

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

DISSERTAÇÃO

**INFECÇÃO POR FILARÍDEOS EM TRINCA-FERROS (*Saltator similis*,
d'Orbigny & Lafresnaye, 1837) PROVENIENTES DO TRÁFICO
ANIMAL**

Alexandre Carvalho Costa

2023



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**INFECÇÃO POR FILARÍDEOS EM TRINCA-FERROS (*Saltator similis*,
d'Orbigny & Lafresnaye, 1837) PROVENIENTES DO TRÁFICO
ANIMAL**

ALEXANDRE CARVALHO COSTA

Sob a orientação da professora
Cristiane Divan Baldani

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Janeiro 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C837i Costa, Alexandre Carvalho, 1987-
Infecção por filarídeos em trinca-ferros (*Saltator similis*, d'Orbigny & Lafresnaye, 1837) provenientes do tráfico animal / Alexandre Carvalho Costa. - Seropédica, 2023.
66 f.: il.

Orientadora: Cristiane Divan Baldani.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Medicina Veterinária/Patologia e Ciências Clínicas, 2023.

1. Filariose. 2. Hematologia. 3. PCR. I. Baldani, Cristiane Divan, 1978-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Medicina Veterinária/Patologia e Ciências Clínicas III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ALEXANDRE CARVALHO COSTA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Ciências Clínicas

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 05/01/2023

CRISTIANE DIVAN BALDANI (Dra) UFRRJ
(Orientadora / Presidente da Banca)

ANDRESA GUIMARÃES (Dra) INMA

DANIEL DE ALMEIDA BALTHAZAR (Dr) UFRRJ



Emitido em 2023

TERMO Nº 12/2023 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.00.51)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 12/01/2023 15:32)

CRISTIANE DIVAN BALDANI
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.00.53)
Matrícula: ###724#0

(Assinado digitalmente em 27/01/2023 10:19)

DANIEL DE ALMEIDA BALTHAZAR
DeptMCV (12.28.01.00.00.00.00.53)
Matrícula: ###187#3

(Assinado digitalmente em 12/01/2023 18:12)

ANDRESA GUIMARÃES
CPF: ###.###.977-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **12**, ano: **2023**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **11/01/2023** e o código de verificação: **75c3b5b2b3**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado sabedoria e me guiado em um novo rumo na vida a partir da residência e agora no mestrado.

Aos meus pais Jane Pereira e Alberto Fernando, ao meu irmão André Carvalho e demais familiares pela torcida e apoio em todos os momentos.

À minha avó Maria Fernandes (*in memorian*), sem a ajuda dela hoje eu não seria médico veterinário.

À Laika (*in memorian*), por ter me dado amor e carinho incondicionais durante 14 anos.

Aos demais animais, motivo pelo qual me incentivo ser melhor a cada dia.

Às amigas Beatriz Leitão e Fernanda Torres por terem vibrado comigo em todas as conquistas, compreendido minhas ausências e estarem ao meu lado nessa trajetória.

À amiga Lilian Souza, minha mãe da medicina veterinária, por ter me estendido a mão e me guiado na profissão. Um dia me disse “vai voar”, segui o conselho e hoje estou voando cada vez mais alto. Muito do que sou hoje profissionalmente é graças a ela.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Cristiane Divan Baldani por estar sempre disposta a ajudar, pelo aprendizado e paciência desde a residência.

À amiga Elisabeth Mureb por ser minha dupla desde a residência e pelo companheirismo em todos os momentos.

Às amigas Ágatha Xavier e Naiara Vidal por toda a ajuda e companheirismo.

À equipe do LABVET pela amizade, descontração e aprendizado.

Ao Prof. Dr. Huarrisson Azevedo dos Santos e toda equipe do LASAVE pelos ensinamentos, paciência e apoio nas análises moleculares para execução deste estudo.

Ao Prof. Dr. Daniel de Almeida Balthazar e Anieli Vidal pelo auxílio na obtenção das amostras para o presente estudo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro por me proporcionar a oportunidade de crescer profissionalmente.

Aos membros da banca, Dr.^a Andresa Guimarães, Dr.^a Juliana Macedo Raimundo, Prof. Dr. Daniel de Almeida Balthazar e Prof. Dr. Huarrisson Azevedo dos Santos pelas considerações e sugestões que são de grande relevância para o aprimoramento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e aos professores pela oportunidade e pelos ensinamentos ao longo dessa trajetória.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

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

RESUMO

COSTA, Alexandre Carvalho. **Infecção por filarídeos em trinca-ferros (*Saltator similis*, d'Orbigny & Lafresnaye, 1837) provenientes do tráfico animal.** 2023. 66f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Dentre os passeriformes nativos, o trinca-ferro (*Saltator similis*) é a segunda espécie com maior ocorrência em apreensões e a primeira quando se refere ao interesse entre criadores de pássaros. Os Passeriformes são acometidos por filarídeos de distribuição mundial e apesar da maioria das espécies não serem patogênicas para aves, podem causar redução de peso, ataxia e óbito. Devido a liberação intermitente das microfilárias na circulação sanguínea, o diagnóstico pode ser feito por meio de avaliações seriadas do esfregaço sanguíneo. Métodos moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), podem ser utilizados para detectar e identificar a espécie de filarídeo presente no hospedeiro definitivo, porém, há poucos estudos que abordem a caracterização molecular e filogenia de filarídeos aviários, sendo as informações disponíveis escassas e algumas vezes insuficientes para o diagnóstico conclusivo. O objetivo do presente estudo foi pesquisar a presença de microfilárias em trinca-ferros mantidos no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS-RJ), através de esfregaços sanguíneos, técnica de Woo e PCR e correlacionar os achados com possíveis alterações hematológicas e sinais clínicos observados, a fim de auxiliar o diagnóstico e tratamento, visando melhor qualidade de vida e tornando-os aptos para uma possível reintrodução na vida selvagem. Foram amostrados 81 trinca-ferros, de sexo e idade indeterminados, sem distinção do estado de saúde. As aves foram contidas fisicamente para pesagem, exame clínico e coleta de sangue para realização do hemograma, técnica de Woo e PCR. A partir do esfregaço sanguíneo foram realizadas análises morfológicas e morfométricas das microfilárias identificadas. Na reação de PCR foram utilizadas sequências parciais dos genes mitocondrial citocromo c oxidase I (cox1) e nuclear 28S rDNA (28S). Vinte e três aves (18,6%) foram positivas para microfilárias no esfregaço sanguíneo, sendo 78,3% (n=18/23) classificadas em alta intensidade de infecção. Pela técnica de Woo, 23,5% (n=19/81) das amostras foram positivas. Já a PCR demonstrou 45,7% (n=37/81) de positividade. O total de animais positivos em pelo menos uma técnica diagnóstica foi de 53,0% (n=48/81). Os aspectos morfológicos das microfilárias foram semelhantes entre si, com exceção de um trinca-ferro que apresentou diferença significativa na maioria dos parâmetros analisados. A análise hematológica demonstrou diferença significativa nos valores médios de hemácias, sendo a média dos animais positivos inferior ao valor de referência utilizado como parâmetro para a espécie. No aspecto clínico, não foram observadas alterações que pudessem ser associadas especificamente à infecção por microfilárias. O verão foi a estação do ano com maior número de animais positivos (92,9%; n=13/14), sugerindo que condições climáticas podem interferir na periodicidade da infecção por microfilárias. A detecção a partir da associação de métodos diagnósticos se mostrou eficaz, demonstrando alta frequência de animais positivos para microfilárias. A PCR foi o método mais sensível, porém, o esfregaço sanguíneo traz a vantagem da realização de análises morfológicas e morfométricas, assim como a intensidade da infecção. A união entre abordagens moleculares e morfológicas merece mais atenção na pesquisa de espécies Filarioidea, particularmente por fornecer informações que contribuam para auxiliar no diagnóstico e tratamento destas aves e, assim, melhorar a qualidade de vida e permitir a reintrodução na vida selvagem.

Palavras-chave: Filariose. Hematologia. PCR.

ABSTRACT

COSTA, Alexandre Carvalho. **Filarial infection in green-winged saltator (*Saltator similis*, d'Orbigny & Lafresnaye, 1837) from animal trafficking**. 2023. 66f. Dissertation (Masters in Veterinary Medicine, Clinical Sciences). Veterinary Institute. Rural Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Among the native passerines, the green-winged saltator (*Saltator similis*) is the second species with the highest occurrence in apprehensions and the first when referring to interest among bird breeders. Passeriformes are affected by worldwide distribution filarids and although most species are not pathogenic for birds, they can cause weight loss, ataxia and death. Due to the intermittent release of microfilariae into the bloodstream, the diagnosis can be made through serial blood smear evaluations. Molecular methods, such as the polymerase chain reaction (PCR), can be used to detect and identify the filarid species present in the definitive host, however, there are few studies that address the molecular characterization and phylogeny of avian filarids, and the information available scarce and sometimes insufficient for a conclusive diagnosis. The aim of the present study was to investigate the presence of microfilariae in green-winged saltator kept at the Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS-RJ), through blood smears, Woo technique and PCR and to correlate the findings with possible hematological alterations and observed clinical signs. A total of 81 green-winged saltator were sampled, of undetermined gender and age, regardless of health status. The birds were physically restrained for weighing, clinical examination and blood collection for blood count, Woo technique and PCR. From the blood smear, morphological and morphometric analyzes of the identified microfilariae were performed. In the PCR reaction, partial sequences of the mitochondrial cytochrome c oxidase I (cox1) and nuclear 28S rDNA (28S) genes were used. Twenty-three birds (18,6%) were positive for microfilariae in the blood smear, with 78,3% (n=18/23) classified as high intensity of infection. By Woo technique, 23,5% (n=19/81) of the samples were positive. The PCR demonstrated 45,7% (n=37/81) of positivity. The total number of positive animals in at least one diagnostic technique was 53,0% (n=48/81). The morphological aspects of the microfilariae were similar to each other, with the exception of one green-winged saltator that showed a significant difference in most of the analyzed parameters. The hematological analysis showed a significant difference in the average values of red blood cells, with the average of positive animals being lower than the reference value used as a parameter for the species. In the clinical aspect, no alterations that could be specifically associated with microfilarial infection were observed. Summer was the season with the highest number of positive animals (92,9%; n=13), suggesting that climatic conditions may interfere with the periodicity of microfilariae infection. The detection based on the association of diagnostic methods proved to be effective, demonstrating a high frequency of positive animals for microfilariae. PCR was the most sensitive method, however, the blood smear has the advantage of performing morphological and morphometric analyses, as well as the intensity of the infection. The union between molecular and morphological approaches deserves more attention in the research of Filarioidea species, particularly for providing information that contributes to assist in the diagnosis and treatment of these birds and, thus, improve the quality of life and allow the reintroduction in the wild.

Key words: Filariasis. Hematology. PCR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica do trinca-ferro (<i>Saltator similis</i>). Fonte: BirdLife International, 2022.	14
Figura 2: Microfilárias no esfregaço sanguíneo de trinca-ferro, coloração de Rosenfeld, aumento de 1000x.	27
Figura 3: Microfilárias no esfregaço sanguíneo de trinca-ferro (setas), coloração de Rosenfeld, aumento de 100x.	28
Figura 4: Fotografia de eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio. PM: peso molecular em escala de 100 pares de bases (Invitrogen®). C+: controle positivo. C-: controle negativo. TF: trinca-ferros testados, sendo TF 6, TF 9 e TF 25 positivos em ambos os genes, 28S e COI, e TF 26 negativo.	29
Figura 5: Aspectos morfológicos das microfilárias observadas no trinca-ferro (<i>S. similis</i>) número 96. EA: extremidade anterior; EC: espaço cefálico; AN: anel nervoso; PE: poro excretor; PA: poro anal; BC: base da cauda; EP: extremidade posterior.	32
Figura 6: Aspectos morfológicos das microfilárias encontradas nos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) 6, 17, 25 e 89. EA: extremidade anterior; EC: espaço cefálico; AN: anel nervoso; PE: poro excretor; PA: poro anal; BC: base da cauda; EP: extremidade posterior.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados e das condições de termociclagem para as reações de PCR, utilizadas para detecção molecular de microfilárias baseadas nos genes <i>cox1</i> e <i>28S</i> .	26
Tabela 2: Trinca-ferros (<i>S. similis</i>) mantidos sob cuidados humanos no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), Seropédica, positivos no esfregaço sanguíneo (n=23), quantificação de microfilárias e intensidade da infecção por lâmina.	28
Tabela 3: Valores médios dos parâmetros morfométricos de microfilárias encontradas nos esfregaços sanguíneos de trinca-ferros (<i>S. similis</i>).	30
Tabela 4: Valores médios dos parâmetros relacionados ao eritrograma, leucograma, trombograma e proteína plasmática total de trinca-ferros (<i>S. similis</i>) positivos para microfilária em pelo menos um método diagnóstico (esfregaço sanguíneo, técnica de Woo e PCR).	34
Tabela 5: Associação entre os resultados obtidos a partir do esfregaço sanguíneo e PCR e alterações hematológicas nas amostras positivas para microfilárias obtidas de trinca-ferros (<i>S. similis</i>).	35
Tabela 6: Valores médios relacionados ao peso corporal de trinca-ferros (<i>S. similis</i>) positivos para microfilária em pelo menos um método diagnóstico.	36
Tabela 7: Associação entre os resultados obtidos a partir do esfregaço sanguíneo e PCR e peso corporal nas amostras positivas para microfilárias obtidas de trinca-ferros (<i>S. similis</i>).	36
Tabela 8: Alterações clínicas dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) positivos para microfilárias em esfregaço sanguíneo e PCR (n=48).	36
Tabela 9: Amostras dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) distribuídos de acordo com a estação do ano e seus respectivos valores médios de temperatura mínima e máxima.	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Trinca-ferro (<i>Saltator similis</i>)	14
2.1.1 Distribuição geográfica	14
2.1.2 Características	15
2.1.3 Nutrição	15
2.1.4 Reprodução	16
2.1.5 Conservação	16
2.2 Filarídeos	16
2.2.1 Morfologia	17
2.2.2 Prevalência	17
2.2.3 Ciclo Biológico	17
2.2.4 Patogenia	18
2.2.5 Periodicidade do filarídeo	20
2.2.6 Diagnóstico	21
2.2.7 Tratamento	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Animais	24
3.2 Exame Clínico	24
3.3 Coleta de Sangue	24
3.4 Análise Hematológica	25
3.5 Análises Morfométricas e Morfológicas	25
3.6 Reação em Cadeia da Polimerase	26
3.6.1 Extração de DNA	26
3.6.2 Reações de amplificação	26
3.6.3 Controles positivos e negativos dos ensaios moleculares	27
3.6.4 Eletroforese de DNA em gel de agarose	27
3.7 Análise Estatística	27
4 RESULTADOS	28
4.1 Esfregaços Sanguíneos	28
4.2 Técnica de Woo	30
4.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	30
4.4 Análises Morfométricas e Morfológicas	31
4.5 Análise Hematológica	34
4.6 Exame Físico	36
4.7 Periodicidade e Condições Climáticas	38
5 DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÃO	47
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

ANEXOS	55
Anexo A – Ficha clínica	56
Anexo B – Resultados de eritrograma, trombograma e PPT dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) positivos para microfilárias	57
Anexo C – Resultados do leucograma dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) positivos para microfilárias	58
Anexo D – Resultados de eritrograma, trombograma e PPT dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) negativos para microfilárias	60
Anexo E – Resultados do leucograma dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) negativos para microfilárias	61
Anexo F – Peso corporal dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) positivos para microfilárias	63
Anexo G – Peso corporal dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) negativos para microfilárias	64
Anexo H – Alterações clínicas dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) positivos para microfilárias	65
Anexo I – Alterações clínicas dos trinca-ferros (<i>S. similis</i>) negativos para microfilárias	67

1 INTRODUÇÃO

O trinca-ferro (*Saltator similis*), pertencente a ordem Passeriformes e família Thraupidae, dentre os passeriformes nativos, é a espécie com a segunda maior ocorrência em apreensões e a primeira quando se refere ao interesse entre criadores de pássaros. Os Passeriformes são acometidos por filarídeos de distribuição mundial da família Onchocercidae, que são helmintos nematódeos de formato filiforme capazes de parasitar tecidos e cavidades de aves, mamíferos, répteis e anfíbios. São transmitidos na fase larvar, denominada microfilária, através da picada de insetos e artrópodes hematófagos.

É possível observar microfilárias no sangue periférico e pulmão, enquanto o filarídeo adulto pode ser encontrado na cavidade celomática e em diversos tecidos. Apesar da maioria das espécies de filarídeos não serem patogênicas para as aves, há relatos de infecção em espécies de Passeriformes, Piciformes, Psittaciformes, Falconiformes, Galliformes e Casuariiformes, onde foram observadas algumas alterações clínicas, dentre elas, caquexia, ataxia e até óbito.

O diagnóstico pode ser realizado através da inspeção seriada do esfregaço sanguíneo devido a liberação intermitente das microfilárias na circulação sanguínea, onde são visualizadas extracelularmente, e também através da técnica de Woo, que consiste em promover uma concentração dos parasitas. Estas técnicas, no entanto, apresentam baixa sensibilidade na fase crônica da doença. Assim, métodos moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), que apresentam maior sensibilidade e especificidade, podem ser utilizados para, inclusive, identificar a espécie de filarídeo presente. No entanto, há poucos estudos que abordem a caracterização molecular e filogenia de filarídeos aviários adultos.

Em aves há cerca de 160 espécies de filarídeos descritos em 16 gêneros, porém apenas dez espécies da família Onchocercidae possuem sequências de DNA disponíveis. Apesar da diversidade de espécies que acometem aves, as informações acerca destes filarídeos são escassas e, devido a isto, é crucial a compreensão das consequências patológicas e clínicas que envolvem as infecções por filarídeos aviários a fim de determinar o real impacto na população hospedeira. Diante destes fatos, objetivou-se, no presente estudo, investigar a presença de microfilárias na corrente sanguínea de trinca-ferro a partir das técnicas dos esfregaços sanguíneos, de Woo e PCR, e correlacionar os achados com possíveis alterações hematológicas e sinais clínicos, visando auxiliar no diagnóstico e tratamento destas aves, trazendo melhor qualidade de vida e tornando-as aptas para uma possível reintrodução na vida selvagem.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As aves são consideradas um dos grupos mais abundantes de vertebrados e possuem grande importância nos ecossistemas por serem consideradas bioindicadores, sendo essenciais para a condição ambiental (CAMPANARO; NUNES, 2020). Além disso, são relevantes quando se refere ao aspecto ecológico por promoverem dispersão de sementes em praticamente todo o território terrestre, que se dá devido a capacidade de se deslocarem e ocuparem diferentes ambientes, contribuindo assim para a preservação de diversas espécies de plantas (PIZO; GALETTI, 2010; CAMPANARO; NUNES, 2020).

De toda a biodiversidade existente no planeta, o Brasil é responsável por 10%, estando em terceiro lugar no que diz respeito a diversidade da avifauna, atrás apenas da Colômbia e Peru (SILVA et al., 2015; CAVALCANTI; NUNES, 2019). No Brasil há a ocorrência de 1971 espécies de aves, sendo distribuídas em 1742 aves residentes ou migrantes reprodutivas, 126 visitantes não reprodutivas e 103 vagantes (PACHECO et al., 2021), distribuídas por todos os biomas, sendo a floresta Amazônica, Mata Atlântica e Cerrado as principais áreas de ocorrência (PIACENTINI et al., 2015; SILVA et al., 2015).

A ordem dos Passeriformes é a mais abundante e diversa das ordens de Aves (SICK, 1997), sendo responsável por mais da metade das espécies que já foram catalogadas no país (PIACENTINI et al., 2015). Os Passeriformes possuem características que os diferem de outros grupos, como a presença de escamas córneas nos tarsos (CAMPANARO; NUNES, 2020), a musculatura da mandíbula e também a presença de diversos pares de músculos localizados na siringe, e esta última característica possibilita que estas aves emitam sons mais elaborados e complexos do que os sons das aves não Passeriformes (SICK, 1997; REIS; SILVA, 2016).

2.1 Trinca-ferro (*Saltator similis*)

O trinca-ferro (*Saltator similis*) (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837), conhecido também como pixarro, pertence a ordem Passeriformes e família Thraupidae (SANCHES, GODOY, 2017). No Brasil, é possível encontrar duas subespécies, *Saltator similis similis* e *S. similis ochraceiventris* (SICK, 1997). É visto com maior frequência em pares, porém também pode ser visto em bandos mistos (LAGOS et al., 2018; VASCONCELOS; ZIADE, 2020).

2.1.1 Distribuição geográfica

No Brasil, está distribuído da Bahia até o Rio Grande do Sul e região central (SICK, 1997; SANCHES, GODOY, 2017), onde é encontrado em bordas de mata, matas de galeria, caatingas, capoeiras e áreas antrópicas (LAGOS et al., 2018; VASCONCELOS; ZIADE, 2020). Também pode ser encontrado na Bolívia, Uruguai, Paraguai e Argentina (SICK, 1997; BirdLife International, 2022) (Figura 1).



Figura 1: Distribuição geográfica do trinca-ferro (*Saltator similis*). Fonte: BirdLife International, 2022.

2.1.2 Características

Na região superciliar possui uma fina listra alongada branca, enquanto os loros e as coberteiras das auriculares possuem coloração cinza-escuro (VASCONCELOS; ZIADE, 2020). A região do pescoço é de coloração branca (às vezes amarelada) (SICK, 1997) com laterais pretas (LAGOS et al., 2018). As regiões das escápulas e cranial do dorso é cinza-chumbo lavado de oliva na base enquanto o restante do dorso é verde-oliváceo (VASCONCELOS; ZIADE, 2020).

