



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE HUMANA E MEIO AMBIENTE

EWERTON FYLIPE DE ARAÚJO SILVA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E MORFOLÓGICA DO
TRATO INTESTINAL DE GAVIÕES-CARIJÓS
(*Rupornis magnirostris* GMELIN, 1788)
PROVENIENTES DO CETAS-IBAMA/PE**

Vitória de Santo Antão
2016

EWERTON FYLIPE DE ARAÚJO SILVA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E MORFOLÓGICA DO
TRATO INTESTINAL DE GAVIÕES-CARIJÓS
(*Rupornis magnirostris* GMELIN, 1788)
PROVENIENTES DO CETAS-IBAMA/PE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente.

Área de Concentração: Biologia da Conservação.

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Garcia

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Carolina Peixoto Magalhães

**Vitória de Santo Antão
2016**

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB4: 2018

S586a Silva, Ewerton Fylipe de Araújo
Análise microbiológica e morfológica do trato intestinal de gaviões-carijós
(*Rupornis magnirostris* GMELIN, 1788) provenientes do CETAS-IBAMA/PE /
Ewerton Fylipe de Araújo Silva. - 2016.

xv + 68 folhas: il.

Orientador: José Eduardo Garcia
Coorientadora: Carolina Peixoto Magalhães
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV,
Programa e Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, 2016.

Inclui bibliografia.

1. Ave de rapina - hábito alimentar. 2. Microbiologia - aves. 3. Histologia –
aves. I. Garcia, José Eduardo (Orientador). II. Magalhães, Carolina Peixoto
(Coorientadora). III. Título.

579 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-045/2016



Dissertação de Mestrado apresentada por **Ewerton Fylype de Araújo Silva** ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, sob o título “**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E MORFOLÓGICA DO TRATO INTESTINAL DE GAVIÕES-CARIJÓS (*RUPORNIS MAGNIROSTRIS*, GMELIN, 1788) PROVENIENTES DO CETAS-IBAMA/PE**”, orientada pelo Prof. Dr. José Eduardo Garcia e coorientada pela Prof.^a Dr.^a Carolina Peixoto Magalhães, aprovada no dia 1º de março de 2016 pela Banca Examinadora composta pelos seguintes professores:

Dr. José Eduardo Garcia
Núcleo de Biologia – CAV/UFPE

Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior
Núcleo de Biologia – CAV/UFPE

Dr.^a Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenorio
Centro Acadêmico do Agreste – UFPE

Autor

Ewerton Fylype de Araújo Silva

Dedico esta dissertação aos meus Pais, Edivan e Sônia, e meus irmãos Emerson, Claudeane e Clarysse pelo grande amor por eles e por serem as pessoas mais especiais que Deus colocou na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é resultado da colaboração e do esforço de uma equipe que se formou com a ideia de trabalhar com animais silvestres. Aos poucos, por amizade, curiosidade, profissionalismo, afinidade, interesse e necessidade, a equipe vem crescendo e se aperfeiçoando e com certeza esse é o início de grandes pesquisas. Sozinho não seria capaz de conseguir realizar esse trabalho, de forma alguma!

Como em qualquer elaboração de lista, corremos o risco de esquecer alguém importante, desde já peço desculpas pelo eventual esquecimento.

Sou sinceramente grato, em especial:

À **Deus** por seu infinito amor, que mesmo sem eu merecer me concede a graça de conquistar muitos sonhos em todas as etapas da minha vida e da minha carreira profissional.

Ao Prof. **José Eduardo Garcia**, pela orientação, por toda a confiança depositada, incentivo, por acolher toda a nossa equipe e dar toda a ajuda necessária para a realização deste trabalho. Como também por sua grande contribuição na minha formação.

À Prof^a **Carolina Peixoto Magalhães**, pela orientação, incentivo, persistência, paciência e, certamente por ser uma das pessoas que formaram a minha base como professor. Agradeço ainda por acreditar no meu potencial para a realização deste trabalho.

Aos professores colaboradores: **Francisco Amanajás** e **Isabella Macário**, pelo excelente profissionalismo e contribuição substancial em todas as técnicas utilizadas. Além da grande amizade, apoio, incentivo, ensinamentos e paciência.

À **Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Centro Acadêmico de Vitória (CAV)** pela oportunidade de realizar este trabalho e de poder fazer parte dessa família.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente (PPGSHMA)** pelo apoio e infraestrutura disponibilizada, além de excelentes professores e colegas de trabalho que me auxiliaram em todo esse tempo.

Ao **CETAS IBAMA-PE** por nos conceder os espécimes e por sempre nos dar todo o apoio necessário.

A **todos os Técnicos de laboratório do CAV** em especial a **André Pukey** e **Rosane Galvão**, como também a todos os professores do Laboratório de Anatomia: **Lisiane dos Santos**, **Ana Elisa Toscano**, **Rosana Ximenes** e **Taciana Rocha** por todo apoio profissional e pela grande amizade formada desde a minha chegada à universidade.

À toda **Equipe de Pesquisa com Aves de Rapina** em especial **Kleber Fraga, Jaiurte Martins, Wellington Maurício, Fernanda Alda, Bruna Ferreira, Michelle Silvia, Maria Rosana, Rita Reis** que colocaram a “mão na massa” literalmente, em todas as partes desse trabalho. Valeu galera essa vitória é nossa!

À **Joanna Francyne** e **Pérola Paloma** pelo apoio dado com os experimentos de microbiologia.

À minha noiva **Adriane Fernandes** por toda ajuda, paciência e incentivo em todas as áreas da minha vida.

