **Megabacteriose aviária: breve revisão.** Research, Society and Development, vol. 11, n. 1, 2022.

SILVA, J. C. R. (2007). **Tratado de animais selvagens - Medicina veterinária.** Editora Roca.

SILVA, T. M., OKAMOTO, A. S., SMANIOTTO, B. D., PAVAN, L. F., ANDREATTI FILHO, R. L. **Associação de megabacteriose, aspergilose e candidíase em periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*) em cativeiro, Marília, SP: relato de caso.** Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 21, n. 2, p. 101-104, 2014.

SIMPSON, V. R. **Megabacteriosis in exhibition budgerigars.** Veterinary Record, 131:203-204, 1992.

SON, T. T.; WILSON, G. H.; KENNETH, S. L. **Clinical and Pathological Features of Megabacteriosis (*Macrorhabdus ornithogaster*) in Birds.** Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program, 2004.

SPEER, B., PHALEN, D. N., POWERS, L. V., FILIPPICH, L. J., & ANTINOFF, N. (2004). **Diagnosis and treatment options for megabacteria (*Macrorhabdus ornithogaster*)**. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 18(3), 189-195.

TOMASZEWSKI, E. K.; LOGAN, K. S.; SNOWDEN, K. F.; KURTZMAN, C. P.; PHALEN, D. N. **Phylogenetic analysis identifies the 'megabacterium' of birds as a novel anamorphic ascomycetous yeast, *Macrorhabdus ornithogaster* gen. nov.** *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, USA, v. 53, p. 1201-1205, 2003.

TONELLI, A. (1993). **Megabacteriosis in exhibition budgerigars**. *Veterinary record* (United Kingdom).

VAN HERCK, H.; DUIJSER, T.; ZWART, P.; DORRESTEIN, G. M.; BUITELAAR, M.; VANDERHAGE, M. H. **A bacterial proventriculitis in canaries (*Serinus canaria*)**. *Avian Pathology*, v. 13, p. 561-572, 1984.

VIEIRA, T. B., GAIA, R. de A., RAIA, V. de A., PENA, R. H. R., FASANELO, M. G., & OLIVEIRA, S. M. P. de . (2022). **Megabacteriose aguda em calopsita (*Nymphicus hollandicus*): Relato de dois casos**. *Scientific Electronic Archives*, 15(9).

WERTHER, K; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; VERONA, C. E. S.; BARROS, L. S. S. **Megabacteriosis Occurrence in Budgerigars, Canaries and Lovebirds in Ribeirao Preto region - Sao Paulo State - Brazil**. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, Campinas , v. 2, n. 2, p. 183-187, Aug. 2000.