Ainda de acordo com Vasconcelos e Ziade (2020), a coloração das rémiges são cinza-enegrecidas com suas bordas brilhantes e tonalidade verde-oliva, e as retrizes e coberteiras superiores da cauda são cinza-chumbo, enquanto suas partes inferiores possuem coloração cinzenta e os flancos são pardos-acinzentados, sendo o crisso mais pardacento. O bico é cinza-enegrecido de aparência robusta, as íris são castanho-escuras e os tarsos são acinzentados.

O jovem se assemelha ao adulto, porém o peito e abdômen apresentam estrias enegrecidas (SICK, 1997). Mede, quando adulto, de 18 a 23 cm, pesa de 38 a 49 gramas (VASCONCELOS; ZIADE, 2020) e possui canto forte e bem pronunciado (SICK, 1997). Não apresenta dimorfismo sexual (VASCONCELOS; ZIADE, 2020), porém há uma diferença entre o canto do macho e o piado da fêmea, sendo o macho, por este motivo, a preferência entre os criadores (SICK, 1997).

2.1.3 Nutrição

O trinca-ferro é uma ave onívora (SANCHES, GODOY, 2017), tendo sua dieta baseada em insetos, frutos, sementes e flores (onde bebe néctar), com preferência por forragear em média altura até a copa das árvores e, algumas vezes, no solo (VASCONCELOS; ZIADE, 2020). A fêmea costuma receber alimento ofertado pelo macho (LAGOS et al., 2018).

2.1.4 Reprodução

No período reprodutivo, que ocorre de setembro a fevereiro, os machos abrem e fecham as asas de forma rítmica como forma de corte, para atrair a fêmea para a cópula (VASCONCELOS; ZIADE, 2020). Põe dois ovos, raramente três, de coloração azul-esverdeados maculados de marrom (LAGOS et al., 2018; VASCONCELOS; ZIADE, 2020) e, ao nascer, os pais revezam na alimentação dos filhotes (SICK, 1997). O ninho é construído em formato de tigela e utilizam pequenas raízes, folhas secas, gravetos e fibras vegetais (VASCONCELOS; ZIADE, 2020).

2.1.5 Conservação

Devido à rica biodiversidade encontrada no Brasil, o país se tornou um dos principais fornecedores de animais silvestres, sendo as aves o principal alvo dos traficantes e, devido a isto, estima-se que no país cerca de quatro bilhões de aves são retiradas da natureza anualmente, onde 70% dos espécimes são destinados para o comércio interno e 30% são destinados para outros países, principalmente da Europa, Ásia e América do Norte (NASCIMENTO et al., 2010).

De acordo com a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) (2018), a categoria do trinca-ferro na lista vermelha de espécies ameaçadas é pouco preocupante, porém a tendência atual da população é de diminuição. Apesar de não ser considerado ameaçado de extinção, a presença da espécie se tornou rara em algumas regiões devido à intensa captura ilegal e tráfico por conta de seu canto ser considerado belo e forte. Tal característica faz com que a espécie seja cobiçada como ave de gaiola (VASCONCELOS; ZIADE, 2020), o que torna a espécie a segunda da lista na ocorrência em apreensões dentre os passeriformes nativos, e a primeira quando se refere ao interesse entre criadores de pássaros (SANCHES; GODOY, 2017). Essas atividades ilegais acarretam prejuízo para o ecossistema, à saúde das aves, problemas econômicos e aumenta o risco da ocorrência de zoonoses, sendo, portanto, um problema ambiental, econômico e de saúde pública (CAVALCANTI; NUNES, 2019).

2.2 Filarídeos

Os Passeriformes podem ser acometidos por filarídeos que são helmintos nematódeos, pertencentes a ordem Spirurida, altamente especializados, que são capazes de parasitar tecidos e cavidades de aves, mamíferos, répteis, anfíbios (DREYER; DREYER, 2001; BARTLETT, 2008) e também do homem (DREYER; DREYER, 2001; BAIN et al., 2011).

Os filarídeos da família Onchocercidae, que apresentam distribuição mundial, têm sido descritos em diversas ordens de aves, incluindo a dos Passeriformes (BARTLETT, 2008). Das suas oito subfamílias pertencentes a esta família, quatro acometem aves, Dirofilarinae, Onchocercinae, Splendidofilariinae e Lemdaninae, sendo as duas últimas de maior ocorrência em aves (ANDERSON, 2000).

A família Onchocercidae é composta por 16 gêneros e aproximadamente 160 espécies, sendo *Pelecitus* o gênero mais amplamente distribuído com relatos em 17 ordens de aves (BARTLETT, 2008), dentre elas Psittaciformes (SPRATT, 2010; HUANG et al., 2017), Falconiformes (MUÑOZ-GARCIA et al., 2018), Passeriformes (LÓPEZ et al., 2011) e Piciformes (MADANI; DORRESTEIN, 2012). O gênero *Chandlerella* possui relatos em 13 ordens de aves, seguido de *Paronchocerca*, *Splendidofilaria* e *Cardiofilaria* com relatos em 11 ordens, sendo os demais gêneros descritos *Struthiofilaria*, *Pseudlemdana*, *Striatofilaria*, *Aproctella*, *Andersonfilaria*, *Dessetfilaria*, *Lemdana*, *Aproctiana*, *Sarconema*, *Eulimdana* e *Eufilaria* (BARTLETT, 2008).

2.2.1 Morfologia

Como descrito por Bartlett (2008), os filarídeos possuem formato filiforme, cutícula fina, coloração esbranquiçada e medem, em média, de 1 a 5 cm de comprimento, sendo a fêmea geralmente maior que o macho. Como sua morfologia externa é simples, se torna um desafio diferenciar as espécies devido a semelhança. As papilas cefálicas são reduzidas enquanto outras estruturas cefálicas (como, por exemplo, pseudolábios) são ausentes. Apesar da extremidade caudal não ser ornamentada, os machos possuem papilas caudais e, em algumas espécies, asas caudais. Ao longo do corpo pode haver a presença de estriais transversais cuticulares delicadas ou marcadas. Algumas espécies podem ter asas laterais que não são proeminentes.

Já as microfilárias possuem a extremidade anterior arredondada, cauda cônica, arredondada, atenuada ou filamentosa e podem ser longas (até 500 µm) e delgadas ou curtas (menos de 100 µm) e robustas (ANDERSON, 2000).

2.2.2 Prevalência

Conforme demonstram alguns estudos, geralmente, é observada baixa prevalência de filarídeos nas aves, como cita Cardells-Peris et al. (2020), onde observaram prevalência de 6,7% (6/90) de filarídeos adultos e 13,3% (12/90) de microfilárias em tordo-comum (*Turdus philomelos*) de vida livre. No que se refere a aves mantidas sob cuidados humanos, Huang et al. (2017) observaram a prevalência de 0,6% (1/166) de filarídeos adultos e 3,0% (5/166) de microfilárias em psitacídeos, sendo os positivos apenas papagaio-ecletus (*Eclectus roratus*).

Larrat, Dallaire e Lair (2012) descreveram apenas a presença de microfilárias em coruja-boreal (*Aegolius funereus*) de vida livre, apresentando a prevalência de 1,26% (6/21). Já Greiman et al. (2022) observaram prevalência de 9,5% (67/708) em Galliformes de vida livre utilizando a PCR em tempo real. Porém, Atawal, Mgbeahuruike e Hammers (2019), detectaram alta prevalência (57%; 52/91) de microfilárias em tecelão-malhado (*Ploceus cucullatus*) de vida livre, sendo 19,7% (18/33) machos e 37,3% (34/58) fêmeas.

2.2.3 Ciclo biológico

São transmitidos na fase larvar, chamada de microfilária (BARTLETT, 2008), através da picada do hospedeiro intermediário invertebrado que são os insetos hematófagos (SANCHES; GODOY, 2017), como os das ordens Diptera (Simuliidae, Culicidae, Cerapotonogonidae) e Phthiraptera (GREINER et al., 1975; BARTLETT, 2008), e outros artrópodes hematófagos, como pulgas, carrapatos e ácaros (ANDERSON, 2000). No caso dos mosquitos, apenas a fêmea pica o hospedeiro definitivo, pois através da picada é possível extrair hemoglobina e ferro que são necessários para formar uma camada de quitina ao redor de seus ovos (DREYER; DREYER, 2001).

Os machos e fêmeas adultos dos filarídeos se acasalam no hospedeiro definitivo, que são as aves, e então a fêmea produz as microfilárias que entram na corrente sanguínea ou pele deste hospedeiro (BARTLETT, 2008). As microfilárias geralmente são encontradas distante do seu local de origem da fêmea grávida no hospedeiro definitivo (ANDERSON, 2000).

O hospedeiro intermediário ingere o sangue da ave infectada e então se dá início ao desenvolvimento das larvas L1 até larvas L3, que é o estágio infeccioso, estas migram para a cabeça e peças bucais do hospedeiro intermediário e, durante o repasto sanguíneo, as L3 migram de forma rápida até a pele do hospedeiro definitivo devido as condições de umidade adequadas, e penetram rapidamente no ferimento ali causado (BARTLETT, 2008) até alcançarem a corrente sanguínea do hospedeiro definitivo (ANDERSON, 2000).

Em seguida ocorre a migração dessas microfilárias do sangue periférico até o sistema cardiovascular, pulmonar ou linfático, onde vão se desenvolver até larvas L5 ou a fase adulta, acasalar e, então, as fêmeas liberam novas microfilárias na corrente sanguínea, as quais serão ingeridas pelo vetor através da hematofagia, iniciando um novo ciclo (BARTLETT, 2008). É possível observar microfilárias no sangue periférico e pulmão, enquanto o adulto pode ser encontrado na cavidade celomática e em diversos tecidos (SANCHES; GODOY; 2017). Pode ser encontrada mais de uma espécie de filarídeo, do mesmo gênero ou não, em um mesmo hospedeiro definitivo, sendo mais comum nos gêneros *Chandlerella* e *Splendidofilaria* (BARTLETT, 2008).

As filárias de algumas espécies possuem um curto período de vida, desaparecendo assim que as microfilárias são liberadas pelas fêmeas grávidas, enquanto as microfilárias possuem um período de vida mais duradouro (SPRATT, 2010), estando, então, relacionadas a aves adultas devido ao seu longo período pré-patente (GREINER et al., 1975). Devido a isto, se torna um desafio determinar a presença da filária adulta no hospedeiro definitivo (BINKIENE et al., 2021), fazendo com que provavelmente as infecções sejam muito mais comuns do que relatado na literatura (BARTLETT, 2008).

O período pré-patente das microfilárias de *Chandlerella striatospicula*, *Eufilaria longicaudata*, *Cardiofilaria nilesi*, *Splendidofilaria picacardina*, *Splendidofilaria fallisensis*, *Splendidofilaria californiensis* são, respectivamente, 37 a 53, 34 a 76, 21 a 36, 42 a 73, 30 a 36 dias e, aproximadamente, 3 meses (BARTLETT, 2008).

2.2.4 Patogenia

Em aves, a maioria das espécies de filarídeos adultos não é patogênica (BARTLETT, 2008). As filárias adultas podem se localizar em tecido subcutâneo, articulações, tecido conjuntivo (BARTLETT; ANDERSON, 1987; PIZARRO et al., 1993), coração, artéria pulmonar, pulmão (BARTLETT; ANDERSON, 1981; ECHOLS; CRAIG; SPEER, 2000), cavidade celomática (CARDELLS-PERIS et al., 2020), esôfago, traqueia (BARTLETT, 1992) e ducto biliar (SIMPSON; MACKENZIE; HARRIS, 1996), enquanto as microfilárias podem ser encontradas em tecido subcutâneo, articulações (MADANI; DORRESTEIN, 2012), tecido conjuntivo (PIZARRO et al., 1993), derme (BARTLETT; ANDERSON, 1987), e no lúmen dos vasos sanguíneos do pulmão, cérebro, coração, rins e fígado (LARRAT; DALLAIRE; LAIR, 2012; HUANG et al, 2017).

Quando o filarídeo adulto é patogênico, é possível observar algumas alterações clínicas e laboratoriais associadas à algumas espécies de filárias devido à invasão dos adultos em alguns órgãos importantes (HUANG et al, 2017), como relatado em Passeriformes (SIMPSON; MACKENZIE; HARRIS, 1996), Piciformes (MADANI; DORRESTEIN, 2012), Psittaciformes (SPRATT, 2010), Falconiformes (MUÑOZ-GARCÍA, et al., 2018), Galliformes (SEKIGUCHI et al., 2018) e Casuariiformes (LAW; TULLY; STEWART, 1993). Os sinais clínicos observados são depressão, anorexia, ataxia, decúbito lateral, caquexia, dificuldade respiratória, tenossinovite, nódulos subcutâneos, redução de peso, desidratação, edema e morte, enquanto as alterações laboratoriais possíveis de serem observadas são leucocitose, aumento das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), e hipoglicemia (LAW; TULLY; STEWART, 1993; MADANI; DORRESTEIN, 2012; MUÑOZ-GARCÍA et al., 2018; SEKIGUCHI et al., 2018).

Pizarro et al. (1993) descreveram a presença de congestão localizada e lesões hemorrágicas no tecido subcutâneo na região do pescoço de um pombo doméstico (*Columba livia*) infectado por *Pelecitus clavus*, enquanto Allen et al. (1985) relataram em um maracanã-de-colar (*Ara auricollis*) infectado por *Pelecitus* sp., claudicação associada a edema em pé

direito e numerosos nódulos subcutâneos escuros e macios em todos os dedos do pé direito, porém indolor, de temperatura normal e sem comprometimento ósseo.

Já no relato de Sekiguchi et al. (2018), uma galinha apresentou depressão leve, respiração ofegante e dificuldade de locomoção. A ave foi eutanasiada e durante a necropsia os pulmões apresentaram coloração difusamente vermelha escura, enquanto na histopatologia foi observado colapso focal a difuso dos capilares aéreos dos pulmões devido à congestão e hiper celularidade, com presença de numerosos heterófilos e células mononucleares acompanhados por diversas microfilárias. A quantidade de microfilárias observadas foi maior nos capilares do que nas veias e artérias pulmonares. Também foi observado leve edema perivascular no interstício pulmonar e pleuropneumonia granulomatosa heterofílica. Nos capilares sanguíneos do fígado e rins também foram encontradas microfilárias, porém sem dano tecidual. Miosite também foi observada no músculo da coxa, com a presença de lesões focais de degeneração, necrose e regeneração de miócitos. Entretanto, não foi confirmado que as microfilárias causaram as lesões histológicas pulmonares, pois devido a pleuropneumonia e miosite, não foram descartados outros diagnósticos diferenciais como, por exemplo, infecção bacteriana e miopatia nutricional.

Sanchez-Godoy et al. (2020) descreveram lesões macro e microscópicas devido à inflamação crônica, fibrose e metaplasia condróide da artéria aórtica, além da presença de filarídeos adultos nas artérias aorta e braquicefálicas em tucano-de-peito-amarelo (*Ramphastos sulfuratus*) e tucano-esmeralda (*Aulacorhynchus prasimus*), que provavelmente levou à redução do lúmen, causando obstrução do fluxo sanguíneo e hipertensão arterial, hipertrofia do ventrículo esquerdo do coração, congestão e edema pulmonar, causando a morte. Esses animais apresentaram depressão, penas eriçadas, dificuldade de empoleirar, convulsão e morte súbita.

Entretanto, a ave comprometida pode apresentar infecção subclínica (BARTLETT, 2008), assim como descrito por Simpson, Mackenzie e Harris (1996) em dois exemplares de pega-azul-de-bico-vermelho (*Urocissa erythroryncha*). Neste estudo, a fêmea apresentou-se apática, seguido de rápida melhora. Após duas semanas o macho foi encontrado morto e no dia seguinte a fêmea também veio a óbito, sem demonstrar alterações clínicas. Nos pulmões, durante a necropsia, evidenciou-se congestão, edema e infiltração dos capilares aéreos por grande quantidade de granulócitos, característico de pneumonia aguda, sendo consistente à resposta da presença de microfilárias e filarídeos adultos. No fígado da fêmea ainda foi observado uma acentuada infiltração linfóide perivascular associada às microfilárias presentes e também vasculite nos ductos biliares associada aos filarídeos adultos. Enquanto no macho a alteração observada no fígado foi consistente ao efeito anóxico, provavelmente secundário à insuficiência cardíaca direita devido à gravidade da lesão pulmonar.

Merkel et al. (2007) afirmam que a infecção não causa impacto na condição corporal das aves, porém em um estudo realizado por Larrat, Dallaire e Lair (2012), corujas-boreais (*Aegolius funereus*) apresentaram peso corporal de leve a moderadamente baixo, enquanto para Madani e Dorrestein (2012) a presença de caquexia e hipoglicemia em um tucano-de-bico-preto (*Ramphastos vitellinus*) se deu devido a diminuição da mobilidade e anorexia decorrentes da tendinite e celulite causadas por microfilárias do gênero *Pelecitus*.

Gregory, Keymer e Harvey (1991) encontraram uma correlação positiva entre a infecção por nematódeos e o peso corporal de alete-de-cauda-branca (*Alethe diademata*), sugerindo que aves maiores e mais pesadas são mais propensas de serem parasitadas. Sehgal, Jones e Smith (2005), obtiveram resultados semelhantes, em que aves infectadas possuíam maior peso corporal, sugerindo como causa processos patológicos relacionados aos filarídeos adultos, como derrame peritoneal, hepatomegalia ou aumento de outras vísceras, ou algum outro fator, como, por exemplo, idade e disponibilidade de alimentos.

Bartlett (2008) menciona que microfilárias quando localizadas no lúmen dos vasos sanguíneos não são patogênicas, sendo os raros casos relatados de presença de sinais clínicos limitados a localização externa ao lúmen dos vasos sanguíneos. Porém, Bartlett e Anderson (1981) citam a presença de inflamação crônica nas paredes das artérias pulmonares de corvos-americanos (*Corvus brachyrhynchos*) causada pela infecção de microfilárias de *Splendidofilaria caperata* e Larrat, Dallaire e Lair (2012) demonstraram a presença de agregados fibrinóides sugestivos de estase vascular no lúmen dos vasos sanguíneos e alta quantidade de microfilárias obstruindo grandes vasos dos pulmões nos casos mais graves em corujas-boreais (*Aegolius funereus*), causando também prejuízo na dinâmica circulatória normal e trocas gasosas devido à alta carga parasitária em infecção por microfilárias do gênero *Chandlerella*.

Segundo Bartlett (2008), poucos filarídeos adultos provocam alguma doença evidente em uma ave viva ou dano tecidual grosseiro que seja perceptível na necropsia, pois quando é patogênico em uma ou mais espécies de aves, pode não ser patogênico em outras espécies, assim como quando é patogênico em uma ave individual, pode não ser patogênico em outras aves que sejam da mesma espécie.

A associação entre parasitas e fatores estressantes, como condições climáticas desfavoráveis e escassez de alimentos, pode aumentar a mortalidade das aves (HOWE, 1992; WORK; METEYER; COLE, 2004). Larrat, Dallaire e Lair (2012) demonstraram que durante o inverno abrupto com baixa oferta de alimentos, pode acarretar no comprometimento do sistema imunológico devido ao mau estado nutricional e como consequência a intensificação da infecção parasitária.

A prevalência e intensidade das infecções parasitárias podem sofrer influência em uma determinada população de aves devido a variações na abundância de hospedeiros intermediários e definitivos (LARRAT; DALLAIRE; LAIR, 2012). As condições climáticas podem causar maior abundância de hospedeiros intermediários por conta das populações de artrópodes sofrerem influência das variações de temperatura e umidade, podendo ocasionar infecções mais graves (LAAKSONEN et al., 2010), assim como demonstra Calado e Navarro-Silva (2002) no estudo com *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) que comprova a influência da temperatura e umidade sobre a longevidade, fecundidade e atividade hematofágica desta espécie, e também Law, Tully e Stewart (1993) demonstraram aumento considerável na população de vetores do gênero *Culicoides* resultante de primavera e verão excepcionalmente úmidos.

2.2.5 Periodicidade do filarídeo

É comum que haja uma baixa detecção de microfilárias devido a influência da periodicidade do parasita, pois devido ao ciclo circadiano, algumas espécies só possuem sua densidade aumentada no sangue periférico durante a noite, sendo o horário de pico entre 23:00h e 01:00h (DREYER et al., 1996; RIBEIRO; CURY; MELO, 2020), assim como demonstram Law, Tully e Stewart (1993) em um estudo com emus (*Dromaius novaehollandiae*) onde não observaram microfilárias de *Chandlerella quiscali* devido à periodicidade noturna do filarídeo, com o pico de microfilaremia ocorrendo à meia-noite. No caso dos Passeriformes, a maioria das espécies desta ordem possui hábitos diurnos (SEBAIO et al., 2012; BRUM et al., 2016; RIBEIRO; CURY; MELO, 2020).

Até o momento, não está completamente esclarecido o motivo que determina a periodicidade das microfilárias, mas especula-se que o motivo seja para o parasito se adequar aos hábitos de hematofagia do vetor, ou seja, se o vetor possui hábitos diurnos ou noturnos, garantindo, então, a perpetuação da espécie (DREYER; DREYER, 2001).