A todos os Meus Amigos da **Juventude TM412**, da “**Praçinha**” e todos os outros, pelo apoio, incentivo e força em toda essa caminhada e por terem me ajudado a ser a pessoa que sou.

À minha **turma da Pós-graduação**, pelo convívio, superando dificuldades e obstáculos encontrados, e por todos os momentos que vivemos durante todo esse tempo.

Por fim agradeço à **minha família** pelo apoio incondicional às minhas decisões profissionais, além do enorme suporte pessoal durante todo tempo da minha vida.

Enfim, à todos que contribuíram de forma direta ou indireta, no desenvolvimento deste trabalho ou na minha formação, como pessoa, amigo e profissional.

Teus, ó Senhor, são a grandeza, o poder, a glória, a majestade e o esplendor, pois tudo o que há nos céus e na terra é teu. Teu, ó Senhor, é o reino; tu estás acima de tudo. A riqueza e a honra vêm de ti; tu dominas sobre todas as coisas. Nas tuas mãos estão a força e o poder para exaltar e dar força a todos. Agora, nosso Deus, damos-te graças, e louvamos o teu glorioso nome.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1.....	01
1.1	INTRODUÇÃO.....	01
1.2	OBJETIVOS.....	03
1.2.1	Objetivo Geral.....	03
1.2.2	Objetivos Específicos.....	03
1.3	REVISÃO DA LITERATURA.....	03
1.3.1	AVES DE RAPINA.....	03
1.3.1.1	Características Gerais.....	03
1.3.1.2	Aves de Rapina Diurnas.....	04
1.3.1.3	Características gerais do Gavião-carijó.....	05
1.3.1.4	Taxonomia do Gavião-carijó.....	05
1.3.2	SISTEMA DIGESTÓRIO DAS AVES.....	06
1.3.3	CAUSAS DE MORBIDADE E MORTALIDADE EM AVES DE RAPINA.....	08
1.3.3.1	Principais ameaças.....	08
1.3.4	INFECÇÕES DE AVES DE RAPINA DE CATIVEIRO.....	09
1.3.4.1	Principais micro-organismos que causam infecções em rapinantes.....	09
	CAPÍTULO 2.....	11
2.1	Artigo 1	
	Enterobactérias isoladas da cloaca de Gaviões-carijós (<i>Rupornis magnirostris</i> , GMELIN, 1788) cativos e seu perfil de susceptibilidade a antimicrobianos.....	11
	Resumo.....	13
	Abstract.....	14
	Introdução.....	15
	Material e métodos.....	16
	Resultados e discussão.....	17
	Referências.....	23
	CAPÍTULO 3.....	28
3.1	Artigo 2	
	Morfometria macroscópica e histologia do trato intestinal de Gaviões-carijós (<i>Rupornis magnirostris</i> , GMELIN, 1788).....	28
	Resumo.....	30
	Abstract.....	31

	Introdução.....	32
	Material e métodos.....	33
	Resultados.....	34
	Discussão.....	42
	Conclusão.....	45
	Referências.....	45
1.4	DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	ANEXOS.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Gavião-carijó (<i>Rupornis magnirostris</i>) (http://bonitobirdwatching.blogspot.com.br)	05
Figura 3.1	Trato digestório do Gavião-carijó (<i>Rupornis magnirostris</i>) dissecado.	34
Figura 3.2	Percentual de massa das porções do trato intestinal dos Gaviões-carijós.	35
Figura 3.3	Percentual do comprimento das porções do trato intestinal dos Gaviões-carijós.	36
Figura 3.4	Fotomicrografia do trato intestinal do Gavião-carijó: A) Corte transversal do Íleo evidenciando as vilosidades (★), com epitélio simples colunar (1), possuindo enterócitos (formando a borda em escova/estriada) e células caliciformes (seta), e dando sustentação a vilosidade tem a camada da lâmina própria (2). Aumento de 400x, HE. B) Corte Transversal do Íleo Apresenta os mesmos componentes encontrados na região do Duodeno e Jejunum, porém ocorre uma redução do tamanho das vilosidades ({}), com isso, pode-se notar a presença de glândulas intestinais (▲), aumento de 100x, HE. C) Corte transversal do Íleo. Apresentando as outras camadas que compõe o trato intestinal: muscular da mucosa (compõe a camada da mucosa) (1), muscular interna com seus feixes musculares (2) e a muscular externa com seus feixes longitudinais (3), aumento de 400x, P.A.S. D) Corte transversal do Duodeno. Na Camada da Mucosa ({}), observou-se a presença de grandes vilosidades (★), aumento de 100x, HE. E) Corte transversal do Jejunum apresentando a última camada do trato intestinal a serosa, formada por mesotélio (1), com ducto associados (seta), aumento de 400x, HE.	39
Figura 3.5	Fotomicrografia do trato intestinal do Gavião-carijó: A) Corte transversal do Ceco. Poucas vilosidades ({}), são encontradas, mas a camada da mucosa se destaca pelo seu tamanho, com isso apresenta e nódulos linfáticos (com centros germinativos) (★), aumento de 50x, P.A.S. B) Corte transversal do Cólon/Reto. Apresenta pregas longitudinais (seta) e nelas suas vilosidades (★), em que na camada da mucosa, podem-se observar glândulas intestinais (▲); essas pregas são formadas a partir de tecido muscular (1) que se projeta para a luz intestinal, aumento 100x, HE. C) Corte transversal da Cloaca. Essa região é a parte cranial que se diferencia pelo seu tipo de epitélio estratificado colunar (seta) e logo abaixo a lâmina própria (★), aumento de 400x, HE. D) Corte transversal da cloaca. Apresenta um tipo de epitélio estratificado não queratinizado (seta), aumento de 100x, HE. E) Corte transversal da cloaca. Apresenta um tipo de epitélio estratificado queratinizado (seta), aumento de 400x, HE.	40
Quadro 3.1	Resumo comparativo entre as diferentes regiões do Trato Intestinal do Gavião-carijó (<i>Rupornis magnirostris</i>).	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Enterobactérias isoladas em amostras de swabs cloacais dos Gaviões-carijós (<i>Rupornis magnirostris</i>) provenientes do CETAS-IBAMA-PE, Vitória de Santo Antão - PE, 2014.	18
Tabela 2.2	Percentual de susceptibilidade a agentes antimicrobianos de <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Salmonella</i> spp. isoladas da cloaca do Gavião-carijó (<i>Rupornis magnirostris</i>) provenientes do CETAS-IBAMA-PE, Vitória de Santo Antão - PE, 2014.	22
Tabela 3.1	Peso (g) dos Gaviões-carijós, das porções do intestino delgado e grosso e do intestino completo.	35
Tabela 3.2	Percentual (%) de massa do trato intestinal relacionado ao peso corporal do Gavião-carijó.	35
Tabela 3.3	Comprimento (cm) das porções do intestino delgado e grosso e do intestino completo do Gavião-carijó.	36
Tabela 3.4	Comprimento (cm) dos cecos esquerdo e direito do Gavião-carijó.	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CETAS	Centro de Triagem de Animais Silvestres
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisa
DP	Desvio Padrão
HE	Hematoxilina e eosina
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IUCN	<i>International Union for Conservation of Nature</i>
NBF	<i>Neutral Buffered Formalin</i>
PAS	Ácido Periódico de <i>Schiff</i>
PE	Pernambuco
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de Carbono
g	Grama
h	Horas
H ₂ S	Sulfeto de Hidrogênio
Kg	Quilograma
mg	Miligrama
mL	Mililitro
n	Número de amostras
pH	Potencial Hidrogeniônico