Apesar desta limitação, a presença de microfilárias já foi descrita em mais de 300 espécies de aves de diversas ordens em todo o mundo e, por sobreviverem mais tempo que os

adultos, a sua detecção no sangue é mais fácil do que a dos adultos nos tecidos (BARTLETT, 2008; BINKIENE et al., 2021). Logo, geralmente é necessária a necropsia para que seja possível encontrar o parasito adulto (HUANG et al., 2017).

2.2.6 Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado através da visualização das microfilárias extracelularmente em esfregaço sanguíneo, porém, como elas apresentam liberação intermitente na circulação sanguínea, a inspeção deve ser feita em esfregaços sanguíneos seriados (SANCHES; GODOY; 2017). De acordo com Hass et al. (2011), a intensidade da infecção pode ser classificada em três categorias: baixa (1 a 10 microfilárias por lâmina), média (11 a 20 microfilárias por lâmina) e alta (acima de 20 microfilárias por lâmina).

A técnica de Woo também pode ser utilizada como método diagnóstico (CHAGAS et al., 2020), onde o tubo capilar é selado em uma das extremidades e centrifugado em uma centrífuga de microhematócrito em velocidade de 10.000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos. Em seguida o tubo capilar é colocado sob lâmina de vidro e a região do plasma logo acima da capa leucocitária é visualizada em microscopia óptica em aumento de 100x, aumento este que é capaz de visualizar estágios móveis de parasitas relativamente grandes, como a microfilária. Consiste em uma técnica de concentração parasitária, utilizada no geral, para aumentar a sensibilidade da técnica de esfregaço sanguíneo.

A técnica de centrifugação do tubo capilar permite a realização de uma montagem de lâmina úmida, que pode ser realizada logo após a técnica de Woo, onde o tubo capilar é quebrado entre as hemácias e a capa leucocitária para que não haja perda do plasma, que é a região onde se encontra o concentrado de microfilárias, e são colocadas em uma lâmina de vidro seguida de lamínula para a preparação de uma montagem de lâmina úmida (BARTLETT, 2008; CHAGAS et al., 2020).

A capa leucocitária extraída de um tubo capilar visualizada em microscopia também parece ser eficaz, devido ao baixo volume de sangue necessário e a possibilidade de observar as microfilárias (LARRAT; DALLAIRE; LAIR, 2012).

Echols, Craig e Speer (2000) utilizaram o teste imunoenzimático 4DX (Idexx®), no qual detecta-se o antígeno de fêmeas adultas de *Dirofilaria immitis*, em dois tuiuiú-africano (*Ephippiorhynchus senegalensis*) com presença de filarídeos *Paronchocerca ciconarum* localizados no ventrículo direito, artéria pulmonar e pulmão, mostrando este ter eficácia em filarídeos cardiovasculares. Porém, não é possível comprovar a sensibilidade e especificidade devido ao teste não ter sido avaliado e validado em aves.

É possível que a identificação das microfilárias seja feita por características morfológicas e morfométricas de suas estruturas através do esfregaço sanguíneo, porém apenas este método se torna insuficiente devido a semelhança na morfologia das microfilárias (MCKEAND, 1998; HASS et al., 2011; BINKIENE et al., 2021), sendo possível identificar apenas a nível de gênero, assim como em estudo realizado por Ribeiro, Cury e Melo (2020) onde identificaram *Eufilaria* spp. a partir deste método. Portanto, este método de diagnóstico deve ser utilizado com cautela e em conjunto com outros métodos diagnósticos (BARTLETT, 2008). Devido a isto, métodos moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR) podem ser utilizados para aumentar a sensibilidade e especificidade dos métodos de diagnóstico parasitológicos tradicionais, permitindo, inclusive identificar a espécie de filarídeo presente. Tal o fato, que recentemente, Binkiene et al. (2021) realizaram a descrição morfológica e molecular de três espécies de microfilárias da família Onchocercidae.

Na PCR é possível detectar o DNA do parasito no sangue da ave hospedeira, entretanto, este método ainda não foi suficientemente desenvolvido para filarídeos aviários, havendo

poucos estudos abordando a caracterização molecular e filogenia de filarídeos aviários adultos (BINKIENE et al., 2021).

Em aves há cerca de 160 espécies de filarídeos descritos em 16 gêneros (BARTLETT, 2008), porém atualmente apenas dez espécies da família Onchocercidae possuem sequências de DNA disponíveis no GenBank para análise filogenética sendo: *Chandlerella quiscali* (von Linstow, 1904), *Splendidofilaria mavis* (Leiper, 1909), *Splendidofilaria bartletti* (Binkiene, 2021), *Eulimdana clava* (Wedl, 1856), *Cardiofilaria pavlovskyi* (Storm, 1937), *Aproctella alessandroi* (Bain, Petit, Kosek, Chabaud, 1981), *Eufilaria acrocephalusi* (Binkiene, 2021), *Eufilaria sylviae* (Binkiene, 2021), *Pelecitus fulicaeatrae* (Diesing, 1861) (BINKIENE et al., 2021) e *Pelecitus copsychi* (Uni, Mat Udin & Martin, 2022) (UNI et al., 2022).

O diagnóstico também pode ser realizado através do exame macroscópico (necropsia) e microscópico (histopatologia), onde os parasitos podem ser observados em diversos tecidos (LARRAT; DALLAIRE; LAIR, 2012; HUANG et al, 2017). Porém, durante a necropsia se torna difícil a identificação de espécies. Mas estudos prévios com relatos na família hospedeira e a localização dos parasitas adultos podem auxiliar no diagnóstico, assim como a determinação da espécie de microfilária, caso esteja presente (BARTLETT, 2008).

2.2.7 Tratamento

Apesar do tratamento raramente ser indicado, pode-se fazer uso de levamisol (SANCHES; GODOY, 2017). Echols, Craig e Speer (2000), em um tuiuiú-africano (*Ephippiorhynchus senegalensis*), demonstraram que a dose de 12 mg/kg, por via oral a cada 24 horas durante 10 dias, é eficaz para microfilárias, com resultado negativo em teste de knott modificado nas semanas 2, 4, 6 e 16 após o tratamento, porém não foi possível comprovar a eficácia em filarídeos adultos.

Ivermectina foi utilizada como método profilático por Law, Tully e Stewart (1993) em emus (*Dromaius novaehollandiae*) na dose de 200 µg/kg, por via subcutânea no dorso do pescoço, em aves a partir de 12 semanas de idade até atingirem a maturidade sexual com 24 meses, em doses administradas a cada 3 a 4 semanas. Desde o início deste protocolo, realizado em mais de 400 aves, não foram observados novos casos clínicos de filariose durante a estação reprodutiva dos anos 1991 a 1992.

A ivermectina também foi utilizada em macaranã-de-colar (*Ara auricollis*) por Allen et al. (1983), em dose única de 0,05 mg (200 µg/kg), por via oral, 30 minutos após a administração de dexametasona em dose única de 0,25 mg/kg, via intramuscular, porém, após 14 dias de tratamento, a ave ainda apresentou nódulos subcutâneos em todos os dedos do pé direito e, após um aspirado com agulha de um dos nódulos, observou-se a presença de microfilárias mortas. O tratamento foi interrompido e foi realizado procedimento cirúrgico onde foi realizada a retirada de 35 filarídeos adultos. As lesões foram lavadas com iodopovidona e realizada uma dose de 0,05 mg de ivermectina por via oral. Duas semanas após o procedimento cirúrgico, a ave apresentava melhora na aparência e função do pé direito.

Os medicamentos que matam os filarídeos adultos *in situ* podem causar consequências mais graves do que a infecção original, devido as respostas inflamatórias causadas e lesões que possam afetar a função fisiológica normal como consequência à morte dos filarídeos, sendo, talvez, o não tratamento a forma mais eficaz devido ao fato de que nem doença e nem patologia foram relatadas na grande maioria das 160 espécies de filarídeos aviários conhecidos (BARTLETT, 2008).

Os filarídeos em aves possuem uma diversidade de espécies, e embora existam diversos estudos sobre filarídeos aviários, o foco da maioria visa aves economicamente importantes ou mantidas como pet (BARTLETT, 2008), havendo portanto uma escassez nas informações quando se refere a aves de vida livre (BINKIENE et al., 2021), principalmente no que diz

respeito a imunidade aviária no contexto de infecções por filarídeos (BARTLETT, 2008). Por este motivo se torna crucial compreender as consequências patológicas e clínicas das infecções parasitárias em animais selvagens para que seja possível determinar seu impacto na população hospedeira (MUÑOZ-GARCÍA et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi autorizado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), através do sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio), sob número 47069-4.

3.1 Animais

Foram amostrados 81 trinca-ferros (*Saltator similis*) do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) (22°72'35" S; 43°70'98" W), localizado no município de Seropédica – RJ, oriundos de apreensão do tráfico ou criação ilegal entre os anos de 2021 e 2022, em meses aleatórios, entre 9h e 12h. As aves eram mantidas sob cuidados humanos no CETAS, em recinto coletivo com apenas exemplares da mesma espécie e identificadas por números em ordem crescente para controle do estudo. Foram incluídas aves de sexo e idade indeterminados, sem distinção do estado de saúde.

3.2 Exame Clínico

No dia anterior ao exame clínico e coleta de sangue, as aves foram capturadas com auxílio de puçá e acondicionadas em gaiolas de madeira individuais com água e alimento a vontade.

Inicialmente, as aves foram contidas apenas fisicamente, sem a necessidade de contenção química, e então foi realizada a pesagem seguida do exame clínico de acordo com Sanches e Godoy (2017), onde foram observados: cavidades oral e cloacal (presença de secreções, descamações, lesões e/ou alterações de coloração de mucosa), olhos, narinas e ouvidos, estado nutricional (escore corporal), temperatura, grau de hidratação, empenamento (desgaste, muda, coloração, linhas de estresse), tecido cutâneo (lesões, ectoparasitas), integridade do sistema esquelético, e outras alterações aparentes. Os dados foram documentados em fichas clínicas (ANEXO A).

3.3 Coleta de Sangue

Após o exame clínico, as penas que recobrem a região lateral direita do pescoço foram umedecidas com álcool 70% para que fossem afastadas, facilitando a visualização, e também para a realização de antissepsia local.

A coleta foi efetuada por meio de punção da veia jugular direita por possuir maior calibre e sua localização ser mais ventral quando comparada à veia jugular esquerda (CLARK, BOARDMAN, RAIDAL, 2009) utilizando-se seringas de 1,0 mL e agulhas hipodérmicas (calibre 26G) estéreis e descartáveis.

Foi obtido um volume de sangue de aproximadamente 0,3 mL, o que se refere a um volume inferior a 10% do volume total de sangue circulante ou 1% do peso corporal médio do trinca-ferro, não sendo prejudicial para as aves (CLARK; BOARDMAN; RAIDAL, 2009; THRALL et al., 2015).

O sangue foi acondicionado em microtubos do tipo eppendorf, contendo o anticoagulante heparina sódica para a realização de hemograma e técnica de Woo e, em microtubos do tipo eppendorf contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), os quais foram armazenados a -20°C até as análises de biologia molecular.

Para evitar que alterações hematológicas fossem confundidas com artefatos causados pelo anticoagulante heparina sódica e para garantir a preservação da morfologia celular, no

momento da coleta, uma gota de sangue diretamente da seringa foi utilizada para a confecção de esfregaços em superfície de lâminas de microscopia e secas ao ar (ALMOSNY, MONTEIRO, 2007; ALMOSNY, 2017).

Imediatamente após a coleta, foi realizada fluidoterapia por via subcutânea, a fim de restaurar o volume sanguíneo circulante, normalizar o débito cardíaco e também otimizar a oxigenação dos tecidos, além de manter a hidratação normal das aves (SANCHES; GODOY, 2017).

3.4 Análise Hematológica

Amostra de sangue que se apresentou coagulada ou intensamente hemolisada (3+) foi excluída do estudo.

O hematócrito (ou volume globular) foi realizado através da técnica do microhematócrito, utilizando-se tubo capilar em centrífuga específica a velocidade de 12.000 rpm por 5 minutos conforme Schmidt (2017). Após, foi realizada a técnica de Woo para pesquisa de microfilárias, colocando-se o tubo capilar em lâmina de vidro e visualizando a região acima da capa leucocitária em microscopia óptica (Eclipse E200/Nikon®) em aumento de 100x (CHAGAS et al., 2020).

A hemoglobinometria foi mensurada através do método de cianometemoglobina utilizando-se o reagente de Drabkin no analisador bioquímico semiautomático Bio-200/Bioplus® de acordo com as recomendações do fabricante. Os índices volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM) foram determinados através das fórmulas de Wintrobe (SCHMIDT, 2017).

A contagem total de hemácias, leucócitos e trombócitos foi realizada manualmente com o auxílio da câmara de Neubauer, realizando diluições com o corante e diluente Natt-Herrick (Imbralab®) na proporção de 1:100, sendo os três tipos celulares contados em uma única fase (ALMOSNY; MONTEIRO, 2007; ALMOSNY, 2017), utilizando o microscópio óptico (Eclipse E200/Nikon®) em aumento de 400x. As hemácias foram contadas em 5 quadrantes na diagonal e os trombócitos nos 25 quadrantes do retículo central. Os leucócitos foram contados nos 16 quadrantes dos 4 retículos laterais, e o total foi multiplicado pelos fatores de diluição 5000, 1000 e 250, respectivamente.

Os esfregaços sanguíneos foram corados com corante Rosenfeld e a avaliação foi realizada em microscopia óptica (Eclipse E200/Nikon®) iniciando em aumento de 100x, onde foi feita uma varredura das lâminas para pesquisa e quantificação de microfilárias, conforme preconizado por Hass et al. (2011). Em seguida, foi obtida a contagem diferencial de leucócitos a partir da contagem de 100 células e realizada a avaliação da morfologia celular e pesquisa de hemoparasitas em aumento de 1000x, com auxílio de óleo de imersão.

As proteínas plasmáticas totais (PPT) foram mensuradas em refratômetro manual (THRALL et al., 2015).

3.5 Análises Morfométricas e Morfológicas

A partir dos esfregaços sanguíneos positivos foram obtidas imagens digitais das microfilárias para caracterizações morfológicas e morfométricas com o auxílio do microscópio Olympus BX51 e software CellSens Standard. As mensurações das microfilárias (obtidas em micrometros (µm)) e os parâmetros morfométricos foram efetuadas conforme descrito por Hass et al. (2011), Ribeiro, Cury e Melo (2020), Binkiene et al. (2021) e Chagas, Binkiene e Valkiūnas (2021), sendo: Comprimento total do corpo (CTC), largura máxima do corpo (LMC), largura do espaço cefálico (LEC), comprimento do espaço cefálico (CEC), comprimento da

cauda (CC), largura da cauda (LC), distância da extremidade anterior até o anel nervoso (AN) e poro excretor (PE) e distância da extremidade posterior até o poro anal (PA).

Os parâmetros morfológicos foram realizados de acordo com Hass et al. (2011): Forma da extremidade anterior, cauda e bainha.

3.6 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

3.6.1 Extração de DNA

Uma alíquota de 10 µL de sangue total dos trinca-ferros foi submetida ao processo de extração de DNA total utilizando o Kit Relia PrepTM Blood gDNA Miniprep System (Promega[®]) de acordo com as recomendações do fabricante. Para monitoramento de DNA contaminante durante o processo de extração de DNA total foi utilizado como controle negativo água ultrapura esterilizada (UltraPureTM/Invitrogen[®]) em cada bateria de amostras processadas. Todas as amostras de DNA total tiveram suas concentrações determinadas pelo espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific[®]), separadas em alíquotas e armazenadas à -20°C até a realização dos ensaios moleculares.

3.6.2 Reações de amplificação

Após as extrações de DNA, as amostras foram submetidas a PCR para pesquisa do material genético das microfilárias. A PCR foi baseada nas sequências parciais dos genes mitocondrial citocromo c oxidase I (cox1) e nuclear 28S rDNA (28S), com amplificação de fragmentos de aproximadamente 650 pb e 750 pb, respectivamente (BINKIENE et al., 2021). A reação de amplificação de ambos genes foi realizada no termociclador (ProFlexTM 96-well PCR System/ThermoFisher[®]) com as seguintes especificações: volume final de 25 µL, contendo uma mistura de 2,0 µL de DNA, 0,4 mM de cada desoxinucleotídeo (Invitrogen[®]), 0,5 µM de cada oligonucleotídeo iniciador (Integrated DNA Technologies[®]), 4,0 mM de MgCl₂ (Platinum/Invitrogen[®]), 1 U de Taq DNA polimerase (Platinum/Invitrogen[®]), tampão PCR 1x (Platinum/Invitrogen[®]) e água ultra pura esterilizada (UltraPureTM/Invitrogen[®]). Os oligonucleotídeos iniciadores e as condições de termociclagem de cada reação estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Descrição dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados e das condições de termociclagem para as reações de PCR, utilizadas para detecção molecular de microfilárias baseadas nos genes *cox1* e *28S*.

Gene	Sequência do Oligonucleotídeo	Referência
Cox1	COIntF: 5'-TGATTGGTGGTTTTGGTAA-3'	Adaptado de: MERKEL et al., 2007; BINKIENE et al., 2021
	COIntR: 5'-ATAAGTACGAGTATCAATATC-3'	
Condições de termociclagem:	- 95°C por 2 minutos	
	- 8 ciclos: 95°C por 30 segundos, 51°C por 45 segundos (reduzido em 1°C a cada 2 ciclos), 72°C por 45 segundos	
	- 30 ciclos: 95°C por 30 segundos, 45°C por 45 segundos, 72°C por 45 segundos	
	- 72°C por 7 minutos	
28S	Nematoide 1: 5'-GCGGAGGAAAAGAACTAA-3'	Adaptado de: SEHGAL; JONES; SMITH, 2005; BINKIENE et al., 2021
	Nematoide 2: 5'-ATCCGTGTTTCAAGACGGG-3'	
Condições de termociclagem:	- 95°C por 3 minutos	
	- 40 ciclos: 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 45 segundos	
	- 72°C por 7 minutos	

3.6.3 Controles positivos e negativos dos ensaios moleculares

Foi utilizado como controle positivo sangue de um trinca-ferro sabidamente positivo em esfregaço sanguíneo. Água ultrapura livre de DNase e RNase (UltraPure™/Invitrogen®) foi utilizada como controle negativo das reações.

3.6.4 Eletroforese de DNA em gel de agarose

Após a amplificação, as amostras foram submetidas à eletroforese horizontal em gel de agarose a 1% (BINKIENE et al., 2021), a 75 volts, durante 45 minutos e coradas com brometo de etídio (Sigma-Aldrich®). Para a determinação dos produtos amplificados foi utilizado um marcador de peso molecular de acordo com o tamanho do produto esperado (100 pb DNA Ladder / Life Technologies®). Os resultados foram visualizados e analisados através do transiluminador de luz ultravioleta acoplado ao analisador de imagem (L-pixtouch da Loccus / Biotecnologia®), no qual as bandas observadas nas amostras foram comparadas ao peso molecular para confirmação da amplificação do fragmento esperado.

3.7 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do teste de normalidade de Lilliefors, utilizando os parâmetros hematológicos e peso corporal. Os dados que apresentaram distribuição normal (acima de $< 0,05$), foram analisados através da análise de variância (ANOVA) em nível de 5% de significância. Porém, quando não houve distribuição normal dos dados, estes foram analisados a partir do teste não paramétrico de Mann-Whitney em nível de 5% de significância. Para a comparação morfométrica entre as microfilárias, foi utilizado o teste de Tukey em 5% de significância.

Para comparação dos resultados de microscopia entre o esfregaço sanguíneo e a PCR, alterações hematológicas e sinais clínicos dos animais positivos e negativos foi utilizado o teste Qui-Quadrado ou Exato de Fisher em 5% de significância. O programa BioEstat 5.3 foi utilizado para realização de todas as análises estatísticas.