RESUMO

O Gavião-carijó, assim como várias outras aves de rapina são importantes agentes no funcionamento de vários biomas, pois são predadores de topo, influenciando no equilíbrio das populações de várias espécies. Conhecer e entender as características morfométricas e histológicas do trato intestinal, assim como as enterobactérias presentes e relacionar esses fatores ao hábito alimentar desta espécie fazem parte de um conjunto de questões essenciais que influenciam diretamente os estudos de biologia da conservação. Esse tema ganha ainda mais importância não só pela escassez de informações referentes a este animal, mas também, pela influência que esta ave pode causar na saúde pública, uma vez que o Gavião-carijó é um animal bem adaptado nos centros urbanos podendo ser um vetor de microorganismos infecciosos. Dessa maneira, a presente dissertação teve como objetivo principal analisar ram utilizados 12 espécimes. Destes, nove foram destinados à análise microbiológica, seis para análise morfométrica e seis para análise histológica. As seguintes espécies de bactérias foram isoladas das amostras cloacais: *Escherichia coli* (77,8%), *Klebsiella oxytoca* (11,1%), *Klebsiella pneumoniae* (11,1%) e *Salmonella* spp. (55,6%). Dentre as cepas isoladas, algumas apresentaram resistência a até três antimicrobianos. Sob o aspecto morfológico, o trato intestinal desta ave apresentou características peculiares. Em comparação com aves do mesmo grupo, o trato intestinal possui uma massa maior e com a porção colo/reto/cloaca mais comprida, corroborando com as características morfofuncionais do seu hábito alimentar. Os intestinos apresentaram epitélio colunar simples com microvilosidades, rico em células caliciformes e lâmina própria espessa formando vilosidades alongadas. Cecos vestigiais com centros germinativos, e na cloaca uma zona epitelial de transição passando a ser epitélio pavimentoso estratificado queratinizado. Este estudo mostrou que esta ave pode ser um vetor de enterobactérias de importância na saúde pública, devido aos isolados registrados. Fato que se torna ainda mais importante devido à ocorrência de cepas com perfil de resistência a agentes antimicrobianos. Além de evidências de que o trato intestinal do Gavião-carijó apresenta características morfométrica e histológicas peculiares, que estão correlacionadas ao seu comportamento e hábito alimentar. O que sugere que esta ave apresente um trato intestinal com um esvaziamento lento, porém com eficiente absorção de nutrientes devido às longas vilosidades, uma necessidade maior de absorver água e eletrólitos na porção final, além de não necessitar de fermentação microbiana para digestão de celulose.

Palavras-Chave: ave de rapina, hábito alimentar, microbiologia, morfometria, histologia.