4 RESULTADOS

4.1 Esfregaços Sanguíneos

Dentre os 81 trinca-ferros amostrados no presente estudo, 23 (28,4%) apresentaram microfilárias no esfregaço sanguíneo (Figuras 2 e 3). A partir da varredura de toda a lâmina e quantificação, foi possível observar uma variação de 2 a 605 microfilárias por lâmina, sendo classificadas 78,3% (18/23) em alta intensidade, 8,7% (2/23) em média intensidade e 13,0% (3/23) em baixa intensidade. Não foi observado outro hemoparasita em nenhuma das aves amostradas no presente estudo. A relação dos trinca-ferros positivos no esfregaço sanguíneo, a quantificação das microfilárias e a intensidade da infecção estão dispostas na Tabela 2:

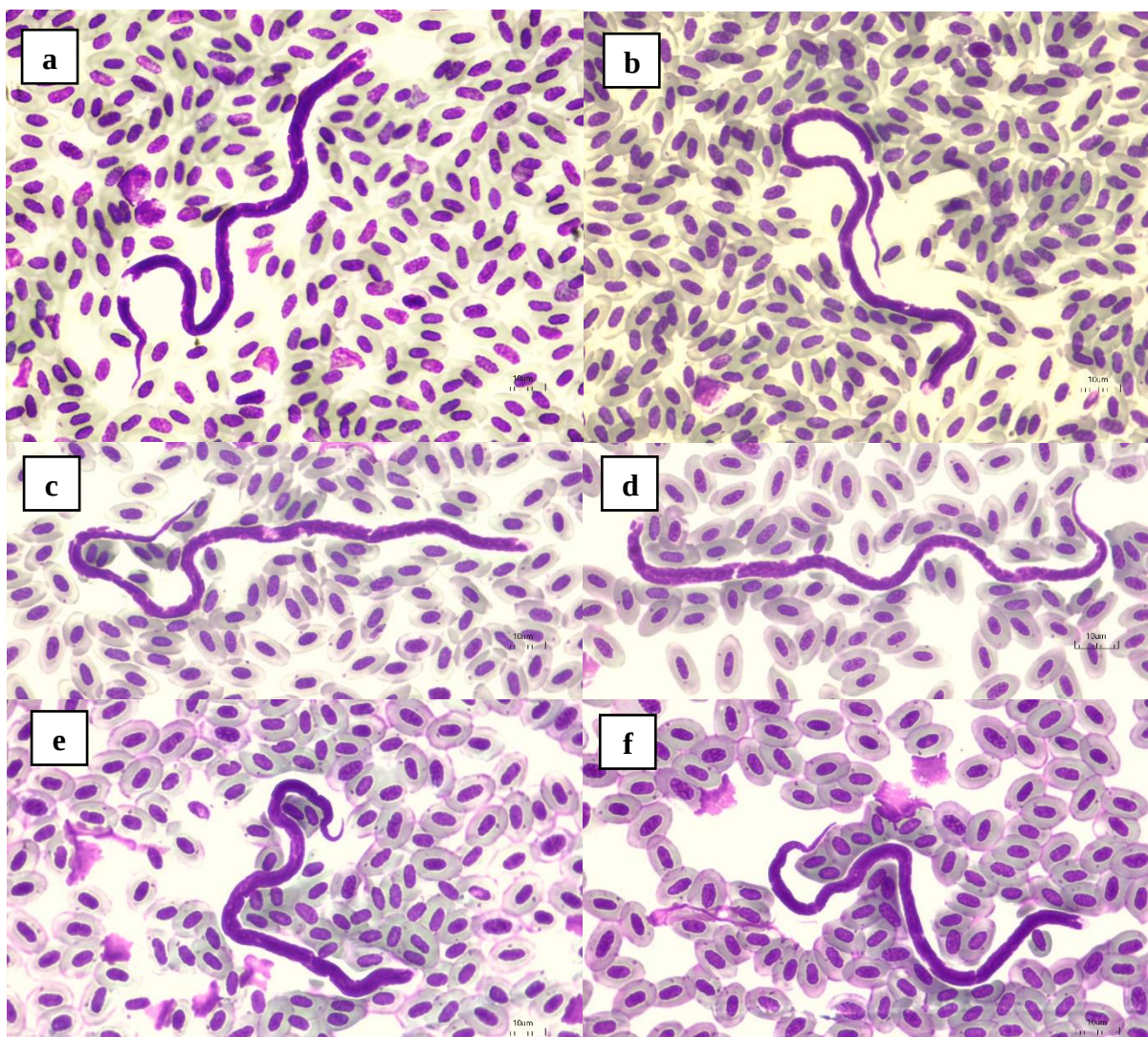


Figura 2: Microfilárias no esfregaço sanguíneo de trinca-ferro, coloração de Rosenfeld, aumento de 1000x.

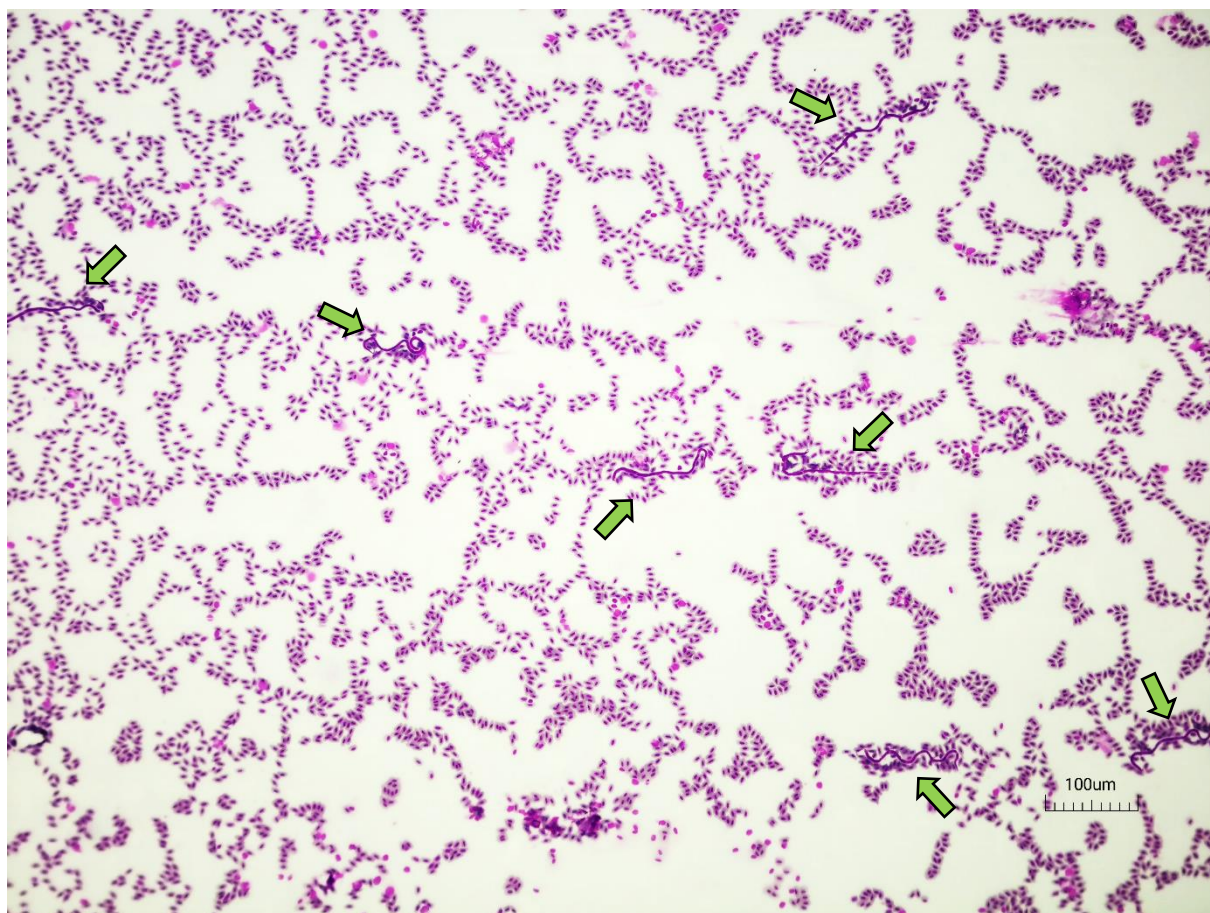


Figura 3: Microfilárias no esfregaço sanguíneo de trinca-ferro (setas), coloração de Rosenfeld, aumento de 100x.

Tabela 2: Trinca-ferros (*S. similis*) mantidos sob cuidados humanos no Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), Seropédica, positivos no esfregaço sanguíneo (n=23), quantificação de microfilárias e intensidade da infecção por lâmina. (continua)

Animal	Nº de Microfilárias /lâmina	Intensidade (Hass et al., 2011)
6	605	Alta
9	197	Alta
17	53	Alta
18	63	Alta
25	266	Alta
27	2	Baixa
29	56	Alta
30	38	Alta
32	76	Alta
39	228	Alta
49	43	Alta
54	79	Alta
55	70	Alta
56	26	Alta
58	70	Alta

Tabela 2: Continuação.

62	2	Baixa
64	11	Média
83	46	Alta
84	30	Alta
89	260	Alta
93	15	Média
96	64	Alta
103	5	Baixa

4.2 Técnica de Woo

Pela técnica de Woo evidenciou-se 23,5% (19/81) de amostras positivas, sendo todas positivas também no esfregaço sanguíneo.

4.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Dentre os 81 trinca-ferros amostrados no estudo, 45,7% (n=37) apresentaram resultado positivo na PCR (Figura 4). A frequência de positividade observada somente na PCR foi de 30,9% (25/81), sendo superior a observada apenas em esfregaço sanguíneo (13,6%; 11/81). E 14,8% (12/81) das aves demonstraram positividade tanto na PCR quanto no esfregaço sanguíneo. O total de aves positivas em pelo menos um dos métodos foi de 53,0% (48/81).

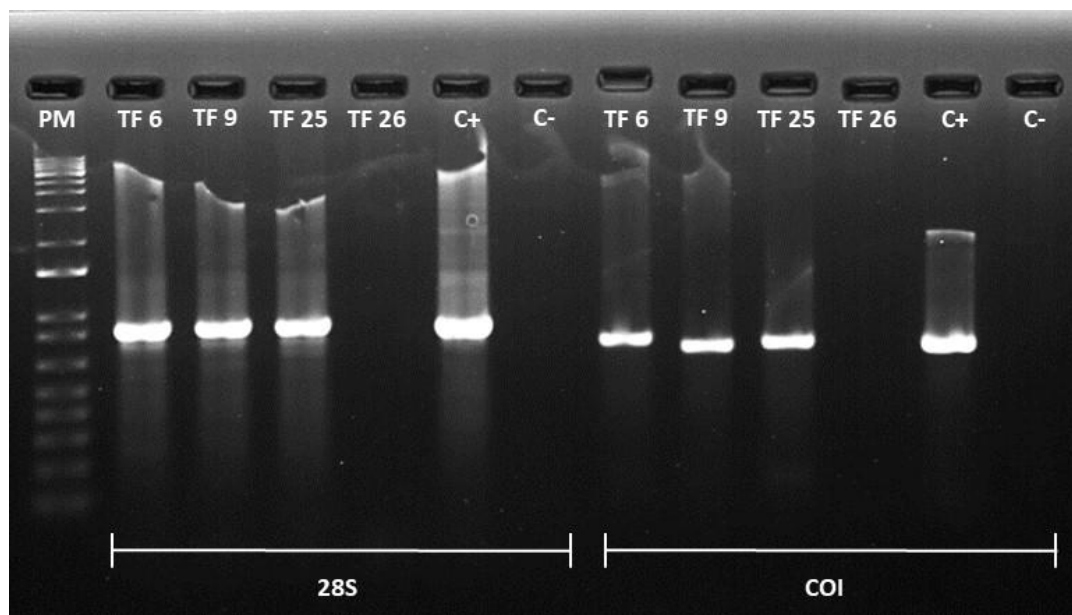


Figura 4: Fotografia de eletroforese em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio. PM: peso molecular em escala de 100 pares de bases (Invitrogen®). C+: controle positivo. C-: controle negativo. TF: trinca-ferros testados, sendo TF 6, TF 9 e TF 25 positivos em ambos os genes, 28S e COI, e TF 26 negativo.

4.4 Análises Morfométricas e Morfológicas

A partir de fotos obtidas dos esfregaços sanguíneos, foi possível realizar a análise descritiva da morfometria (Tabela 3) e morfologia (Figuras 5 e 6) das microfilárias. Observou-se diferença significativa na média do comprimento total do corpo e comprimento do espaço cefálico das microfilárias encontradas no trinca-ferro número 96 quando comparado com os demais. Já nas médias da distância da extremidade anterior até o anel nervoso e poro anal, notou-se diferença significativa entre as microfilárias do trinca-ferro 96 com as amostras números 17, 25 e 89. No comprimento da cauda houve diferença significativa entre as microfilárias do trinca-ferro 96 com os números 25 e 89. Na distância da extremidade anterior até o poro excretor evidenciou-se diferença significativa entre as microfilárias do trinca-ferro 96 com os trinca-ferros 6 e 17. E largura da cauda houve diferença significativa apenas entre as microfilárias do trinca-ferro 96 e a amostra 6. A largura máxima do corpo e largura do espaço cefálico não diferiram entre si a 5% de significância. Vale ressaltar que as microfilárias encontradas no trinca-ferro 96 foram as únicas que possuíram diferenças significativas com as demais microfilárias, e possuem medidas menores em quase todos os aspectos, com exceção da largura máxima do corpo que não difere dos demais e a largura da cauda que é maior do que as demais microfilárias.

Tabela 3: Valores médios dos parâmetros morfométricos de microfilárias encontradas nos esfregaços sanguíneos de trinca-ferros (*S. similis*) (n=5). (continua)

Parâmetros Morfométricos	Animal	Média	Valores Limite	
			Mínimo	Máximo
Comprimento Total do Corpo (µm)	6	147,80 ^a	144,87	151,47
	17	135,03 ^a	126,78	154,21
	25	140,04 ^a	129,23	153,59
	89	135,28 ^a	123,68	149,82
	96	62,32 ^b	50,35	67,65
Largura Máxima do Corpo (µm)	6	3,61 ^a	3,22	4,12
	17	3,65 ^a	3,45	3,98
	25	3,35 ^a	3,16	3,61
	89	3,56 ^a	3,38	3,77
	96	3,46 ^a	3,27	3,82
Largura do Espaço Cefálico (µm)	6	2,63 ^a	2,25	2,83
	17	2,69 ^a	2,46	2,91
	25	2,54 ^a	2,26	2,86
	89	2,74 ^a	2,40	3,32
	96	2,28 ^a	2,04	2,50
Comprimento do Espaço Cefálico (µm)	6	3,24 ^a	2,04	4,01
	17	3,67 ^a	3,16	4,66
	25	2,80 ^a	2,65	3,09
	89	3,17 ^a	2,37	3,54
	96	1,51 ^b	0,98	1,82
Comprimento da Cauda (µm)	6	14,48 ^a	12,11	16,58
	17	15,34 ^a	14,63	17,12
	25	18,47 ^{ab}	16,01	21,53
	89	17,12 ^{ac}	15,14	19,27
	96	11,76 ^{ab/ac}	9,44	12,81

Tabela 3: Continuação.

Largura da Cauda (μm)		6	1,57 ^{ab}	1,29	1,98
		17	2,40 ^a	1,78	2,95
		25	1,96 ^a	1,44	2,25
		89	1,99 ^a	1,89	2,13
		96	2,57 ^{ab}	2,12	3,37
Distância da Extremidade Anterior até	Anel Nervoso (μm)	6	30,20 ^a	24,58	35,41
		17	33,48 ^{ab}	30,23	38,05
		25	32,85 ^{ac}	30,79	34,68
		89	33,55 ^{ad}	26,67	38,23
		96	22,62 ^{ab/ac/ad}	17,82	25,40
	Poro Excretor (μm)	6	50,62 ^{ab}	47,67	55,65
		17	51,28 ^{ac}	44,38	65,03
		25	44,90 ^a	41,45	49,78
		89	46,68 ^a	39,33	50,95
		96	37,40 ^{ab/ac}	30,83	41,40
Distância da Extremidade Posterior até	Poro Anal (μm)	6	20,23 ^a	12,01	26,63
		17	27,80 ^{ab}	25,30	33,99
		25	23,95 ^{ac}	20,76	27,30
		89	23,18 ^{ad}	21,08	25,28
		96	12,37 ^{ab/ac/ad}	9,91	13,52

^a Valores seguidos de mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente através do teste de Tukey a 5% de significância ($p < 0,05$). ^{ab, ac, ad} Valores seguidos de duas letras distintas, na mesma coluna, diferem significativamente entre si através do teste de Tukey a 5% de significância ($p < 0,05$).

Os aspectos morfológicos das microfilárias foram semelhantes, com exceção do trincaferro 96 (Figura 10), que se apresentaram curtas, robustas, sem bainhas e, geralmente estendidas ou encurvadas. A extremidade anterior (EA) é arredondada com espaço cefálico (EC) curto e pálido. A largura máxima foi observada ora acima do anel nervoso, ora acima do poro excretor. A localização do anel nervoso (AN) foi indicada a partir de uma abertura lateral curta e pálida, próxima à extremidade anterior, assim como o poro excretor (PE), porém identificado como uma abertura maior e de fácil visualização na região medial do corpo. Já o poro anal (PA) foi semelhante ao poro excretor, porém localizado próximo a extremidade posterior (EP), e logo após ao PA é o local onde foi delimitada a base da cauda (BC) por ser a região onde há o início do afunilamento do corpo, terminando com a cauda cônica e afilada. Todo o corpo apresentou-se homogêneo tanto em coloração quanto em formato.

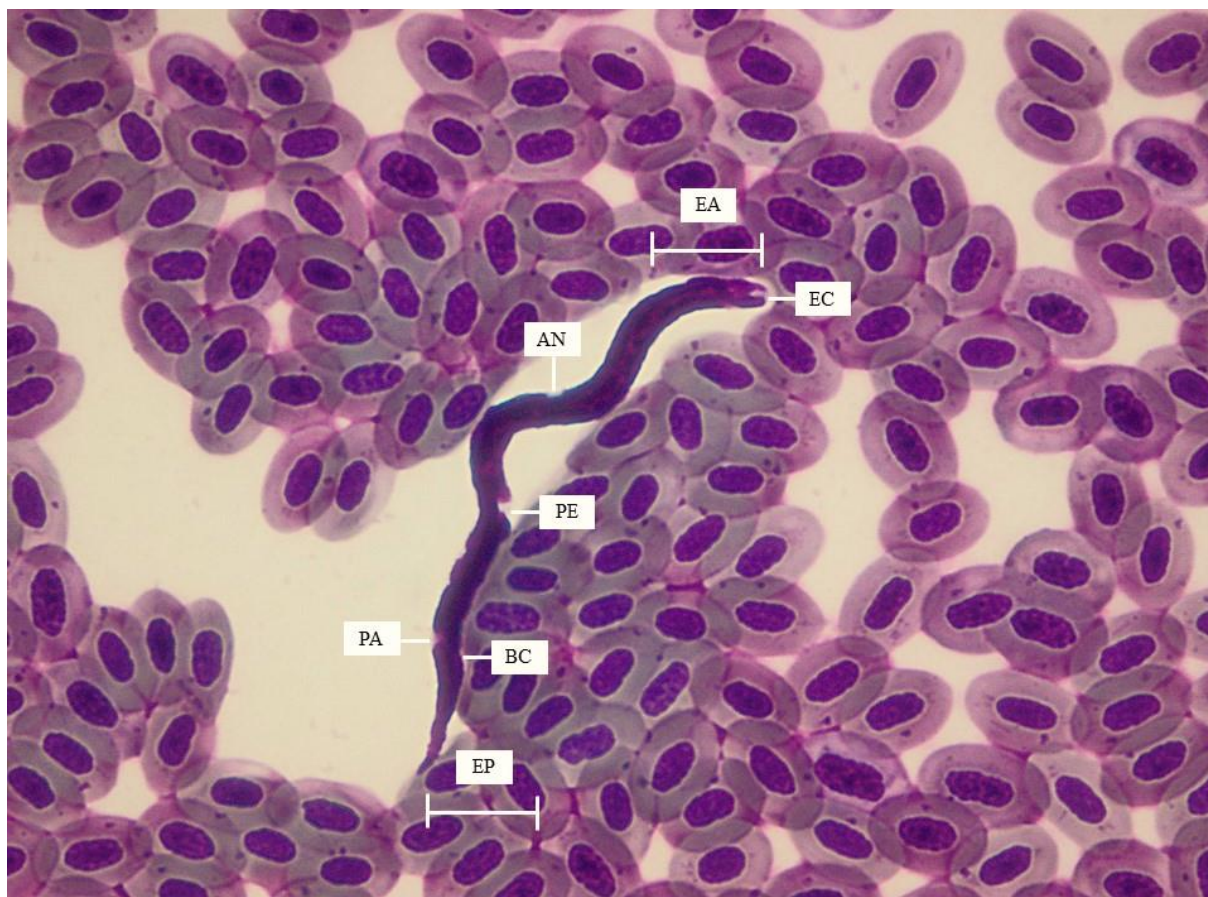


Figura 5: Aspectos morfológicos das microfilárias observadas no trinca-ferro (*S. similis*) número 96. EA: extremidade anterior; EC: espaço cefálico; AN: anel nervoso; PE: poro excretor; PA: poro anal; BC: base da cauda; EP: extremidade posterior.

Já nos demais trinca-ferros os aspectos morfológicos das microfilárias (Figura 11) foram semelhantes. Apresentaram-se alongadas, sem bainhas, na maioria das vezes onduladas e poucas vezes estendidas, encurvadas ou enoveladas. A EA é arredondada com EC curto, porém de maior tamanho quando comparado às microfilárias do trinca-ferro 96. A largura máxima foi observada ora acima do poro excretor, ora abaixo. A localização do AN foi indicada a partir de um breve rompimento no sistema celular das microfilárias proximal à extremidade anterior, nem sempre de fácil identificação, porém visível em todos os espécimes. O PE foi identificado como uma abertura lateral curta e pálida, na região medial do corpo, de fácil observação. Já o PA foi semelhante ao PE, porém localizado próximo a EP e mais afastado da BC quando comparado os espécimes observados no trinca-ferro 96. A BC foi delimitada a partir da região onde há o início do afunilamento do corpo, terminando com a cauda pontiaguda. Todo o corpo apresentou-se homogêneo tanto em coloração quanto em formato.