ABSTRACT

The Roadside hawk, as many others birds of prey are important agents at the operation of many biomes, because they are top predators, influencing the balance of populations of many species. Know and understand the morphometric and histological characteristics of intestinal tract, as well as enterobacteria present and relate these factors to the eating habit of this species are part of a set of key issues that directly influence the biology studies of conservation. This issue becomes even more important, not only for the lack of information regarding this animal, but also the influence that this bird can make on public health, since the roadside hawk is a well-adapted animals in urban centers can be a vector of infectious microorganisms. This way, the present work aimed to analyze the microbiology and the macroscopic and microscopic morphology of the intestinal tract of roadside hawks. Twelve specimens were used. Of these, nine were destined for microbiological analysis, six for morph metric analysis and six for histological analysis. The following bacterial species were isolated from cloacal samples: *Escherichia coli* (77,8%), *Klebsiella oxytoca* (11,1%), *Klebsiella pneumoniae* (11,1%) e *Salmonella* spp. (55,6%). Among the isolates, some were resistant to up to three antimicrobials. Under the morphological aspect, the intestinal tract of the bird had peculiar characteristics. In comparison with birds of the same group, the intestinal tract has a bigger mass and with the portion colon/rectum/cloacae longer, corroborating the morphological and functional characteristics of their eating habits. The intestines had simple columnar epithelium with microvillus, rich in goblet cells and thick lamina proper forming elongated villous. Cecum trace with germinal centers, and on cloacae a epithelial transition zone becoming squamous stratified keratinized epithelium. This study showed that this bird can be a enterobacteria vector importance in public health, due to reported isolates. This fact that becomes even more important due to the occurrence of strains with resistance profile to antimicrobial agents. As well as evidence that the intestinal tract of the roadside hawk has unique morphological and histological characteristics that are correlated with their behavior and eating habits. This suggests that this bird presents an intestinal tract with a slow emptying, but with efficient absorption of nutrients due to the long villous, a greater need to absorb water and electrolytes in the end portion, and do not require microbial fermentation to cellulose digestion.

Keywords: birds of prey, eating habits, microbiology, morphometry, histology.

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

O território brasileiro é conhecido mundialmente por sua grande diversidade, tanto na sua flora, quanto na fauna, possuindo um elevado número de grupos taxonômicos (ICMBio, 2008). Contudo, o aumento exacerbado da ação antrópica no ambiente vem promovendo alterações nos biomas do país, dentre elas a perda e a fragmentação de habitat de vários grupos animais, a exemplo do das aves. Essas alterações provocam uma vulnerabilidade no ambiente, ameaçando a permanência dessas espécies em seu habitat natural (RAMOS; BENEDITO; ZAWADZKI, 2011), prejudicando a manutenção e funcionamento de cadeias alimentares, já que grupos de aves como as de rapina, são importantes agentes bióticos no funcionamento de todo um bioma (RICKLEFS; MILLER, 2000).

Fazendo parte do grupo das aves de rapina, o Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*) é caracterizado por apresentar bico curvo e afiado, garras bem desenvolvidas e fortes, além de uma excelente visão e audição, conferindo a esse animal habilidade de caça (BROWN, 1997). Pelo seu destaque no funcionamento de cadeias alimentares, as aves de rapina são consideradas um dos principais grupos indicadores da qualidade ambiental (FERGUSON-LESS; CHRISTIE, 2001).

Segundo Tortato (2009), essas aves apresentam um hábito alimentar de típico caçador oportunista, constituída de grandes insetos, alguns répteis, anfíbios, pequenas cobras e pássaros, tais como rolas (*Zenaida auriculata*) e pardais (*Passer domesticus*), podendo também capturar morcegos em seus pousos diurnos (ROBINSON, 1994; SICK, 1997). A necessidade de alimento diário destas aves varia de acordo com a estação climática e com o seu tamanho corpóreo (GRANZINOLLI, 2003). Essa diversidade alimentar pode ser reflexo da estrutura e/ou complexidade do habitat, do tipo de presa e, principalmente das adaptações morfológicas. Tais adaptações morfológicas e/ou comportamentais permitem que determinadas espécies sejam capazes de pregar vários tipos de presas (GRANZINOLLI, 2003).

O gavião-carijó é encontrado na América Latina, desde o México até a Argentina (SANTOS; ROSADO, 2009; SANTOS; COPATTI; ROSADO, 2009). Atualmente, não é considerado ameaçado de extinção segundo IUCN (2013), sendo o gavião mais abundante e bem distribuído no Brasil (SICK, 1997). Com hábitos diurnos e comportamento territorialista (SICK, 1997; FERGUSON-LESS; CHRISTIE, 2001), essa ave habita ampla

variedade de ambientes, como: áreas abertas e florestadas, regiões próximas ao mar e até locais com mais de 3000m de altitude, como nos Andes, sendo também observado com muita frequência nas áreas urbanas, devido à sua ampla capacidade adaptativa (PIRATELLI; ANDRADE; LIMA FILHO, 2005; CURCINO; HEMING; FERABOLI, 2009; SANTOS; COPATTI; ROSADO, 2009; TORTATO, 2009).

As aves de rapina também podem ser acometidas por variadas infecções, fúngicas e/ou bacterianas, apresentando corpos estranhos ou alterações em seu trato digestório (PINTO; VICENTE; NORONHA, 2007), que proporcionem doenças infecciosas. Segundo Cooper (2002), essas são causas comuns de morte em rapinantes.

Muitas espécies de eterobactérias são isoladas de aves de rapina e nem sempre existe uma distinção clara entre a microbiota normal e a microbiota contaminante ou exógena. Contudo, micro-organismos oportunistas podem causar enfermidades em hospedeiros com comprometimento do sistema imune, podendo levar o animal à morte (COOPER, 2002). Fazendo parte desse quadro de agentes bacterianos mais frequentemente associados à enfermidades em rapinantes estão: *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Mycobacterium avium*, *Pasteurella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. (SORUM, SUNDE, 2001). Sendo alguns desses agentes, altamente preocupantes também à saúde humana podendo este animal, ser um vetor de doenças infecciosas.