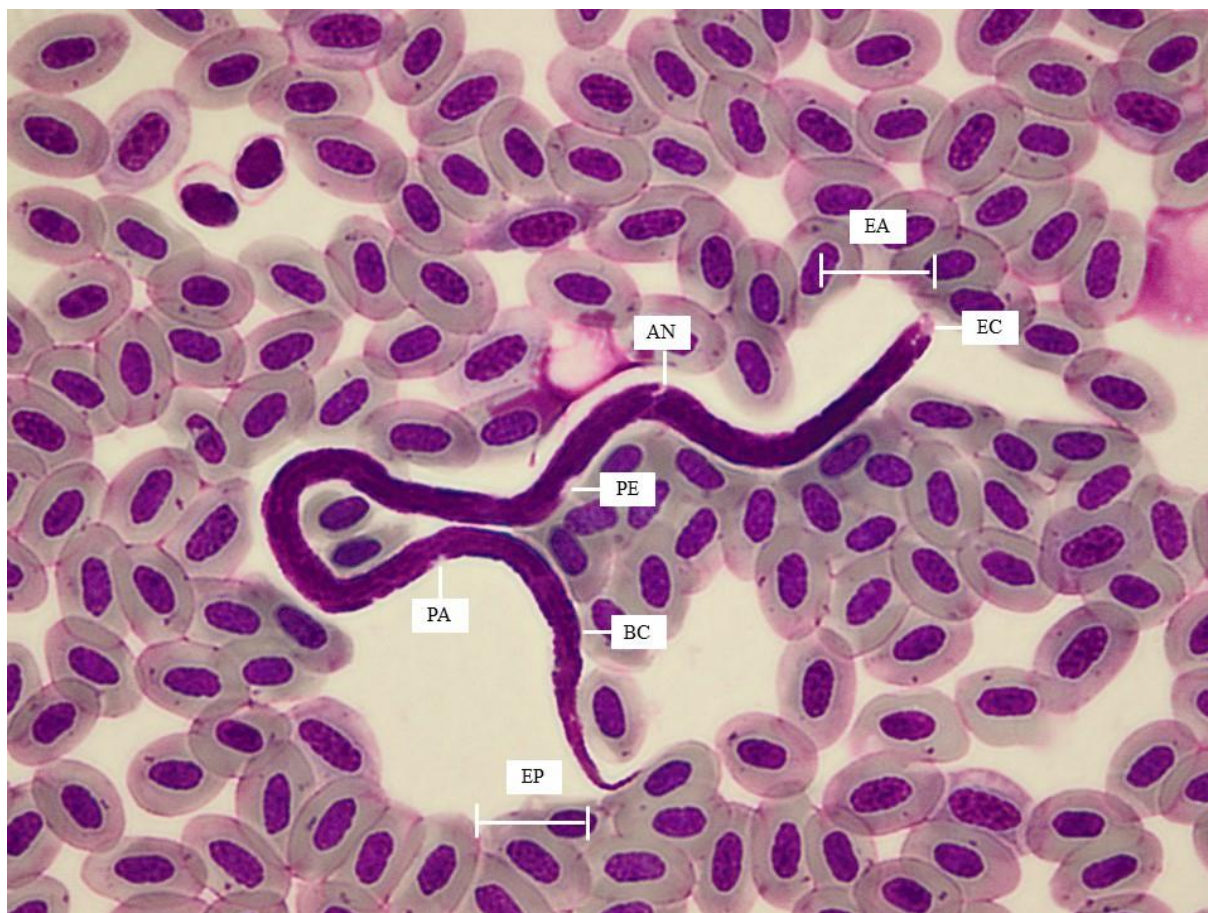


Figura 6: Aspectos morfológicos das microfilárias encontradas nos trinca-ferros (*S. similis*) 6, 17, 25 e 89. EA: extremidade anterior; EC: espaço cefálico; AN: anel nervoso; PE: poro excretor; PA: poro anal; BC: base da cauda; EP: extremidade posterior.

4.5 Análise Hematológica

Dos 48 trinca-ferros positivos para microfilárias, foram realizadas as análises hematológicas de 39 indivíduos, assim como dos 33 trinca-ferros negativos, foram realizadas as análises hematológicas de 25 indivíduos.

Os parâmetros médios do hemograma completo, incluindo eritrograma, leucograma, trombograma e proteína plasmática total dos trinca-ferros positivos para microfilária em pelo menos uma das técnicas está apresentada na Tabela 4. Houve diferença significativa na média de hemácias, em que os animais positivos apresentaram média inferior à dos negativos, estando abaixo da referência hematológica para a espécie. Os demais parâmetros não diferiram entre si a 5% de significância.

Tabela 4: Valores médios dos parâmetros relacionados ao eritrograma, leucograma, trombograma e proteína plasmática total de trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilária em pelo menos um método diagnóstico (esfregaço sanguíneo, técnica de Woo e PCR).

Parâmetros	Resultado	N	Média	DP	EP	Valores limite		Valores de Referência*
						Mínimo	Máximo	
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	Positivo	39	3,10 ^a	1,00	0,16	1,11	6,22	3,41 – 5,53
	Negativo	25	3,67 ^b	1,03	0,21	2,44	6,49	
Hemoglobina (g/dL)	Positivo	29	16,40 ^a	2,42	0,45	10,30	20,40	15,3
	Negativo	24	16,60 ^a	2,66	0,54	11,80	22,20	
Hematócrito (%)	Positivo	39	43,15 ^a	8,38	1,34	25,00	60,00	37,2 – 62,4
	Negativo	25	46,16 ^a	6,14	1,23	37,00	59,00	
VGM (fL)	Positivo	39	151,22 ^a	52,36	8,38	79,50	351,40	56,8 – 159,2
	Negativo	25	131,68 ^a	27,84	5,57	82,90	185,10	
CHGM (g/dL)	Positivo	29	36,32 ^a	5,69	1,06	29,20	57,90	34,8
	Negativo	24	36,19 ^a	3,81	0,78	31,00	46,80	
Leucócitos (/μL)	Positivo	39	12330,8 ^a	8540,77	1367,62	2300	32300	3092 – 18628
	Negativo	25	10244,0 ^a	5966,37	1193,27	1300	24500	
Bastões (/μL)	Positivo	39	105,48 ^a	272,56	43,64	0	1615	-
	Negativo	25	28,40 ^a	88,42	17,68	0	366	
Heterófilos (/μL)	Positivo	39	6971,59 ^a	5975,38	956,83	920	29260	1575 – 5581
	Negativo	25	5470,40 ^a	3739,92	747,98	120	11529	
Linfócitos (/μL)	Positivo	39	4244,38 ^a	3877,17	620,84	840	20400	1759 – 8829
	Negativo	25	3724,60 ^a	2620,34	524,07	540	11515	
Monócitos (/μL)	Positivo	39	746,62 ^a	717,63	114,91	58	2805	1993 – 4375
	Negativo	25	826,20 ^a	706,55	141,31	0	2745	
Eosinófilos (/μL)	Positivo	39	121,15 ^a	147,06	23,55	0	675	439 – 1081
	Negativo	25	154,96 ^a	185,31	37,06	0	715	
Basófilos (/μL)	Positivo	39	102,18 ^a	305,05	48,85	0	1470	104 – 3912
	Negativo	25	39,44 ^a	105,61	21,12	0	344	
H:L	Positivo	39	2,68 ^a	4,98	0,80	0,4	31,7	-
	Negativo	25	2,13 ^a	2,92	0,58	0,1	14,2	
Trombócitos (/μL)	Positivo	39	1000,00 ^a	9544,91	1528,41	1000	46000	-
	Negativo	25	6880,00 ^a	5622,28	1124,46	1000	20000	
PPT (g/dL)	Positivo	35	5,84 ^a	1,72	0,29	3,0	8,8	2,5 – 4,5 **
	Negativo	23	6,39 ^a	1,26	0,26	4,0	9,0	

^a Valores seguidos de mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente através do teste de Mann-Whitney a 5% de significância (p<0,05). VGM: volume globular médio; CHGM: concentração de hemoglobina globular média; H:L: relação heterófilo:linfócito; PPT: proteína plasmática total; N: número de trinca-ferros; DP: desvio padrão; EP: erro padrão. *Valores de referência de saíra-de-bando (*Turquoise tanager*) (Passeriformes: Thraupidae), segundo ISIS (Internacional Species Information System) (2002). **Valor de referência de Aves, segundo Thrall et al., 2022.

Dos 48 trinca-ferros positivos para microfilária em pelo menos um método empregado no presente estudo, a análise hematológica foi realizada em 39, onde foi possível observar algumas alterações, e as mais frequentes observadas foram: anemia (31/39; 79,5%), hiperproteinemia (26/39; 66,7%) e heterofilia (20/39; 51,3%). A Tabela 5 demonstra a associação dos resultados obtidos a partir do esfregaço sanguíneo e PCR com as alterações hematológicas nas amostras positivas para microfilárias. É importante salientar que os animais negativos também apresentaram alterações hematológicas no hemograma completo (Tabelas 3 e 4), onde as mais frequentes observadas foram: hiperproteinemia (21/25; 84,0%), heterofilia (14/25; 56,0%) e anemia (13/25; 52,0%). Ambos os grupos apresentaram anemia normocítica e normocrômica.

Tabela 5: Associação entre os resultados obtidos a partir do esfregaço sanguíneo e PCR e alterações hematológicas nas amostras positivas para microfilárias obtidas de trinca-ferros (*S. similis*).

Testes		Esfregaço Sanguíneo		PCR		Esfregaço Sanguíneo e PCR	
		Positivos	Negativos	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
Parâmetros hematológicos	N	20	44	31	33	39	25
Anemia		16 (80,0%)	28 (63,6%)	25 (80,6%)	19 (57,6%)	31 (79,5%)	13 (52,0%)
Policitemia		0 (0,0%)	3 (6,8%)	1 (3,2%)	2 (6,1%)	1 (2,6%)	2 (8,0%)
Leucocitose		2 (10,0%)	7 (15,9%)	8 (25,8%)	1 (3,0%)	8 (20,5%)	1 (4,0%)
Leucopenia		0 (0,0%)	5 (11,4%)	1 (3,2%)	4 (12,1%)	1 (2,6%)	4 (16,0%)
Heterofilia		7 (35,0%)	27 (61,4%)	20 (64,5%)	14 (42,4%)	20 (51,3%)	14 (56,0%)
Heteropenia		2 (10,0%)	7 (15,9%)	1 (3,2%)	8 (24,2%)	3 (7,7%)	6 (24,0%)
Desvio a Esquerda		4 (20,0%)	7 (15,9%)	8 (25,8%)	3 (9,1%)	9 (23,1%)	2 (8,0%)
Linfocitose		1 (5,0%)	4 (9,1%)	4 (12,9%)	1 (3,0%)	4 (10,3%)	1 (4,0%)
Linfopenia		4 (20,0%)	12 (27,3%)	7 (22,6%)	9 (23,3%)	9 (23,1%)	7 (28,0%)
Hiperproteinemia		15 (75,0%)	32 (72,7%)	21 (67,7%)	26 (78,8%)	26 (66,7%)	21 (84,0%)

N: número de trinca-ferros; PCR: reação em cadeia da polimerase.

4.6 Exame Físico

Os 48 trinca-ferros positivos para microfilária em pelo menos um método empregado no presente estudo, foram pesados previamente à avaliação física, onde foi possível observar que 75,0% (n=36) dos animais positivos não apresentaram alteração no peso corporal. A Tabela 6 demonstra a associação dos resultados obtidos a partir do esfregaço sanguíneo e PCR com o peso corporal dos trinca-ferros positivos para microfilárias. Os parâmetros não diferiram entre si a 5% de significância. É importante salientar que os animais negativos também apresentaram alterações no peso corporal, porém, 81,8% (27/33) estavam dentro da referência para a espécie (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6: Valores médios relacionados ao peso corporal de trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilária em pelo menos um método diagnóstico.

Parâmetros	Resultado	N	Média	DP	EP	Valores limites		Valor de Referência*
						Mínimo	Máximo	
Peso corporal (g)	Positivo	48	43,90 ^a	5,64	0,81	29	52	38 – 49
	Negativo	33	45,30 ^a	3,94	0,69	36	55	

^a Valores seguidos de mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente através do teste de Mann-Whitney a 5% de significância ($p < 0,05$). N: número de trinca-ferros; DP: desvio padrão; EP: erro padrão; g: gramas. * Valor de referência segundo Vasconcelos; Ziade, 2020.

Tabela 7: Associação entre os resultados obtidos a partir do esfregaço sanguíneo e PCR e peso corporal nas amostras positivas para microfilárias obtidas de trinca-ferros (*S. similis*).

Testes		Esfregaço Sanguíneo		PCR		Esfregaço Sanguíneo e PCR	
		Positivos	Negativos	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
Peso Corporal (g)	N	23	58	37	44	48	33
Normal		17	46	26	37	36	27
		(73,9%)	(79,3%)	(70,3%)	(84,1%)	(75,0%)	(81,8%)
Acima		5	6	4	7	6	5
		(21,7%)	(10,4%)	(10,8%)	(15,9%)	(12,5%)	(15,2%)
Abaixo		1	6	6	1	6	1
		(4,4%)	(10,4%)	(16,2%)	(2,3%)	(12,5%)	(3,0%)

N: número de trinca-ferros; g: gramas.

Durante o exame físico, foi possível observar algumas alterações clínicas, e as mais frequentes observadas foram: escoriação em face (6/48; 12,5%) e presença de piolhos (4/48; 8,3%). A Tabela 8 demonstra a associação dos resultados obtidos a partir do esfregaço sanguíneo e PCR com as alterações clínicas nas amostras positivas para microfilárias. É importante salientar que os animais negativos também apresentaram alterações clínicas, sendo a mais frequente escoriações em volta do bico (2/33; 6,1%) e placas brancas na cavidade oral/coana (2/33; 6,1%) (Tabela 7).

Tabela 8: Alterações clínicas dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias em esfregaço sanguíneo e PCR (n=48).

Alterações Clínicas	Positivos (n=48)	Negativos (n=33)
Escoriação em face	6 (12,5%)	0 (0,0%)
Escoriação em volta do bico	2 (4,2%)	2 (6,1%)
Escoriação no bico	1 (2,1%)	1 (3,0%)
Descamação de bico	1 (2,1%)	1 (3,0%)
Placas brancas na cavidade oral/coana	2 (4,2%)	2 (6,1%)
Placas brancas próximas à comissura do bico	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Mucosa oral hiperêmica	0 (0,0%)	1 (3,0%)
Ausência de penas na cabeça	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Ausência de penas no pescoço	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Ausência de penas na asa esquerda	0 (0,0%)	1 (3,0%)

Tabela 8: Continuação.

Ausência de penas na cauda	3 (6,3%)	1 (3,0%)
Empenamento deficiente	3 (6,3%)	0 (0,0%)
Esforço respiratório	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Hérnia abdominal	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Lesão em peito	3 (3,3%)	0 (0,0%)
Hematoma no peito	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Lesão em membro inferior direito	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Lesão em membro inferior esquerdo	0 (0,0%)	1 (3,0%)
Lesão de apoio em tarso bilateral	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Formação de calo no tarso	1 (2,1%)	1 (3,0%)
Hiperqueratose nos pés	1 (2,1%)	0 (3,0%)
Pododermatite	1 (2,1%)	1 (3,0%)
Fezes aderidas em penas pericloacal	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Diarreia	1 (2,1%)	0 (0,0%)
Presença de piolhos	4 (8,3%)	1 (3,0%)

4.7 Periodicidade e Condições Climáticas

A obtenção das amostras ocorreu em diversos períodos do ano, sempre no período da manhã, entre 9h e 12h, durante todas as estações climáticas. A estação onde houve o maior número de animais positivos foi no verão (n=13/14; 92,9%), seguido do outono (n=15/23; 65,2%). Na Tabela 9 as amostras foram divididas entre as estações do ano e seus respectivos valores médios de temperatura mínima e máxima.

Tabela 9: Amostras dos trinca-ferros (*S. similis*) distribuídos de acordo com a estação do ano e seus respectivos valores médios de temperatura mínima e máxima.

Estação do Ano	N	Positivo	Negativo	Temperatura (°C) *		
				Mínima	Máxima	Média
Verão	14	13 (92,9%)	1 (7,1%)	23,5	38,5	31,0
Outono	23	15 (65,2%)	8 (34,8%)	18,2	29,0	23,6
Primavera	35	15 (42,9%)	20 (57,1%)	20,0	27,3	23,7
Inverno	9	5 (55,6%)	4 (44,4%)	18,6	20,9	19,8

N: número de trinca-ferros. *Dados de temperatura da estação Seropédica – Ecologia Agrícola, segundo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos).

5 DISCUSSÃO

A ocorrência de filarídeos em aves silvestres e de interesse comercial tem despertado cada vez mais interesse de muitos pesquisadores em diferentes regiões do mundo, visando entender a parasitologia ecológica, a conservação e manejo de espécies de vertebrados (BRUM et al., 2016). Os resultados do presente estudo revelaram a ocorrência de microfilárias em *S. similis* oriundos de apreensão do tráfico ou criação ilegal e mantidos sob cuidados humanos no CETAS usando métodos morfológicos e moleculares.

No presente estudo obteve-se uma frequência de 28,4% (23/81) de positividade para microfilárias no esfregaço sanguíneo. No entanto, geralmente se observa uma menor frequência de positividade neste método de diagnóstico uma vez que é considerado pouco sensível quando comparado a outros métodos, sendo capaz de detectar infecções quando há altos níveis de parasitemia ou durante infecções crônicas leves (CHAGAS et al., 2020). Tal o fato, que Sehgal, Jones e Smith (2005) e Hass et al. (2011) obtiveram uma frequência de 3,6% em aves da floresta tropical africana e 1,26% em passeriformes, respectivamente. A baixa detecção de microfilárias no esfregaço sanguíneo pode ocorrer devido a periodicidade do parasita, pois algumas espécies possuem seu pico de microfilaremia no sangue periférico apenas no período noturno (DREYER et al., 1996; RIBEIRO; CURY; MELO, 2020) e, geralmente, as coletas das amostras são realizadas no período diurno, podendo acarretar em desvantagem para este método de diagnóstico. Ainda assim, é digno de nota, que a microscopia direta é uma técnica simples, de baixo custo, amplamente disponível na rotina e de fácil obtenção em coletas à campo, podendo auxiliar no diagnóstico das microfilárias em aves. Ademais, é uma técnica que possibilita categorizar a intensidade da infecção a partir da quantificação das microfilárias, assim como realizado por Hass et al. (2011), sendo uma vantagem quando comparado a outros métodos de diagnóstico que apenas definem se o animal é positivo ou negativo. Entretanto, o esfregaço sanguíneo pode não ser capaz de refletir o real nível da frequência e intensidade de infecção, sendo necessário a associação de outras técnicas de diagnóstico.

A partir da quantificação das microfilárias neste estudo, foi possível observar que 78,3% (18/23) dos trinca-ferros positivos apresentavam infecção de alta intensidade, percentual bastante distinto do relatado por Hass et al. (2011) e Ribeiro, Cury e Melo (2020) onde observaram 14,3% em passeriformes e 14,2% em soldadinho (*Antilophia galeata*), respectivamente. E, somente 13,0% dos animais (3/23) apresentaram baixa intensidade de infecção, apresentando de duas a cinco microfilárias por esfregaço sanguíneo. Tal diferença pode estar associada a ocorrência irregular das microfilárias na corrente sanguínea, podendo não refletir a real intensidade de infecção das aves (RIBEIRO; CURY; MELO, 2020). Além disso, a quebra da relação parasito-hospedeiro, diferenças de biomas, condições climáticas, estresse, presença de hospedeiros intermediários e predisposição da espécie e/ou indivíduo podem também justificar as diferenças de infestação observada no presente estudo e demais autores.

A técnica de Woo foi utilizada no presente estudo em associação ao esfregaço sanguíneo por também ser um método simples, de baixo custo, e que promove a concentração parasitológica, elevando assim, a sensibilidade diagnóstica. Dentre os animais positivos em esfregaço sanguíneo, 17,4% (4/23) foram negativos neste método. Atawal, Mgbeahuruike e Hammers (2019) observaram prevalência de 57% em tecelão-malhado (*Ploceus cucullatus*) a partir da associação da técnica de Woo e esfregaço sanguíneo, porém não descreveram a positividade encontrada nos métodos separadamente, não sendo possível, portanto, realizar uma análise comparativa com os resultados do presente estudo. No entanto, evidenciou-se que o esfregaço sanguíneo obteve maior sensibilidade quando comparado à técnica de Woo, apesar desta técnica ser considerada de maior sensibilidade para detecção de microfilárias no sangue

circulante (CHAGAS et al., 2020). Tais resultados podem estar associado à velocidade do processamento das amostras, pois devem ser examinadas ao microscópio imediatamente após a centrifugação devido a movimentação ativa dos parasitas, que podem se fundir na camada de eritrócitos ou se moverem pelo plasma, levando a possíveis resultados negativos (BAILEY; SMITH, 1994).

Na PCR é possível detectar o DNA do parasito presente no sangue da ave hospedeira, podendo, inclusive, identificar a espécie do filarídeo, assim como descrito por Binkiene et al., (2021). A PCR realizada no presente estudo demonstrou 45,7% (n=37/81) de amostras positivas, sendo 30,9% (n=25/81) positivas apenas na PCR, demonstrando maior sensibilidade e especificidade quando comparado ao esfregaço sanguíneo e técnica de Woo. Apesar disso, a identificação molecular do filarídeo a nível de espécie pode se tornar um desafio devido a ausência de sequências de nucleotídeos em bancos de dados públicos, como relatado por Huang et al. (2017) e Sekiguchi et al. (2018). Nesse contexto, a associação da PCR aos métodos de identificação morfológica e morfométrica são fundamentais para a identificação da espécie de microfilária. Tal o fato, que a identificação recente da espécie *Splendidofilaria mavis* em melro-preto (*Turdus merula*) e tordo-comum (*Turdus philomelos*) só foi possível utilizando a combinação de métodos moleculares e morfológicos (CHAGAS; BINKIENE; VALKIŪNAS, 2021).