O conhecimento da biomorfologia intestinal do Gavião-carijó poderá fornecer informações importantes para as relações entre as espécies, e conservação de todo um bioma, pois segundo Machado (2006), o conhecimento das espécies de animais, sua biologia e suas relações com outros organismos vivos é de fundamental importância para a manutenção dos biomas. Além do que, esses animais são agentes bióticos na manutenção e funcionamento das comunidades as quais pertencem, sendo muitas vezes denominados predadores de topo (RICKLEFS; MILLER, 2000). Não obstante, o fato de estes animais serem bem adaptados aos centros urbanos, relacionando-se com os seres humanos e outras espécies animais, inclui esse estudo como relevante também para a saúde pública (CURCINO; HEMING; FERABOLI, 2009).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Analisar a microbiologia e a morfologia macro e microscópica do trato intestinal de Gaviões-carijós (*Rupornis magnirostris*).

1.2.2 Objetivos específicos

- Analisar microbiologicamente a cloaca, para identificação da presença de enterobactérias.
- Analisar a suscetibilidade das bactérias identificadas aos antimicrobianos;
- Descrever e analisar a morfometria macroscópica dos intestinos (duodeno, jejuno e íleo), cecos, cólon/reto e cloaca;
- Descrever e analisar a histologia dos intestinos (duodeno, jejuno e íleo), cecos, cólon/reto e cloaca;
- Relacionar as informações com o habito alimentar desta ave.

1.3 REVISÃO DA LITERATURA

1.3.1 AVES DE RAPINA

1.3.1.1 Características gerais

Parte do grupo das aves tem a capacidade de predar outros animais, tanto invertebrados como vertebrados, porém o termo aves de rapina (rapina = raptar, aves que raptam) é essencialmente aplicado a um grupo específico de aves carnívoras que apresentam adaptações para a caça ativa (FERGUSON-LESS; CHRISTIE, 2001).

As aves de rapina apresentam o bico curvo bem desenvolvido e afiado, adaptado ao ato de dilacerar a presa capturada. As garras e tarsos, em geral, são poderosos e fortes, dependendo do tipo de presa que o animal se alimenta. A audição também é desenvolvida, juntamente com a visão. Sendo esta última uma das adaptações mais relevantes, já que

esse grupo de aves apresenta olhos voltados para frente, além de serem proporcionalmente grandes em relação à cabeça, melhorando a noção de distância e profundidade, conferindo uma capacidade de enxergar uma presa até três quilômetros de distância (BROWN, 1997; FERGUSON-LESS; CHRISTIE, 2001; MENQ, 2011).

Os rapinantes não formam um grupo monofilético, pois agrupam aves que pertencem a linhagens evolutivas diferentes. Sendo representados por quatro ordens: Strigiformes (corujas), Falconiformes (falcões e carcarás), Cathartiformes (urubus e condores) e Accipitriformes (águias e gaviões). Devido a uma distinção no hábito, já que algumas aves apresentam atividade predatória noturna e outras diurnas, o grupo dessas aves é subdividido, de acordo com o ciclo circadiano em: noturno, representado pela ordem Strigiformes, e diurno, representado pelas ordens Falconiformes, Cathartiformes e Accipitriformes, onde se encontra o Gavião-carijó (HACKETT *et al.*, 2008).

1.3.1.2 Aves de rapina diurnas

As aves de rapina diurnas são representadas por aproximadamente 340 espécies distribuídas em todo o mundo, e o hábito de caça é uma adaptação crucial, porém, as características ecológicas, morfológicas e comportamentais compartilhadas entre esses animais revelam a sua importância ecológica em vários biomas (FERGUSON-LESS; CHRISTIE, 2001).

Sua distribuição é cosmopolita, ou seja, habitam os mais variados ambientes, desde lugares extremos como desertos e tundras árticas, até florestas tropicais úmidas (FERGUSON-LESS; CHRISTIE, 2001). São animais predadores de níveis tróficos superiores nas teias tróficas das comunidades bióticas e a relação predador-presa lhes confere uma relação estreita com o equilíbrio dos ecossistemas (THIOLLAY, 1994; RICKLEFS; MILLER, 2000). A população dessas aves depende totalmente da abundância das presas, podendo afetar a densidade de territórios e o sucesso reprodutivo das mesmas (NEWTON, 1979). Em contrapartida, esses predadores de níveis superiores tem a capacidade de limitar a abundância de espécies dos outros níveis tróficos, tendo um papel importante na manutenção e funcionamento das comunidades, evitando muitas vezes, superpopulações (RICKLEFS; MILLER, 2000; SERGIO *et al.*, 2008).

1.3.1.3 Características gerais do Gavião-carijó

O gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*) é uma ave de rapina diurna pertencente ao filo Chordata, classe Aves, ordem Accipitriformes, família Accipitridae, sendo também conhecido como gavião pega pinto ou indaié (PINTO; VICENTE; NORONHA, 1994). Apresenta uma grande variação de cores na plumagem, que se modifica conforme a região do país. No entanto, destaca-se o peito com listras finas transversais em direção a cauda, nessa há várias faixas claras em contraste com as faixas cinza escuras ou negras (ANTAS, 2005), caracterizando seu nome popular de “Gavião-Carijó” (SICK, 1988; SANTOS; ROSADO, 2009; SANTOS; COPATTI; ROSADO, 2009) (Figura 1.1).



Figura 1.1 - Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*)

Fonte: (<http://bonitobirdwatching.blogspot.com.br>)

1.3.1.4 Taxonomia do Gavião-carijó

A família à qual pertence essa ave (Accipitridae) é um grupo altamente diversificado de aves que apresentam um comportamento predatório ou necrófago. Há cerca de 260 espécies na família, alocadas em 67 gêneros, distribuídas amplamente em vários habitats (FERGUSON-LESS; CHRISTIE, 2001; GILL; DONSKER, 2014). Tradicionalmente todas as aves de rapina diurnas pertenciam à ordem dos Falconiformes, porém estudos moleculares de Ericson *et al.* (2006) e Hackett *et al.* (2008) encontraram a monofilia em um grupo de “Falconiformes” composto por Cathartidae, Sagittariidae, Pandionidae e Accipitridae, sendo esses inclusos na nova ordem Accipitriformes.

O Gavião-carijó foi descrito por diversos autores como pertencente ao gênero *Buteo* (PINTO; VICENTE; NORONHA, 1994; AZEVEDO; MACHADO; ALBUQUERQUE, 2003; LUNASCHI; DRAGO, 2006; MELO, *et al.* 2013), contudo, estudos moleculares mostraram que esta espécie é a mais primitiva do seu antigo gênero, “*Buteo*”, razão pela qual ganhou um gênero próprio: *Rupornis* (RIESING *et al.*, 2003; LERNER; KLAVER; MINDELL, 2008), havendo a mudança na nomenclatura da espécie para *Rupornis magnirostris*.

1.3.2 SISTEMA DIGESTÓRIO DAS AVES

As aves em geral apresentam um sistema digestório formado basicamente pelos seguintes componentes: bico, orofaringe, língua, esôfago, inglúvio (papo), estômago glandular (pró-ventrículo), estômago mecânico (moela), intestino delgado dividido em: duodeno, jejuno e íleo, dois cecos originados na junção íleo-ceco-cólica, cólon/reto, esse último terminando na cloaca. Todo este sistema digestório apresenta características estruturais que possibilitam a apreensão, deglutição, passagens e alterações físico-químicas do alimento, absorção dos produtos oriundos da digestão e a excreção (BOARO, 2009).

De acordo com Pough *et al.* (2008), esse sistema digestório apresenta algumas diferenças em relação aos outros vertebrados. A ausência de dentes e da habilidade de mastigação impede as aves de realizar o processamento do alimento na boca, conferindo essa tarefa ao aparato gástrico (POUGH *et al.*, 2008).

O sistema digestório se inicia com a língua, que é uma estrutura triangular formada por musculatura estriada, revestida por epitélio pavimentoso estratificado, o qual dá continuidade com a mucosa que reveste a cavidade bucal (BOARO, 2009). Continuando com a orofaringe que é uma cavidade combinada que se estende do bico até o esôfago, já que as aves não apresentam palato mole para separar a cavidade oral da faringe (DYCE *et al.*, 1997).

O esôfago é um órgão cilíndrico com glândulas mucosas que lubrificam o alimento e apresentam grande capacidade de distensão. A sua função é conduzir o bolo alimentar da orofaringe para o inglúvio (papo) (PENZ; MAGRO, 1998), que tem a função de armazenar e amolecer o bolo alimentar. Muitas vezes as aves coletam mais alimentos do que elas podem processar em um período curto e o excesso é mantido no esôfago. Muitas aves têm um inglúvio, porção dilatada do esôfago especializada para armazenar, temporariamente, o alimento. O inglúvio de algumas aves é uma simples expansão do esôfago, enquanto que em outras é uma estrutura unilobada ou bilobada (POUGH *et al.*, 2008).

Normalmente o aparato gástrico das aves consiste em duas câmaras distintas: o proventrículo (estômago glandular cranial) e o ventrículo ou moela (estômago muscular caudal). O proventrículo é formado por glândulas secretoras de muco, de pepsinogênio e ácido clorídrico que tem a função de promover a digestão química do bolo alimentar (ITO, 1997). Já a moela, é um órgão que apresenta várias funções, inclusive a de estocagem de alimento, porém a sua função primordial é o processamento mecânico do alimento (POUGH *et al.*, 2008).

Os intestinos ocupam a parte caudal da cavidade corpórea permanecendo em extenso contato com a moela e os órgãos reprodutivos, ficando ventral ao sinsacro e abrindo-se na cloaca. Os dois cecos originam-se na junção íleo-ceco-cólica e acompanham o íleo de modo retrógrado (DYCE *et al.*, 1997).

O intestino delgado é responsável pelo processo de digestão e absorção dos nutrientes contidos nos alimentos, sendo ele constituído por três porções: duodeno, jejuno e íleo (PIRLOT, 1976). O duodeno é a primeira porção e forma um laço em torno do pâncreas, se limitando até onde sua associação com o pâncreas termina. O jejuno dá continuidade ao intestino delgado até o divertículo vitelínico (ou divertículo de Meckel), que é remanescente do saco vitelínico, dando continuidade com o íleo finalizando na junção íleo-ceco-cólica (GODOY, 2013).

O intestino grosso é relativamente curto, sua principal função é estocar material para ser excretado e reabsorver água e eletrólitos. Nos cecos ocorre a fermentação microbiana das fibras celulósicas. Há diferenças notáveis no tamanho do ceco entre as espécies de aves, desde volumosos e dispostos em pares, para rudimentares ou ausentes. O *Gallus domesticus* apresenta cecos desenvolvidos que tem a função de permitir a digestão de carboidratos estruturais, através da fermentação microbiana (BOARO, 2009). Patos, gansos, mergulhões (Podicipedidae) e aves corredoras têm cecos grandes e histologicamente muito semelhantes aos intestinos (GODOY, 2013). Ratitas, perdizes e codornas possuem grandes cecos saculados, já as corujas possuem cecos glandulares, ao passo que os passeriformes e columbiformes (pombos) apresentam cecos linfoepiteliais (GODOY, 2013). Fraga (2013) em análise morfométrica do trato intestinal do Carcará observou cecos pouco desenvolvidos (vestigial) quando comparado ao de outras aves. Espécies herbívoras e onívoras têm cecos altamente desenvolvidos, mostrando que sua presença e desenvolvimento estão diretamente relacionados à alimentação. Em algumas espécies, como a coruja, o ceco está presente e serve para absorver água e nitrogênio e realizar imunomodulação (GODOY, 2013).