Além dos métodos de diagnósticos citados acima, para uma completa descrição das microfilárias, são necessárias as descrições morfológicas e morfométricas, como realizado por Hass et al. (2011), Ribeiro, Cury e Melo (2020) e Chagas, Binkiene e Valkiūnas (2021). No presente estudo, a partir deste método de diagnóstico, não foi possível determinar o gênero e espécie das microfilárias, porém foi perceptível a descrição de duas espécies distintas, pois as microfilárias encontradas no trinca-ferro 96 possuem medidas visíveis e diferença estatística significativa que as diferem dos demais. Ademais, sua morfologia se assemelha à microfilária *Paronchocerca ciconarum* mencionada por Echols, Craig e Speer (2000), porém sua descrição morfológica e morfométrica não foi realizada, havendo apenas uma fotomicrografia do espécime que se assemelha ao do presente estudo.

Foi estabelecido para o presente estudo que as coletas sanguíneas fossem realizadas no período diurno, entre 9h e 12h. Neste período do dia foi possível observar a positividade em 28,4% (23/81) dos esfregaços sanguíneos, com a quantificação das microfilárias variando de 2 a 605 por lâmina. Estudos afirmam que para obter uma real quantificação das microfilárias é necessário que as coletas ocorram em período noturno devido ao pico da microfilaremia, assim como realizado por Chagas, Binkiene e Valkiūnas (2021), onde o pico da parasitemia em um melro-preto (*Turdus merula*) e um tordo-comum (*Turdus philomelos*) infectados com *Splendidofilaria mavis* ocorreu a partir do fim do dia às 18 horas, e se manteve alta à meia-noite. Tal justificativa baseia-se na especulação do fato de que as microfilárias se adequem aos hábitos de hematofagia do hospedeiro intermediário sendo, geralmente, de hábito noturno, garantindo assim a perpetuação da espécie (DREYER; DREYER, 2001). Devido a isto, a coleta realizada no período diurno do presente estudo pode ter subestimado a real intensidade da infecção em alguns animais amostrados e, inclusive, mascarado a infecção em outros (falso negativo), podendo sugerir como uma possível causa na diferença encontrada entre as técnicas de esfregaço sanguíneo, Woo e PCR.

No presente estudo 78,3% (18/23) dos animais positivos apresentaram alta intensidade de infecção, estando em desacordo com Law, Tully e Stewart (1993) que não observaram microfilárias dentre 25 emus (*Dromaius novaehollandiae*), mesmo um deles apresentando seis filarídeos adultos de *Chandlerella quiscalis* no cérebro. É provável que a presença de alta intensidade pode se justificar por uma alta infestação, refletindo em grande quantidade de microfilárias no esfregaço sanguíneo, independente do período ao qual foi realizada a coleta sanguínea. Outra hipótese também sugerida é que a espécie do presente estudo pode ter

periodicidade diurna, diferente do observado por Dreyer et al. (1996) e Ribeiro, Cury e Melo (2020) onde afirmam que algumas espécies possuem o pico de microfilaremia no período noturno, entre 23:00h e 01:00h. Porém, maiores estudos são necessários para investigar tais hipóteses.

A média e baixa intensidade de infecção, no presente estudo, representaram 8,7% (2/23) e 13,0% (3/23), respectivamente. Os baixos e médios níveis de infecção observados podem não refletir a real presença de microfilárias nos trinca-ferros (RIBEIRO; CURY; MELO, 2020), podendo ser confirmado pela realização da PCR, onde foi possível observar 30,9% (25/81) de animais positivos, porém negativos em esfregaço sanguíneo. Os resultados de média e baixa intensidade podem ser atribuídos pela liberação intermitente das microfilárias na circulação sanguínea (SANCHES; GODOY; 2017) e também devido a ocorrência irregular de microfilárias que possuem periodicidade noturna, trazendo como consequência um impacto negativo na intensidade da infecção avaliada. Portanto, baixos níveis de infecção estimados a partir dos esfregaços sanguíneos, podem não refletir adequadamente o real estado da presença de microfilárias na corrente sanguínea, não determinando, então, o verdadeiro nível de infecção (SEHGAL; JONES; SMITH, 2005; HAAS et al., 2011), sendo, então, recomendado a inspeção de esfregaços sanguíneos seriados para que se obtenha um real valor da microfilaremia.

De acordo com Artacho et al. (2007), a hematologia é uma técnica direta e pouco invasiva que permite detectar alterações nas condições fisiológicas, patológicas, ecológicas e ambientais em populações naturais, sendo nas aves uma técnica eficaz para avaliar o estado de saúde e condições corporal e nutricional.

Até o presente momento, não há na literatura alterações hematológicas relacionadas à infecção por microfilárias em aves, porém, no presente estudo foi possível observar diferença significativa na contagem de hemácias entre os animais positivos e negativos, estando as hemácias dos animais positivos abaixo da faixa de referência hematológica.

Vale ressaltar que não foi encontrado em literatura os valores de referência hematológica para trinca-ferros, sendo, então, utilizado para o presente estudo os valores referentes a saíra-de-bando (*Turquoise tanager*) (Passeriformes: Thraupidae) (ISIS, 2002) devido a proximidade das espécies, assim como utilizado por Campos et al. (2017).

A causa da anemia não regenerativa (normocítica e normocrômica) observada no presente estudo pode ser atribuída a um conjunto de fatores uma vez que esse tipo de anemia geralmente é observada em doenças inflamatórias (CAPITELLI; CROSTA, 2013), não descartando também possíveis coinfeções. Bartlett e Anderson (1981) observaram a presença de inflamação crônica nas paredes das artérias pulmonares de corvos-americanos (*Corvus brachyrhynchos*) decorrente da presença de microfilárias, o que pode também estar ocorrendo no presente estudo. Além disso, alguns animais apresentaram leucocitose associada à anemia, que são dois indicadores de doença inflamatória. De acordo com Kryvoruchenko (2022), a anemia e leucocitose em cães infectados por microfilárias de *Dirofilaria immitis* ocorrem devido aos efeitos mecânicos dos parasitas e também aos produtos derivados de seu metabolismo liberados nos hospedeiros, trazendo como consequência a destruição das células sanguíneas circulantes e a ocorrência de processos inflamatórios nos órgãos e tecidos. Entretanto, os trinca-ferros do presente estudo são oriundos de apreensão e são mantidos em recintos coletivos, o que contribui para maiores chances de infestação por parasitas hematófagos, hemoparasitas e parasitas gastrintestinais, os quais também podem determinar anemia (THRALL et al., 2022).

O hematócrito e a contagem de leucócitos são os parâmetros mais frequentemente utilizados para avaliar o estado de saúde das aves, pois refletem a eficiência no transporte de oxigênio e do sistema imunológico, respectivamente (ARTACHO et al., 2007). O valor do hematócrito, não apresentou diferença entre os animais positivos e negativos no presente estudo, corroborando com os achados de Atawal, Mgbeahuruike e Hammers (2019). Tal fato

pode estar associado ao fato das microfilárias serem hemoparasitas extracelulares, podendo não necessariamente se alimentar ou destruir os eritrócitos, ao contrário dos hemoparasitas intracelulares. Porém, Kryvoruchenko (2022), avaliou a presença de microfilárias de *D. immitis* em cães e observou uma queda no número total de hemácias, hemoglobina e hematócrito conforme houve o aumento na intensidade da infecção, não havendo diferença significativa entre os animais com baixa infecção e os animais saudáveis.

A policitemia em aves é rara, porém, quando presente, na maioria dos casos está relacionada à desidratação (THRALL et al., 2022). No presente estudo apenas 2,1% (1/48) dos animais positivos e 6,1% (2/33) dos animais negativos apresentaram policitemia, corroborando com a literatura quando afirma ser raramente relatada em aves.

Apesar de alguns trinca-ferros apresentarem leucocitose ou leucopenia, é importante salientar que para a correta interpretação do leucograma deve-se levar em conta algumas condições fisiológicas como, por exemplo, idade, sexo, dieta e estresse (CAPITELLI; CROSTA, 2013). No presente estudo os trinca-ferros foram acondicionados em gaiolas individuais com água e alimento a vontade no dia anterior ao exame clínico e coleta sanguínea, com intuito de minimizar o estresse, porém a contenção física é um fator estressor, podendo, portanto, ser uma das causas de aumento na contagem total de leucócitos e heterófilos. Esse aumento pode ocorrer entre 30 minutos e 1 hora após a causa do estresse (CIRULE et al., 2012) e o efeito diminui em até 24 horas caso o fator estressor seja removido (CAPITELLI; CROSTA, 2013).

Uma forma de se confirmar a leucocitose com heterofilia devido ao estresse é realizando a relação heterófilo:linfócito (H:L) (THRALL et al., 2022). No presente estudo tanto os animais positivos quanto negativos apresentaram uma média elevada de H:L (2,28 (39/48); 2,13 (25/33), respectivamente), porém este método nem sempre é confiável, pois também pode haver alteração desta relação em causas patológicas, como Vaz et al. (2016) que observaram uma alta relação H:L em aves com letargia e má condição física. A relação H:L não aparenta ser um indicador de estresse confiável, pois há a necessidade de correlacionar com a razão e concentração plasmática de corticosteroides (THRALL et al., 2022).

No presente estudo não houve diferença significativa entre os heterófilos dos animais positivos e negativos, porém foi observado heterofilia em 51,3% (20/39) dos positivos e 56,0% (14/25) dos negativos, estando apenas a média dos animais positivos acima da faixa de referência hematológica. Geralmente quando há leucocitose em condições inflamatórias, é possível observar também o aumento do heterófilo, por ser a primeira célula da linha de defesa contra causas infecciosas e não infecciosas (CAPITELLI; CROSTA, 2013), assim como observado por Clark, Boardman e Raidal (2014), onde 51,6% de 31 aves da família *Cacatuidae* apresentaram leucocitose com heterofilia em resposta à inflamação. Kryvoruchenko (2022) avaliou a presença de microfilárias de *D. immitis* em cães e não observou diferença significativa na leucometria total entre os animais com baixa infecção e animais saudáveis, porém, em médias e altas infecções foi possível observar aumento no número total de leucócitos.

Em aves, geralmente, quando há processo inflamatório severo, pode-se observar sinais de toxicidade em heterófilos, que acarreta em pior prognóstico, como descrito por Vaz et al. (2016), que observaram nos heterófilos de algumas aves vacuolização citoplasmática e granulação anormal, com presença de grânulos grandes, redondos, pálidos e eosinofílicos, e grânulos pequenos e basofílicos, e posteriormente duas aves foram a óbito. No presente estudo não foram observados sinais de toxicidade em heterófilos, apesar disso, não se descarta a possibilidade de processo inflamatório agudo devido à agentes infecciosos uma vez que as alterações tóxicas nem sempre se fazem presente nas condições inflamatórias (THRALL et al., 2022).

Os heterófilos bastonetes raramente são observados no sangue periférico de aves, e quando estão presentes em quantidade significativa são denominados desvio a esquerda

(THRALL et al., 2022). Podem ser observados no esfregaço sanguíneo de 12 a 24 horas após um processo inflamatório (MITCHELL; JOHNS, 2008) devido ao excesso na utilização periférica de heterófilos maduros, indicando um processo de inflamação mais severo (THRALL et al., 2022). No presente estudo, a presença de um heterófilo bastonete foi considerado normal e, a partir de dois, foi considerado desvio a esquerda. Dos animais positivos, 23,1% (9/39) apresentaram desvio a esquerda, e 8,0% (2/25) dos animais negativos, estando de acordo com Clark, Boardman e Raidal (2014), os quais observaram heterófilos bastonetes em 19,4% de 31 aves da família *Cacatuidae*, demonstrando que na maioria dos casos onde há processo inflamatório, a granulocitopoiese é intensificada, elevando a quantidade de heterófilos maduros circulantes para resolução do problema. Kryvoruchenko (2022) observou que os neutrófilos bastonetes de cães infectados com microfilárias de *D. immitis* aumentou apenas em infecções de alta intensidade quando comparado com animais saudáveis. Tal achado pode, em parte, justificar o maior número de animais apresentando desvio à esquerda no grupo das aves infectadas no presente estudo.

No presente estudo, 2,6% (1/39) e 7,7% (3/39) dos animais positivos e 16,0% (4/25) e 24,0% (6/25) dos animais negativos apresentaram leucopenia e heteropenia, respectivamente. Todos os animais que apresentaram leucopenia, havia heteropenia associada. A leucopenia está relacionada ao aumento no consumo de leucócitos periféricos e a diminuição na produção (THRALL et al., 2022), sendo o heterófilo, geralmente, a causa desta diminuição. A heteropenia pode estar associada a infecções bacterianas graves, infecções virais, intoxicações, doenças nutricionais e autoimunes (CAPITELLI; CROSTA, 2013). Os trinca-ferros são oriundos de apreensão do tráfico e comércio ilegal, sendo, provavelmente, doença nutricional associada ao estresse uma das causas da leucopenia e heteropenia nestas aves, havendo uma queda na imunidade e consequentemente possibilitando a entrada de agentes infecciosos.

A linfocitose pode ocorrer devido a estimulação antigênica, podendo estar associada a doenças infecciosas (THRALL et al., 2022). No presente estudo foi observado que 10,3% (4/39) dos animais positivos e 4,0% (1/25) dos animais negativos apresentaram linfocitose, todos associados com leucocitose e heterofilia e, desses animais positivos, 25,0% (1/4) também apresentou desvio a esquerda, demonstrando, então, a presença de algum processo infeccioso neste animal.

Já a linfopenia pode ser devido ao excesso de glicocorticoides (THRALL et al., 2022), tanto endógeno quanto exógeno (MITCHELL; JOHNS, 2008). Porém, quando há alteração nos valores normais e morfologia de leucócitos que estejam relacionados à inflamação, associados com linfopenia, deve-se levar em consideração a possibilidade de algum processo patológico (CLARK; BOARDMAN; RAIDAL, 2014). No presente estudo, 23,1% (9/39) dos animais positivos e 28,0% (7/25) dos animais negativos apresentaram linfopenia. Destes, 22,2% (2/9) dos animais positivos e 71,4% (5/7) dos negativos apresentaram leucopenia e/ou heteropenia associado, sendo sugestivo de processo patológico. Ainda, 33,3% (3/9) dos positivos apresentaram apenas linfopenia, sem demais alteração no leucograma, e 44,4% (4/9) positivos e 28,6% (2/7) negativos apresentaram linfopenia associada à leucocitose e/ou heterofilia, possivelmente, estando relacionados ao estresse. Corroborando com tais sugestões, Kryvoruchenko (2022) observou linfopenia em infecções de média intensidade em cães infectados com microfilárias de *D. immitis*, que se intensificou em infecções de alta intensidade. Em baixa intensidade não houve diferença significativa na quantidade de linfócitos quando comparados aos animais saudáveis.

A monocitose é relatada em doenças infecciosas que cursam com inflamação granulomatosa como, por exemplo, clamidiose, micobacteriose e aspergilose, geralmente associada à heterofilia, e em deficiências nutricionais, como zinco, por exemplo (THRALL et al., 2022). Foi observada também por Kryvoruchenko (2022) em infecções de alta intensidade de cães infectados por microfilárias de *D. immitis*, não havendo diferença significativa na

quantidade de monócitos entre cães com infecções de baixa e média intensidade e cães saudáveis.

De acordo com Thrall et al. (2022), os eosinófilos das aves não possuem, ainda, uma função totalmente elucidada, sendo de difícil interpretação as causas de eosinofilia. Enquanto a basofilia raramente é observada em aves, apesar de participarem da fase inicial da inflamação, porém, quando presente, a basofilia pode estar relacionada a inflamação precoce ou reação de hipersensibilidade imunomediada. No presente estudo não foram observadas monocitose, eosinofilia e basofilia nos trinca-ferros.

Hiperproteinemia é causada devido a desidratação (THRALL et al., 2022) ou processo inflamatório agudo ou crônico, assim como demonstrado por Vaz et al. (2016) onde observaram, também, hiperglobulinemia, causando o aumento na concentração de proteína total. No presente estudo não foi realizada a dosagem de albumina e globulina devido ao baixo volume de amostra preconizado para coleta sanguínea da espécie, não sendo possível determinar a real causa da hiperproteinemia. De acordo com a literatura, quando a relação albumina:globulina (A:G) está normal, geralmente há desidratação, pois há aumento tanto de globulina quanto de albumina, enquanto quando há hiperglobulinemia com concentração de albumina normal, associa-se à processo inflamatório agudo (THRALL et al., 2022). Porém, 66,7% (26/39) dos animais positivos e 84,0% (21/25) dos animais negativos apresentaram hiperproteinemia, destes, 19,2% (5/26) dos positivos e 4,8% (1/21) dos negativos apresentaram leucocitose associada, sendo sugestivo de processo inflamatório. Vale ressaltar que os trinca-ferros são mantidos em recintos coletivos, o que propicia as chances de infecção por agentes infecciosos como, por exemplo, coccídeos. De fato, Coelho et al. (2012) em um estudo com 72 trinca-ferros (*S. similis*) relatam infecção por coccídeos no CETAS – Seropédica/RJ. Estes endoparasitos causam diarreia nas aves, como relatado por Campos et al. (2017), podendo esta ser uma das causas de hiperproteinemia, devido a perda de fluidos corporais.

É importante ressaltar que não foi encontrado em literatura o valor de referência de PPT para trinca-ferros, sendo, então, utilizado para o presente estudo o valor referente a aves em geral, que é de 2,5 a 4,5 g/dL (THRALL et al., 2022).

No presente estudo, não é possível afirmar que as alterações hematológicas observadas, mesmo quando há diferença significativa entre o grupo de animais positivos e negativos, seja exclusivamente devido a infecção por microfilárias já que outros agentes e causas não foram excluídos. No entanto, quando os resultados são analisados comparativamente com a infecção por microfilárias de *D. immitis* em cães, Kryvoruchenko (2022) menciona que as alterações hematológicas dependem da intensidade da infecção, demonstrando a importância na quantificação das microfilárias como realizado no presente estudo, conforme proposto por Hass et al. (2011). Sugere-se que o método da quantificação seja melhor avaliado pois é necessário maior conhecimento acerca da periodicidade das microfilárias, para que a quantificação tenha um resultado mais fidedigno e se obtenha um real valor de microfilaremia no esfregaço sanguíneo (CHAGAS; BINKIENE; VALKIUNAS, 2021).

O presente estudo avaliou o peso corporal dos trinca-ferros, estando, em sua maioria, dentro do limite de referência estabelecido para a espécie (VASCONCELOS; ZIADE, 2020). Dos animais positivos, 75,0% (36/48) apresentaram o peso corporal normal, enquanto os negativos foram 81,8% (27/33), estando em desacordo com Rodrigues, Almeida e Silva (2019) que avaliaram a condição corporal de trinca-ferros que vieram a óbito devido ao tráfico animal e obtiveram valor médio de peso corporal abaixo do estabelecido para a espécie em decorrência do manejo nutricional inadequado. Acredita-se que no presente estudo as alterações de peso, em ambos os grupos, seja também devido ao inadequado manejo nutricional, refletindo, então, na massa corpórea dos animais.

A relação entre o peso corporal e a infecção por microfilárias ainda não está bem estabelecido, visto que para Merkel et al. (2017) a infecção não interfere na condição corporal

dos trinca-ferros. Em contrapartida, Larrat, Dallaire e Lair (2012) observaram peso corporal de leve a moderadamente baixo em corujas-boreais (*Aegolius funereus*) e Madani e Dorrestein (2012) relataram o caso de um tucano-de-bico-preto (*Ramphastos vitellinus*) que apresentou tendinite e celulite em função da presença de microfilárias, resultando na diminuição da mobilidade e, como consequência, anorexia, hipoglicemia e caquexia. De maneira oposta, Gregory, Keymer e Harvey (1991), sugerem que aves maiores e mais pesadas possuem maiores chances de serem parasitadas, corroborando com Sehgal, Jones e Smith (2005), que concluíram que aves infectadas por filarídeos possuem maior peso corporal, justificando tal afirmação devido a possíveis processos patológicos que são relacionados aos filarídeos como, por exemplo, derrame peritoneal e hepatomegalia.

Dos animais que apresentaram peso corporal acima do valor de referência estabelecido para a espécie, 54,5% (6/11) apresentavam-se positivos e 45,4% (5/11) negativos, e aqueles abaixo do peso corporal, 85,7% (6/7) eram positivos e 14,3% (1/7) negativos. Apesar do conflito de informações na literatura, sugere-se que, no presente estudo, a infecção por microfilárias não foi um fator determinante sobre o peso corporal das aves, visto que, não há diferença significativa entre os animais positivos e negativos. É importante salientar que os animais do presente estudo foram mantidos em recinto coletivo com outras aves da mesma espécie e, havendo, provavelmente, competição por alimentos e territórios, fazendo com que algumas aves se alimentem mais do que as outras e, também, algumas aves sofram lesões físicas, podendo acarretar em diminuição na ingestão de alimentos.

Alguns trinca-ferros apresentaram alterações clínicas no presente estudo, e algumas podem ter como causa brigas, quedas e acidentes durante o voo, visto que a maioria das alterações foram escoriações em face e bico, ausência de penas em cabeça, pescoço, asa e cauda, empenamento deficiente, hematoma no peito e lesões no peito e membros inferiores direito e esquerdo. Ademais, como mencionado anteriormente, a disputa por alimentos e territórios pode também justificar tais alterações clínicas.

Allen et al. (1985) relataram numerosos nódulos subcutâneos escuros e macios em todos os dedos do pé direito de um maracanã-de-colar (*Ara auricollis*) relacionado à microfilárias do gênero *Pelecitus*. Nos animais positivos foram observadas formação de calo no tarso (2,1%; 1/48), hiperqueratose nos pés (2,1%; 1/48) e pododermatite (4,2%; 2/48). É importante adicionar a presença de filarídeos como diagnóstico diferencial em nódulos observados na região das pernas das aves, pois é um dos principais locais onde se observa filarídeos adultos do gênero *Pelecitus*, como demonstrado por Madani e Dorrestein (2012), que relataram inchaço bilateral nos jarretes de tucano-de-bico-preto (*Ramphastos vitellinus*) com edema subcutâneo e amplitude de movimento reduzida. Observaram vários pequenos nematoides no tecido subcutâneo da articulação do jarrete, e também nas articulações metatarsofalângicas e nos coxins plantares, classificando o nematoide como *Pelecitus* sp.

No presente estudo, a presença de piolhos foi a segunda alteração clínica mais observada nos animais positivos, sendo 8,3% (4/48). É importante salientar que Bartlett (2008) menciona a ordem Phthiraptera (piolhos) como sendo um dos hospedeiros intermediários no ciclo biológico dos filarídeos aviários.

Geralmente as microfilárias não são patogênicas, porém, a ave comprometida pode apresentar infecção subclínica (BARTLETT, 2008), corroborando com o presente estudo, onde os trinca-ferros positivos não apresentaram alterações clínicas que pudessem ser associadas especificamente à infecção por microfilárias.

No presente estudo, comparou-se também a presença de microfilárias entre as estações do ano. As coletas sanguíneas foram realizadas em diversos meses, contemplando todas as estações climáticas. Foi observado que o verão obteve a maior média de temperatura (31,0°C), com diferença de 7,4°C para o outono, segunda maior média (23,6°C). No verão houve 92,9% (13/14) de positividade, apenas um animal obteve resultado negativo, corroborando com Calado

e Navarro-Silva (2002) onde concluíram que na faixa de temperatura entre 25°C e 30°C há uma maior fecundidade de fêmeas de *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae), comprovando que a influência da temperatura e umidade podem causar impactos sobre a atividade hematofágica do hospedeiro intermediário e, consequentemente, no parasitismo das aves.

No outono foi observado 65,2% (15/23) de animais positivos e apesar da média de temperatura ser de 23,6°C, foi a estação do ano com a segunda maior positividade provavelmente devido a temperatura máxima ser de 29,0°C, estando dentro da faixa de temperatura ótima mencionada por Calado e Navarro-Silva (2002) e sugerindo que as condições climáticas podem causar impacto nos hospedeiros intermediários por sofrerem influência das variações de temperatura e umidade (LAAKSONEN et al., 2010).

Durante a primavera houve 42,9% (15/35) de animais positivos e 57,1% (20/35) de animais negativos, e a média de temperatura foi de 23,7°C, demonstrando que em menores faixas de temperatura, houve menor positividade dos trinca-ferros, indo em desacordo com Law, Tully e Stewart (1993) que demonstraram que na primavera úmida houve aumento considerável de vetores do gênero *Culicoides*. Por outro lado, Calado e Navarro-Silva (2002) observaram que a média de longevidade de *Aedes albopictus* é maior em temperaturas de 25°C, período onde as fêmeas mais realizaram repastos sanguíneos.

O inverno apresentou média de temperatura de 19,8°C, com máxima de apenas 20,9°C e 55,6% (5/9) dos animais apresentou positividade. De acordo com Larrat, Dallaire e Lair (2012), baixas temperaturas podem favorecer no aumento da infecção parasitária devido a baixa oferta de alimentos e, como consequência, levando ao mau estado nutricional, o que acarreta em comprometimento do sistema imunológico, entretanto, os animais do presente estudo são mantidos sob cuidados humanos, não havendo escassez de alimentos. Já para Calado e Navarro-Silva (2002), temperaturas entre 15°C e 20°C afetam negativamente a viabilidade de ovos de *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae), atuando como fator limitante ao crescimento desta população de hospedeiro intermediário.

De acordo com Larrat, Dallaire e Lair (2012), a prevalência das infecções parasitárias nas aves pode ser influenciada pela variação na abundância de hospedeiros intermediários e definitivos, e essa variação pode ocorrer devido a influência das condições climáticas (LAAKSONEN et al., 2010). No presente estudo os trinca-ferros foram mantidos em um centro de triagem, localizado em região de mata (Seropédica/RJ – 22°72'35" S; 43°70'98" W), sendo considerado um local mais úmido. Devido à grande apreensão do tráfico, normalmente há uma grande quantidade de animais. Todas essas características dificultam o controle de ectoparasitas, e podem contribuir para o aumento das infecções por filarídeos, justificando os resultados do presente estudo.

6 CONCLUSÃO

A detecção a partir da associação de métodos diagnósticos se mostrou eficaz, demonstrando alta frequência de animais positivos para microfilárias. A PCR foi o método mais sensível, porém, o esfregaço sanguíneo traz a vantagem da realização de análises morfológicas e morfométricas, que auxiliam na identificação do parasito, além da possibilidade de obter a intensidade da infecção.

O trinca-ferro (*S. similis*) é um importante hospedeiro definitivo para filarídeos, porém são necessários maiores estudos para compreender melhor a interação parasita-hospedeiro, visto que não há estudos a respeito desta espécie de ave em relação a microfilárias, e as informações acerca da infecção em aves são escassas.

Apesar dos trinca-ferros (*S. similis*) não apresentarem alterações hematológicas e clínicas que pudessem ser associadas especificamente à infecção por microfilárias, é necessária a compreensão das possíveis implicações patológicas e clínicas para que seja viável determinar o real impacto desta infecção na população hospedeira.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, J.L.; KOLLIAS, G.V.; GREINER, E.C.; BOYCE, W. Subcutaneous Filariasis (*Pelecitus* sp.) in a Yellow-Collared Macaw (*Ara auricollis*). **Avian Diseases**, v.29, n.3, p.891-894, jul.-set., 1985.
- ALMOSNY, N.R.P.; MONTEIRO, A.O. Patologia clínica. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C. R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens – Medicina Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007.
- ALMOSNY, N.R.P. Patologia clínica em vertebrados ectotérmicos. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens – medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, v.2, 2017.
- ANDERSON, R.C. **Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission**. New York, Wallingford: CABI, 2000.
- ARTACHO, P.; SOTO-GAMBOA, M.; VERDUGO, C.; NESPOLO, R.F. Using haematological parameters to infer the health and nutritional status of an endangered black-necked swan population. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.147, n.4, p.1060–1066, 2007.
- ATAWAL, A.F.; MGBEAHURUIKE, A.C.; HAMMERS, M. Microfilarial infections associated with body mass loss of Village Weavers *Ploceus cucullatus*. **Ostrich – Journal of African Ornithology**, v.90, n.1, p.41-44, 2019.
- BAILEY, J.W.; SMITH, D.H. The quantitative buffy coat for the diagnosis of trypanosomes. **Tropical Doctor**, v.24, n.54-56, 1994.
- BAIN, O.; OTRANTO, D.; DINIZ, D.G.; SANTOS, J.N.; OLIVEIRA, N.P.; ALMEIDA, I.N.F.; ALMEIDA, R.N.F.; ALMEIDA, L.N.F.; DANTAS-TORRES, F.; SOBRINHO, E.F.A. Human intraocular filariasis caused by *Pelecitus* sp. Nematode, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, n.5, maio, 2011.
- BARTLETT, C.M. New, known and unidentified species of *Eulimdana* (Nematoda): additional information on biologically unusual filarioids of charadriiform birds. **Systematic Parasitology**, v.23, 1992. p.209-230.
- BARTLETT, C.M. Filarioid nematodes. In: ATKINSON, C.T.; THOMAS, N.J.; HUNTER, D.B. (Eds.). **Parasitic Diseases of Wild Birds**. 1. ed. Iowa:Wiley-Blackwell, 2008. p. 239–462.
- BARTLETT, C.M.; ANDERSON, R.C. *Pelecitus fulicaeatrae* (Nematoda: Filarioidea) of coots (Gruiformes) and grebes (Podicipediformes): skin-inhabiting microfilariae and development in Mallophaga. **Canadian Journal of Zoology**, v.65, n.11, p.2803–2812, 1987.
- BARTLETT, C.M.; ANDERSON; R.C. Occult filariasis in crows (*Corvus brachyrhynchos* Brehm) infected with *Splendidofilaria caperata* Hibler, 1964 (Nematoda: Filarioidea). **Journal of Wildlife Diseases**, v.17, p.69-77, 1981.

BirdLife International – Species factsheet: *Saltator similis*, 2022. Disponível em: <http://www.birdlife.org/> Acesso em: 19 de abril de 2022.

BINKIENE, R.; CHAGAS, C.R.F.; BERNOTIENE, R.; VALKIUNAS, G. Molecular and morphological characterization of three new species of avian Onchocercidae (Nematoda) with emphasis on circulating microfilariae. **Parasites Vectors**. 14:137, 2021.

BirdLife International. *Saltator similis*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2018. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/species/22723882/132169900> Acesso em 19 de fevereiro de 2022.

BRUM, W.M.; PEREIRA, M.A.V.C.; VITA, G.F.; FERREIRA, I.; MELLO, E.R.; AURNHEIMER, R.C.M.; SANAVRIA, A.; PADUA, E.D. Parasitismo em aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da marambaia, estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.11, p.1101-1108, nov., 2016.

CALADO, D.C.; NAVARRO-SILVA, M.A. Influência da temperatura sobre a longevidade, fecundidade e atividade hematofágica de *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse, 1894 (Diptera, Culicidae) sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.46, n.1, p.93-98, 2002.

CAMPANARO, M.C.M.; NUNES, J.F. Levantamento de aves (ordem Passeriformes) da Trilha do Sol, Capitólio, Minas Gerais, Brasil. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*. Curitiba, v.3, n.3, p.2295-2309, jul./set., 2020.

CAMPOS, S.D.E.; MACHADO, C.S.C.; SOUZA, T.V.T.; CEVAROLLI, R.C.; ALMOSNY, N.R.P. Extraintestinal isosporoid coccidian causing atoxoplasmosis in captive green-winged saltators: clinical and hematological features. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.11, p.1327-1330, nov., 2017.

CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v.16, n.1, p.71–120, 2013.

CARDELLS-PERISA, J.; GONZÁLVEZ, M.; ORTEGA-PORCEL, J.; YBÁÑEZ, M.R.R.; MARTÍNEZ-HERREROA, M.C.; GARIJO-TOLEDO, M.M. Parasitofauna survey of song thrushes (*Turdus philomelos*) from the eastern part of Spain. **Parasitology International**, v.79, 2020.

CAVALCANTI, C.A.T.; NUNES, V.S. O tráfico da avifauna no nordeste brasileiro e suas consequências socioambientais. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v.6, n.2, p.405-415, 2019.

CHAGAS, C.R.F.; BINKIENE, R.; ILGUNAS, M.; IEZHOVA, T.; VALKIUNAS, G. The buffy coat method: a tool for detection of blood parasites without staining procedures. **Parasites Vectors**, v.13, p.104, 2020.

CHAGAS, C.R.F.; BINKIENE, R.; VALKIUNAS, G. Description and molecular characterization of two species of avian blood parasites, with remarks on circadian rhythms of avian Haematozoa infections. **Animals**, v.11, 2021.

CLARK, P.; BOARDMAN, W.S.J.; RAIDAL, S. R. **Atlas of clinical avian hematology**. 1. ed. Reino Unido: Wiley-Blackwell, 2009.

CLARK, P.; BOARDMAN, W.S.J.; RAIDAL, S. R. Haematological characteristics of individuals from nine species of Australian cockatoos in response to naturally occurring disease and injury. **Comparative Clinical Pathology**, v. 23, n.5, p.1225-1232, 2014.

COELHO, C.D.; BERTO, B.P.; NEVES, D.M., OLIVEIRA, V.M.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Diagnóstico e tratamento das coccidioses em trinca-ferros-verdadeiros *Saltator similis* D' Orbigny Lafresnaye, 1837 mantidos em regime de quarentena. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.34, n.1, p.46-54, dez., 2012.

DAVIDAR, P.; MORTON, E.S. Are multiple infections more severe for purple martins (*Progne subis*) than single infections? **The Auk**, v.123, n.1, p.141-147, 2006.

DREYER, G.; DREYER, P. Diagnóstico Laboratorial da Filariose Bancroftiana. In G.A. DE CARLI. **Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. São Paulo: Editora Atheneu. 2001. cap.19, p.373-394.

DREYER, G.; PIMENTEL, A.; MEDEIROS, Z.; BÉLIZ, F.; MOURA, I.; COUTINHO, A.; ANDRADE, L.D.; ROCHA, A.; SILVA, L.M.; PIESSENS, W.F. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, v.1, n.2, p.264-272, abr., 1996.

DRUILHE, P.; TALL, A.; SOKHNA, C. Worms can worsen malaria: towards a new means to roll back malaria? **Trends in Parasitology**, v.21, n.8, ago., 2005.

ECHOLS, M.S.; CRAIG, T.M.; SPEER, B.L. Heartworm (*Paronchocerca ciconarum*) Infection in 2 Saddle-Billed Storks (*Ephippiorhynchus senegalensis*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.14, n.1, p.42-47, 2000.

GREGORY, R.D.; KEYMER, A.E.; HARVEY, P.H. Life history, ecology and parasite community structure in Soviet birds. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.43, p.249-262, 1991.

GREIMAN, S.E.; WILSON, R.E.; SESMUNDO, B.; REAKOFF, J.; SONSTHAGEN, S.A. Detection of *Splendidofilaria* sp. (Onchocercidae: Splendidofilariinae) microfilaria within alaskan ground-dwelling birds in the grouse subfamily Tetraoninae using taqman probe-based real-time PCR. **Journal of Parasitology**, v.108, n.2, p.192–198, 2022.

GREINER, E.C.; BENNETT, G.F.; WHITE, E.M.; COOMBS, R.F. Distribution of the avian hematozoa of North America. **Canadian Journal of Zoology**, v.53, p.1762–1787, 1975.

HASS, M.; BARUS, V.; BENEDIKT, V.; LITERÁK, I. Microfilariae in birds in the Czech Republic, including a note on adult nematodes *Eufilaria delicata* in a song thrush *Turdus philomelos*. **Parasitology Research**, v.109, p.645–655, 2011.

HOWE, F.P. Effects of *Protocalliphora braueri* (Diptera: Calliphoridae) parasitism and inclement weather on nestling sage thrashers. **Journal of Wildlife Diseases**, v.28, n.1, p.141–143, 1992.

HUANG, Y.; TSAI, S.; THONGCHAN, D.; KHATRI-CHHETRI, R.; WU, H. Filarial nematode infection in eclectus parrots (*Eclectus roratus*) in Taiwan. **Avian Pathology**, v.46, n.2, p.188–194, 2017.

KRYVORUCHENKO, D. Hematological parameters of dogs for parasitism *Dirofilaria immitis*. **Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences**, vol.5, n.1, 2022.

LAAKSONEN, S.; PUSENIUS, J.; KUMPULA, J.; VENÄLÄINEN, A.; KORTET, R.; OKSANEN, A.; HOBERG, E. Climate change promotes the emergence of serious disease outbreaks of filarioid nematodes. **EcoHealth**, v.7, p.7–13, 2010.

LAGOS, A.R.; FRANCHIN, A.G.; MARQUES, C.A.R.; SILVA, C.S.P.D.; CARDOSO, C.A.C.; BELOTE, D.F.; VALENTIM, V.R.; MACHADO, F.V.; CHAVES, F.G.; NUNES, G.E.S.S.; CARNEIRO, J.B.; BORDE, L.Q.; LAURINDO, T.F. Guia de aves: da área de influência da usina hidrelétrica de Batalha. Rio de Janeiro: FURNAS, p.190, 2018.

LARRAT, S.; DALLAIRE, A.D.; LAIR, S. Emaciation and larval filarioid nematode infection in boreal owls (*Aegolius funereus*). **Avian Pathology**, v.41, n.4, p.345–349, ago., 2012.

LAW, J.M.; TULLY, T.N.; STEWART, T.B. Verminous encephalitis apparently caused by the filarioid nematode *Chandlerella quiscali* in emus (*Dromaius novaehollandiae*). **Avian Diseases**, v.37, n.2, p.597–601, abr.-jun., 1993.

LÓPEZ, O.G.; SANTOS, A.; QUINTERO, D.; AGUILAR, C.; MILLER, M.J. Nuevo registro para Panamá de *Pelecitus helycinus* (Molin, 1860) (Nematodas: Filarioidea: Onchocercidae) como parásito subcutáneo del ave *Arremon aurantiitostriis* (Passeriformes: Emberizidae). **Tecnociencia**, v.13, n.1, p.91–101, 2011.

MADANI, S.A.; DORRESTEIN, G.M. Filarial Tenosynovitis Caused by *Pelecitus* species (Spirurida, Filarioidea, Onchocercidae) in the Legs of a Channel-billed Toucan (*Ramphastos vitellinus*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.26, n.1, p.36–39, 2012.

MCKEAND, J.B. Molecular diagnosis of parasitic nematodes. **Parasitology**, v.117, 87–96, 1998.

MERKEL, J.; JONES, H.I.; WHITEMAN, N.K.; GOTTDENKER, N.; VARGAS, H.; TRAVIS, E.K.; PARKER, P.G. Microfilariae in Galápagos penguins (*Spheniscus mendiculus*) and flightless cormorants (*Phalacrocorax harrisi*): Genetics, morphology, and prevalence. **Journal of Parasitology**, v.93, n.3, p.495–503, 2007.

MITCHEL, E.B.; JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v.11, p.501–522, 2008.

MITCHELL, E.B.; JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v.11, p.501–522, 2008.

MUÑOZ-GARCÍA, C.I.; LÓPEZ-DÍAZ, O.; OSORIO-SARABIA, D.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, F.; VILLALOBOS, G.; ISAAK-DELGADO, A.B.; RENDÓN-FRANCO, E.; CARREÑO-CERVANTES, A.; CONTRERAS-PATÍÑO, D.R.; BERRIATUA, E.; PLEITE, C.M. New insights into the clinico-histopathological and molecular features of *Pelecitus* (Filarioidea: Onchocercidae) from a raptor bird. **Parasitology Research**, 117:3319–3325, 2018.

NASCIMENTO, L.S.; MACIEL, C.M.R.R.; CORREIA, M.A.; FRIES, D.D.; JÚNIOR, A.M. A importância do Parque Municipal da Matinha, Itapetinga – BA, na conservação de espécies de aves ameaçadas pelo tráfico. **Enciclopédia Biosfera**, n.6, v.10, p.1-8, 2010.

ONIKI, Y.; KINSELLA, J.M.; WILLIS, E.O. *Pelecitus helycinus* Railliet & Henry, 1910 (Filarioidea, Dirofilarinae) and other nematode parasites of Brazilian birds. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.97, n.4, p.597–598, jun., 2002.

PACHECO, J.F.; SILVEIRA, L.F.; ALEIXO, A.; AGNE, C.E.; BENCKE, G.A.; BRAVO, G.A.; BRITO, G.R.R.; COHN-HAFT, M.; MAURÍCIO, G.N.; NAKA, L.N.; OLMOS, F.; POSSO, S.; LEES, A.C.; FIGUEIREDO, L.F.A.; CARRANO, E.; GUEDES, R.C.; CESARI, E.; FRANZ, I.; SCHUNCK, F.; PIACENTINI, V.Q. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee – second edition. **Ornithology Research**, v.29, n.2, 2021.

PIACENTINI, V.Q.; ALEIXO, A.; AGNE, C.E.; MAURÍCIO, G.N.; PACHECO, J.F.; BRAVO, G.A.; BRITO, G.R.R.; NAKA, L.N.; OLMOS, F.; POSSO, S.; SILVEIRA, L.F.; BETINI, G.S.; CARRANO, E.; FRANZ, I.; LEES, A.C.; LIMA, L.M.; PIOLI, D.; SCHUNCK, F.; AMARAL, F.R.; BENCKE, G.A.; COHN-HAFT, M.; FIGUEIREDO, L.F.A.; STRAUBE, F.C.; CESARI, E. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee / Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v.23, n.2, p.91-298, 2015.

PIZARRO, M.; VILLEGAS, P.; RODRIGUEZ, A.; ROWLAND, G.N. Filariasis (*Pelecitus* sp.) in the Cervical Subcutaneous Tissue of a Pigeon with Trichomoniasis. **Avian Diseases**, v.38, n. 2, p.385-389, abr.-jun., 1994.

PIZO, M.A.; GALETTI, M. Métodos e perspectivas do estudo da frugivoria e dispersão de sementes por aves. In: MATTER, S.V. **Ornitologia e Conservação**. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 2010. p. 493-504.

QUEIROZ, A.L.L.; PEREIRA, A.H.; LUCIO, N.; KALAPOTHAKIS, Y.; MIRANDA, K.G.; KALAPOTHAKIS, G. Complete mitochondrial genome of *Saltator similis* (Aves, Passeriformes). **Mitochondrial DNA Part B**, v.4, n.1, p.2058–2060, 2019.

REIS, W.J.; SILVA, E.T. Aves passeriformes do município de Caputira, Minas Gerais. **Revista de Ciências**, v.7, n.1, 2016.

RIBEIRO, P.V.A.; CURY, M.C.; MELO, C. First record of microfilariae in *Antilophia galeata* (Aves: Pipridae). **Acta Brasiliensis**, v.4, n.2, p.106-109, 2020.