O cólon/reto é um tubo curto e estreito que se estende da junção íleo-ceco-cólica finalizando na cloaca, a qual é um segmento comum aos sistemas digestório, urinário e reprodutor (MORAN, 1982), sendo dividido em três compartimentos: urodeu (trato urinário e genital final), coprodeu (trato digestivo final) e proctodeu (contém a bolsa cloacal, formada por tecido linfóide) (GODOY, 2013).

De acordo com Godoy (2013), todo o trato digestório das aves apresenta adaptações morfológicas relacionadas ao seu hábito alimentar. Nas espécies que consomem alimentos moles e de fácil digestão (frutas, néctar), ele é curto e simples. Aves como o Gavião-carijó, que consomem alimentos que necessitam de digestão enzimática (carne e presas) têm grandes estômagos e intestinos relativamente pequenos. As que consomem alimentos fibrosos, como gramíneas e vegetais, têm cecos desenvolvidos para acomodar uma grande quantidade de bactérias para fermentação e digestão da celulose (GODOY, 2013). Estudos morfométricos realizados por Cherry e Siegel (1978) verificaram que frangos de corte com trato digestório mais pesados, apresentavam uma menor velocidade de esvaziamento gastrointestinal, permitindo assim, maior exposição dos nutrientes às células de absorção.

1.3.3 CAUSAS DE MORBIDADE E MORTALIDADE EM AVES DE RAPINA

1.3.3.1 Principais ameaças

Segundo o Plano de Ação Nacional para a Conservação de Aves de Rapina (ICMBio, 2008) as principais ameaças à sobrevivência de populações dessas aves estão relacionadas as ações antrópicas que resultam em perda, fragmentação e degradação de habitat, além da caça, tráfico, superstição, perseguição e conflitos com o homem devido ao avanço descontrolado da urbanização. As ações antrópicas tornam o ambiente vulnerável, ameaçando a permanência de várias espécies em seu habitat natural, devido à falta de alimento (RAMOS; BENEDITO; ZAWADZKI, 2011), o que favorece a sua migração para os centros urbanos, já que algumas espécies, como o Gavião-carijó, têm facilidade de se adaptar a esses ambientes (CURCINO; HEMING; FERABOLI, 2009). Como resultado há um aumento da taxa de morte decorrente de traumas, além de enfermidades infecciosas (bacterianas ou fúngicas) e parasitárias (ANDERY, 2011). Sendo às doenças infecciosas as causas mais comuns de doenças e morte nesse grupo de aves (KEYMER, 1972; COOPER, 2002).

1.3.4 INFECÇÕES DE AVES DE RAPINA DE CATIVEIRO

1.3.4.1 Principais micro-organismos que causam infecções em rapinantes

Várias doenças infecciosas, fúngicas e/ou bacterianas, podem acometer aves de rapina em cativeiro. Devido à dificuldade de distinguir claramente a microbiota normal e a microbiota contaminante ou exógena das aves de rapina, várias espécies de bactérias são isoladas, e micro-organismos oportunistas podem causar enfermidades no hospedeiro, comprometendo o seu sistema imune (COOPER, 2002).

Dentre os vários microorganismos infecciosos, fazem parte do quadro de agentes bacterianos mais frequentemente associados a enfermidades em rapinantes: *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Mycobacterium avium*, *Pasteurella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. (SORUM, SUNDE, 2001).

Essas infecções ocorrem principalmente pela ingestão de água ou alimento (presas ou carcaças infectadas), ou inalação da bactéria (CATÃO-DIAS; CARVALHO, 2007), além de artrópodes que também podem servir como vetores mecânicos. Segundo Godoy-Vitorino *et al.* (2008) não apenas a alimentação mas também o manejo dos espécimes pode ser uma porta de entrada para infecções.

Dentre os variados grupos de micro-organismos associados a processos infecciosos em aves de rapina, a família Enterobacteriaceae constitui um grupo grande e heterogêneo de bactérias gram-negativas. A sua nomenclatura é referente à sua localização habitual ser o intestino. Geralmente está associada a infecções intestinais, mas podem ser encontradas em quase todos os ambientes naturais, como por exemplo: o solo, água e vegetação, assim como participando da flora intestinal normal de muitos animais e dos seres humanos (GUERRERO *et al.*, 2014).

Os micro-organismos desta família têm a forma de bastão (bacilos), geralmente medindo 1-3 μm de largura e 0,5 μm de comprimento. Por serem bactérias gram-negativas, apresentam um envoltório de camadas múltiplas, sendo mais complexo do que as bactérias gram-positivas. A membrana citoplasmática (mais interna) é constituída por uma bicamada fosfolipídica que regula a passagem de nutrientes, metabolitos e macromoléculas. A parede celular (mais externa) é constituída por duas camadas: uma interna formada uma camada delgada de peptidoglicano juntamente com o espaço periplasmático, e a membrana externa formada por uma bicamada lipídica incluindo lipoproteínas, proteínas purinas multimétricas, outras proteínas da membrana externa e lipopolisacarídeos (LPS), sendo

esse último, o principal fator de virulência desse grupo de bactérias (PUERTA-GÁRCIA; MATEOS-RODRIGUEZ, 2010).