RODRIGUES, B.C.; ALMEIDA, D.M.; SILVA, L.C.S. Avaliação corpórea, caracterização biométrica externa e do sistema digestório de trinca-ferros (*Saltator similis*, d'Orbigny & Lafresnaye, 1837) provenientes do tráfico animal. **Biotemas**, v.32, n.1, p.77-84, mar., 2019.

SANCHES, T.C.; GODOY, S.N. Passeriformes (canário, sabiá, pássaro-preto e trinca-ferro). In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens – medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, v.2, 2017.

SANCHEZ-GODOY, F.D.; JUAREZ-MURGUIA, A.; HERNANDEZ-CASTRO, R.; XICOHTENCATL-CORTES, J.; MARTINEZ-HERNANDEZ, F.; HERNANDEZ-VELASCO, X. Characterization of aortic and brachiocephalic filariasis by *Filarioidea* sp. (Nematoda: Spirurida: Filarioidea) in Mexican ramphastids. **IJP: Parasites and Wildlife**, v.11, p.282–286, 2020.

SCHMIDT, E.M.S. Patologia clínica em Aves. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens – medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, v.2, 2017.

SEHGAL, R.N.M.; JONES, H.I.; SMITH, T.B. Molecular evidence for host specificity of parasitic nematode microfilariae in some African rainforest birds. **Molecular Ecology**, v.14, n.13, p. 3977–3988, 2005.

SEKIGUCHI, M.; NONAKA, N.; ADACHI, M.; SEKIYA, T.; YAMAMOTO, Y. Avian filariasis in backyard chickens in Japan. **Avian Diseases**, v.62, p.326–329, 2018.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, p.519, 1997.

SILVA, E.M.; OLIVEIRA, E.L.R.; LIMA, V.F.S.; BORGES, J.C.G.; PORTO, W.J.N. Aves silvestres comercializadas ilegalmente em feiras livres da cidade de Arapiraca, Alagoas. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**: Goiânia, v.11 n.21, p.2045-2055, 2015.

SIMPSON, V.R.; MACKENZIE, G.; HARRIS, E.A. Fatal microfilarial infection in red billed blue magpies (*Urocissa erythrorhynchus*). **Veterinary Record**, v.138, p.522-523, 1996.

SPRATT, D.M. *Pelecitus Bartneri* sp. nov. (Nematoda: Filarioidea) from the subcutaneous tissues of the leg of *Psephotus Chrysopterygius* Gould, 1858 (Psittaciformes). **Transactions of the Royal Society of South Australia**, v.134, n.2, p.172–176, 2010.

THRALL, M.A.; WEISER, G.; ALLISON, R.W.; CAMPBELL, T.W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2015.

UNI, S.; UDIN, A.S.M.; TAN, P.E.; RODRIGUES, J.; MARTIN, C.; JUNKER, K.; AGATSUMA, T.; LOW, V.L.; LIM, Y.A.; SAIJUNTHA, W.; OMAR, H.; ZAINURI, N.A.; FUKUDA, M.; KIMURA, D.; MATSUBAYASHI, M.; UGA, S.; TAKAOKA, H.; AZIRUN, M.S.; RAMLI, R. Description and molecular characterisation of *Pelecitus copsychi* Uni, Mat Udin & Martin n. sp. (Nematoda: Onchocercidae) from the white-rumped shama *Copsychus malabaricus* (Scopoli) (Passeriformes: Muscicapidae) of Pahang, Malaysia. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v.2, 2022.

VASCONCELOS, M.F.; ZIADE, C.F. **Guia ilustrado de aves da área de influência da usina hidrelétrica de Emborcação**. Belo Horizonte: Cemig, p.236, 2020.

VAUGHAN, J.A.; HINSON, J.; ANDREWS, E.S.; TURELL, M.J. Pre-existing microfilarial infections of american Robins (Passeriformes: Turdidae) and common grackles (Passeriformes: Icteridae) have limited impact on enhancing dissemination of West Nile Virus in *Culex pipiens* Mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.58, n.3, p.1389–1397, 2021.

VAZ, F.F.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; BELTRAME, O.C.; SIPINSKI, E.A.B.; ABBUD, M.C.; SEZERBAN, R.M. Hematologic and biochemical values of wild red-tailed amazon parrot (*Amazona brasiliensis*) nestlings with abnormal clinical examination in Rasa Island, Brazil. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.30, n.4, p.350–356, 2016.

WORK, T.M.; METEYER, C.U.; COLE, R.A. Mortality in laysan ducks (*Anas laysanensis*) by emaciation complicated by *Echinuria uncinata* on Laysan Island, Hawaii, 1993. **Journal of Wildlife Diseases**, v.40, n.1, p.110–114, 2004.

ANEXO

Anexo A – Ficha clínica

Anexo B – Resultados de eritrograma, trombograma e PPT dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias

Anexo C – Resultados do leucograma dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias

Anexo D – Resultados de eritrograma, trombograma e PPT dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias

Anexo E – Resultados do leucograma dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias

Anexo F – Peso corporal dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias

Anexo G – Peso corporal dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias

Anexo H – Alterações clínicas dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias

Anexo I – Alterações clínicas dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias

Anexo A – Ficha Clínica.

Dia ____/____/____

FICHA CLÍNICA - TRINCA-FERROS

Gaiola	Nº <u>Lab</u>	Anilha	Peso	Escore Corporal	Cavidade Oral	Cloaca	Olhos/Narinas/Ouvidos/Bico	Penas	<u>Ectoparasitas</u>	Eppendorf/Lâmina/Sangue

Anexo B – Resultados de eritrograma, trombograma e PPT dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias.

Trinca-ferro	Hemácias	Hemoglobina	Hematócrito	VGM	CHGM	Trombócitos	PPT
Valores de Referência*	3,41 – 5,53	15,3	37,2 – 62,4	56,8 – 159,2	34,8	-	2,5 – 4,5**
2	2.43	-	25	102.9	-	3000	3.0
3	2.39	-	37	154.8	-	2000	3.5
4	1.47	-	40	272.1	-	1000	3.6
5	2.31	-	33	142.9	-	2000	4.0
6	1.11	-	39	351.4	-	1000	-
7	3.65	-	29	79.5	-	13000	3.8
9	3.03	-	40	132.0	-	2000	4.0
11	3.63	-	30	82.6	-	8000	4.0
13	2.19	-	40	182.6	-	1000	4.0
14	3.32	-	45	135.5	-	5000	6.0
17	3.02	18.2	57	188.7	31.9	12000	-
18	3.43	19.1	33	96.2	57.9	2000	-
22	5.21	18.0	49	94.0	36.7	9000	6.6
24	2.98	15.2	47	157.7	32.3	10000	7.4
25	3.38	14.6	43	127.2	34.0	13000	5.4
27	2.60	16.7	47	180.8	35.5	11000	5.4
29	2.90	16.9	52	179.3	32.5	25000	8.6
30	3.92	18.4	50	127.6	36.8	26000	6.0
32	3.04	18.6	48	157.9	38.8	6000	5.6
34	3.19	14.4	44	137.9	32.7	27000	8.2
36	4.38	17.6	49	111.9	35.9	8000	8.6
37	6.22	19.3	50	80.4	38.6	18000	5.6
49	3.80	17.4	46	121.1	37.8	5000	6.2
54	2.85	17.3	48	168.4	36.0	3000	-
55	2.80	15.2	43	153.6	35.3	14000	7.4
56	4.71	20.3	60	127.4	33.8	2000	7.4
58	2.91	16.8	45	154.6	37.3	1000	5.8
62	4.06	20.4	60	147.8	34.0	7000	7.4
64	1.77	11.6	35	197.7	33.1	1000	8.6
83	3.29	14.4	47	142.9	30.6	9000	7.0
84	3.14	17.2	48	152.9	35.8	7000	8.0
86	2.31	10.3	28	121.2	36.8	11000	8.8
88	2.81	14.6	43	153.0	34.0	2000	4.6
89	3.27	16.5	48	146.8	34.4	14000	6.4
101	2.52	16.8	44	174.6	38.2	13000	3.8
102	1.50	12.7	37	246.7	34.3	7000	4.6
103	3.00	15.2	52	173.3	29.2	24000	4.8
105	2.35	17.5	34	144.7	51.5	19000	5.6
108	4.00	14.3	38	95.0	37.6	46000	4.6

*Valores de referência de saíra-de-bando (*Turquoise tanager*) (Passeriformes: Thraupidae), segundo ISIS (Internacional Species Information System) (2002). **Valor de referência de Aves, segundo Thrall et al., 2022.

Anexo C – Resultados do leucograma dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias. (continua)

Trinca-ferro	Leucócitos	Bastões		Heterófilos		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos		H:L
		Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	
Valores de Referência*	3092 – 18628	-	-	-	1575 - 5581	-	1759 - 8829	-	1993 - 4375	-	439 - 1081	-	104 - 3912	-
2	12000	0	0	81	9720	15	1800	4	480	0	0	0	0	5.4
3	9800	0	0	30	2940	48	4704	19	1862	3	294	0	0	0.6
4	12000	2	240	60	7200	34	4080	4	480	0	0	0	0	1.8
5	7500	0	0	77	5775	20	1500	3	225	0	0	0	0	3.9
6	8800	2	176	68	5984	28	2464	2	176	0	0	0	0	2.4
7	32300	5	1615	57	18411	30	9690	7	2261	1	323	0	0	1.9
9	30800	1	308	95	29260	3	924	1	308	0	0	0	0	31.7
11	31800	1	318	73	23214	21	6678	5	1590	0	0	0	0	3.5
13	16500	2	330	71	11715	10	1650	17	2805	0	0	0	0	7.1
14	14500	0	0	52	7540	38	5510	9	1305	1	145	0	0	1.4
17	4000	0	0	38	1520	54	2160	6	240	2	80	0	0	0.7
18	3500	0	0	44	1540	47	1645	7	245	2	70	0	0	0.9
22	22000	1	220	48	10560	39	8580	11	2420	1	220	0	0	1.2
24	17500	0	0	53	9275	39	6825	8	1400	0	0	0	0	1.4
25	10000	0	0	35	3500	62	6200	2	200	1	100	0	0	0.6
27	11300	2	226	64	7232	28	3164	2	226	4	452	0	0	2.3
29	10300	3	309	45	4635	47	4841	3	309	2	206	0	0	1.0
30	6000	0	0	44	2640	49	2940	3	180	4	240	0	0	0.9
32	15500	0	0	50	7750	48	7440	1	155	1	155	0	0	1.0
34	6000	0	0	39	2340	50	3000	8	480	3	180	0	0	0.8
36	2300	4	92	40	920	50	1150	6	138	0	0	0	0	0.8
37	30000	0	0	28	8400	68	20400	3	900	1	300	0	0	0.4
49	4300	0	0	50	2150	43	1849	7	301	0	0	0	0	1.2

Anexo C – Continuação.

54	7800	0	0	69	5382	23	1794	6	468	2	156	0	0	3.0
55	7000	0	0	53	3710	35	2450	11	770	1	70	0	0	1.5
56	8500	0	0	65	5525	27	2295	8	680	0	0	0	0	2.4
58	13500	0	0	53	7155	35	4725	7	945	5	675	0	0	1.5
62	5800	0	0	60	3480	32	1856	7	406	1	58	0	0	1.9
64	8800	0	0	72	6336	18	1584	10	880	0	0	0	0	4.0
83	5000	1	50	32	1600	58	2900	5	250	4	200	0	0	0.6
84	24500	1	245	43	10535	51	12495	5	1225	0	0	0	0	0.8
86	20500	0	0	42	8610	49	10045	5	1025	0	0	0	0	0.9
88	9000	1	90	71	6390	20	1800	6	540	2	180	0	0	3.6
89	4500	2	90	52	2340	39	1755	4	180	3	135	0	0	1.3
101	8000	0	0	63	5040	21	1680	6	480	2	160	8	640	3.0
102	5800	5	290	46	2668	41	2378	1	58	2	116	5	290	1.1
103	7000	0	0	38	2660	35	2450	3	210	3	210	21	1470	1.1
105	3500	0	0	50	1750	24	840	7	245	0	0	19	665	2.1
108	23000	1	230	63	14490	23	5290	9	2070	0	0	4	920	2.7

*Valores de referência de saída-de-bando (*Turquoise tanager*) (Passeriformes: Thraupidae), segundo ISIS (Internacional Species Information System) (2002).

Anexo D – Resultados de eritrograma, trombograma e PPT dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias.

Trinca-ferro	Hemácias	Hemoglobina	Hematócrito	VGM	CHGM	Trombócitos	PPT
Valores de Referência*	3,41 – 5,53	15,3	37,2 – 62,4	56,8 – 159,2	34,8	-	2,5 – 4,5**
15	4.60	-	52	113.0	-	3000	5.5
16	2.93	13.7	43	146.8	31.9	20000	-
20	3.16	18.7	40	126.6	46.8	15000	-
28	2.61	16.8	44	168.6	38.2	6000	7.2
31	3.89	14.3	41	105.4	34.9	17000	6.6
38	6.03	19.5	50	82.9	39.0	5000	8.0
41	2.44	12.4	40	163.9	31.0	2000	6.2
43	4.62	20.4	50	108.2	40.8	10000	7.6
44	2.95	15.6	43	145.8	36.3	1000	7.2
45	3.16	18.3	55	174.1	33.3	15000	9.0
47	2.86	12.2	37	129.4	33.0	8000	6.0
51	3.68	16.6	46	125.0	36.1	8000	6.0
57	2.81	16.3	52	185.1	31.3	9000	7.8
61	3.45	19.1	53	153.6	36.0	2000	7.2
63	6.49	22.2	59	90.9	37.6	1000	6.2
66	3.24	14.6	40	123.5	36.5	1000	6.8
69	3.74	16.4	45	120.3	36.4	3000	5.2
71	3.30	16.1	40	121.2	40.3	2000	5.2
73	4.92	19.0	55	111.8	34.5	6000	7.6
75	4.41	17.1	50	113.4	34.2	4000	7.0
81	3.14	11.8	37	117.8	31.9	6000	6.4
100	3.88	18.6	43	110.8	43.3	4000	4.0
106	2.58	14.5	42	162.8	34.5	2000	4.4
109	2.89	17.9	51	176.5	35.1	6000	4.8
110	4.01	16.4	46	114.7	35.7	16000	5.0

*Valores de referência de saíra-de-bando (*Turquoise tanager*) (Passeriformes: Thraupidae), segundo ISIS (Internacional Species Information System) (2002). **Valor de referência de Aves, segundo Thrall et al., 2022.

Anexo E – Resultados do leucograma dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias. (continua)

Trinca-ferro	Leucócitos	Bastões		Heterófilos		Linfócitos		Monócitos		Eosinófilos		Basófilos		H:L
		Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto	
Valores de Referência*	3092 – 18628	-	-	-	1575 - 5581	-	1759 - 8829	-	1993 - 4375	-	439 - 1081	-	104 - 3912	-
15	16300	0	0	70	11410	22	3586	8	1304	0	0	0	0	3.2
16	7500	0	0	82	6150	12	900	6	450	0	0	0	0	6.8
20	11800	0	0	49	5782	50	5900	0	0	1	118	0	0	1.0
28	13300	2	266	52	6916	35	4655	9	1197	2	266	0	0	1.5
31	14300	0	0	44	6292	52	7436	3	429	1	143	0	0	0.8
38	8800	0	0	45	3960	46	4048	7	616	2	176	0	0	1.0
41	9000	0	0	85	7650	6	540	8	720	1	90	0	0	14.2
43	6300	0	0	33	2079	54	3402	8	504	5	315	0	0	0.6
44	11300	0	0	64	7232	25	2825	9	1017	2	226	0	0	2.6
45	3500	1	35	37	1295	41	1435	14	490	7	245	0	0	0.9
47	15300	0	0	68	10404	30	4590	2	306	0	0	0	0	2.3
51	7000	0	0	31	2170	52	3640	16	1120	1	70	0	0	0.6
57	24500	0	0	46	11270	47	11515	7	1715	0	0	0	0	1.0
61	14800	0	0	49	7252	41	6068	10	1480	0	0	0	0	1.2
63	14300	0	0	41	5863	49	7007	5	715	5	715	0	0	0.8
66	16800	0	0	54	9072	31	5208	14	2352	1	168	0	0	1.7
69	7300	0	0	57	4161	32	2336	9	657	2	146	0	0	1.8
71	2800	0	0	38	1064	46	1288	8	224	8	224	0	0	0.8
73	10800	0	0	32	3456	56	6048	12	1296	0	0	0	0	0.6
75	13000	0	0	72	9360	18	2340	7	910	3	390	0	0	4.0
81	18300	2	366	63	11529	17	3111	15	2745	3	549	0	0	3.7
100	1500	0	0	8	120	84	1260	6	90	0	0	2	30	0.1

Anexo E – Continuação.

106	2000	0	0	45	900	33	660	6	120	1	20	15	300	1.4
109	1300	0	0	13	169	60	780	2	26	1	13	24	312	0.2
110	4300	1	43	28	1204	59	2537	4	172	0	0	8	344	0.5

*Valores de referência de saída-de-bando (*Turquoise tanager*) (Passeriformes: Thraupidae), segundo ISIS (Internacional Species Information System) (2002).

Anexo F – Peso corporal dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias.

Trinca-ferro	Peso (g)	Trinca-ferro	Peso (g)
1	45	35	47
2	29	36	44
3	41	37	46
4	40	39	47
5	31	49	51
6	42	54	44
7	42	55	43
8	31	56	48
9	31	58	52
10	35	62	46
11	34	64	45
13	41	78	48
14	41	83	45
17	49	84	49
18	40	86	41
22	51	88	46
24	45	89	47
25	51	93	43
27	45	96	52
29	50	101	47
30	49	102	45
32	45	103	45
33	42	105	44
34	49	108	43

Anexo G – Peso corporal dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias.

Trinca-ferro	Peso (g)
15	42
16	36
20	46
21	44
23	47
28	48
31	46
38	44
40	41
41	44
43	49
44	43
45	51
47	42
50	47
51	50
57	49
59	50
61	51
63	45
66	43
69	47
70	44
71	45
73	47
75	44
76	55
77	47
81	45
100	39
106	44
109	40
110	40

**Anexo H – Alterações clínicas dos trinca-ferros (*S. similis*) positivos para microfilárias.
(continua)**

Trinca-ferro	Alterações Clínicas
1	Lesão em peito, ausência de penas na cauda
2	Escoriação em face, ausência de penas na cauda
3	Escoriação em face, ausência de penas na cauda
4	Escoriação em face
5	Escoriação em face
6	Sem alterações digna de nota
7	Escoriação em face, hematoma no peito
8	Placas brancas na cavidade oral
9	Escoriação em face, empenamento deficiente, lesão em peito, fezes aderidas em penas pericloacal
10	Lesão de apoio em tarso bilateral
11	Ausência de penas na cabeça
13	Escoriação em bico, empenamento deficiente
14	Lesão em peito e membro inferior direito, formação de calo no tarso, empenamento deficiente
17	Escoriação em volta do bico, presença de piolhos
18	Presença de piolhos
22	Sem alterações digna de nota
24	Sem alterações digna de nota
25	Placas brancas na cavidade oral
27	Placas brancas próximas a comissura do bico, presença de piolhos
29	Sem alterações digna de nota
30	Sem alterações digna de nota
32	Sem alterações digna de nota
33	Diarreia
34	Sem alterações digna de nota
35	Sem alterações digna de nota
36	Presença de piolhos
37	Sem alterações digna de nota
39	Escoriação em volta do bico, ausência de penas no pescoço
49	Sem alterações digna de nota
54	Sem alterações digna de nota
55	Sem alterações digna de nota
56	Sem alterações digna de nota
58	Sem alterações digna de nota
62	Sem alterações digna de nota
64	Sem alterações digna de nota
78	Sem alterações digna de nota
83	Sem alterações digna de nota
84	Sem alterações digna de nota

Anexo H – Continuação.

86	Sem alterações digna de nota
88	Descamação de bico, hiperqueratose nos pés, esforço respiratório, hérnia abdominal
89	Sem alterações digna de nota
93	Sem alterações digna de nota
96	Sem alterações digna de nota
101	Sem alterações digna de nota
102	Sem alterações digna de nota
103	Sem alterações digna de nota
105	Pododermatite
108	Sem alterações digna de nota

Anexo I – Alterações clínicas dos trinca-ferros (*S. similis*) negativos para microfilárias.

Trinca-ferro	Alterações Clínicas
15	Escoriação no bico, formação de calo no tarso
16	Escoriação em volta do bico, pododermatite, presença de piolhos
20	Placa branca na coana, ausência de penas na asa esquerda
21	Mucosa oral hiperêmica, escoriação em volta do bico, ausência de penas na cauda
23	Placa branca na coana
28	Sem alterações digna de nota
31	Sem alterações digna de nota
38	Sem alterações digna de nota
40	Sem alterações digna de nota
41	Sem alterações digna de nota
43	Sem alterações digna de nota
44	Sem alterações digna de nota
45	Sem alterações digna de nota
47	Sem alterações digna de nota
50	Sem alterações digna de nota
51	Sem alterações digna de nota
57	Sem alterações digna de nota
59	Sem alterações digna de nota
61	Sem alterações digna de nota
63	Sem alterações digna de nota
66	Sem alterações digna de nota
69	Sem alterações digna de nota
70	Sem alterações digna de nota
71	Sem alterações digna de nota
73	Sem alterações digna de nota
75	Sem alterações digna de nota
76	Sem alterações digna de nota
77	Sem alterações digna de nota
81	Sem alterações digna de nota
100	Descamação de bico
106	Lesão em membro inferior esquerdo
109	Sem alterações digna de nota
110	Sem alterações digna de nota