As enterobactérias também apresentam outras estruturas celulares: os flagelos, utilizados para a mobilidade, as fímbrias (pili comum) que têm a função de adesão, e o pili sexual relacionado com a transferência de material genético durante a conjugação bacteriana (PUERTA-GÁRCIA; MATEOS-RODRIGUEZ, 2010).

Os principais gêneros de enterobactérias que apresentam importância clínica são: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Shigella*, *Plesiomonas*, *Edwardsiella* e *Ewingella* (PUERTA-GÁRCIA; MATEOS-RODRIGUEZ, 2010).

CAPÍTULO 2

2.1 ARTIGO I

ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS DA CLOACA DE GAVIÕES-CARIJÓS (*Rupornis magnirostris*, GMELIN, 1788) CATIVOS E SEU PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

(Artigo aceito para publicação pelo Periódico *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*)

Cloacal enterobacteria isolated from captive Roadside Hawks (*Rupornis magnirostris*, GMELIN, 1788) and their antimicrobial susceptibility profile

Enterobactérias isoladas da cloaca de Gaviões-carijós (*Rupornis magnirostris*, GMELIN, 1788) cativos e seu perfil de susceptibilidade a antimicrobianos

Ewerton Fylype de Araújo SILVA¹, Joanna Francyne Silva de BARROS¹, Kleber Botelho FRAGA¹, Carolina Peixoto MAGALHÃES¹, José Eduardo GARCIA², Isabella Macário Ferro CAVALCANTI³

¹Laboratório de Anatomia, Centro Acadêmico de Vitória (CAV), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Vitória de Santo Antão-PE, Brazil, ²Laboratório de Biotecnologia e Fármacos, Centro Acadêmico de Vitória (CAV), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Vitória de Santo Antão-PE, Brazil, ³Laboratório de Microbiologia e Imunologia, Centro Acadêmico de Vitória (CAV), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Vitória de Santo Antão-PE, Brazil

*Corresponding author

Prof. Isabella Macário Ferro Cavalcanti

Universidade Federal de Pernambuco

Centro Acadêmico de Vitória

Rua do Alto do Reservatório s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

Tel: + 55 81 35233351; fax: +55 81 35233351

E-mail: bel_macario@yahoo.com.br

RESUMO

O conhecimento das enterobactérias presentes em Gavião-carijó pode trazer uma compreensão sobre as doenças infecciosas que podem acometer essa ave, como também outros animais e/ou humanos, além de trazer mais informações sobre essa espécie de grande importância ecológica. Desta forma, o objetivo do estudo foi determinar as enterobactérias presentes na cloaca de Gaviões-carijós cativos e seu perfil de susceptibilidade a antimicrobianos. Inicialmente, foram coletadas amostras cloacais de nove espécimes com o auxílio de swabs. As amostras foram plaqueadas em ágar MacConkey, ágar Hektoen, ágar EMB e ágar SS e incubadas por 24h a 35°C. Após incubação, as colônias foram submetidas às provas bioquímicas para confirmação da presença de enterobactérias. Posteriormente, o perfil de susceptibilidade das bactérias frente a agentes antimicrobianos foi avaliado através do teste da difusão em disco de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). *Escherichia coli* (77,8%), *Klebsiella oxytoca* (11,1%), *Klebsiella pneumoniae* (11,1%) e *Salmonella* spp. (55,6%) foram isoladas das amostras coletadas. Dentre as cepas isoladas, algumas apresentaram resistência a até três antimicrobianos. O presente estudo trouxe um maior conhecimento sobre as enterobactérias presentes no Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*), mostrando um percentual significativo de enterobactérias de importância na saúde pública, evidenciando também a ocorrência de cepas com perfil de resistência a agentes antimicrobianos.

Palavras-chave: gavião-carijó; microbiologia; enterobactéria; patologia aviária.

ABSTRACT

Knowledge of the enterobacteria present in roadside hawk can bring about an understanding of infectious diseases that can affect this bird, as well as, other animals and/or humans, in addition to bringing more information of great ecological importance. Thus, the aim of the study was to determine the enterobacteria present in the cloaca of captive roadside hawks and antimicrobial susceptibility profile. Initially, cloacal samples from nine specimens were collected with the aid of swabs. Samples were placed in Petri dishes with MacConkey agar, Hektoen agar, EMB agar and *Salmonella-Shigella* (SS) agar and incubated for 24h at 35°C. After incubation, the microorganisms were submitted to biochemical testing to confirm the presence of enterobacteria. Thereafter, the susceptibility profile of bacteria to antimicrobial agents was evaluated by a disk diffusion test according to the *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). *Escherichia coli* (77.8%), *Klebsiella oxytoca* (11.1%), *Klebsiella pneumoniae* (11.1%) and *Salmonella* spp. (55.6%) were isolated from the samples collected. Among the isolates, some bacteria showed resistance to up to three antimicrobial agents. This study has brought greater insight about the enterobacteria present in roadside hawk (*Bubo magirostris*), exhibiting a significant percentage of enterobacteria important to public health; also, it showed the occurrence of strains with resistance profile to antimicrobial agents.

Keywords: roadside hawk; microbiology; enterobacteria; avian pathology.

INTRODUÇÃO

O Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*) é uma ave de rapina silvestre pertencente à ordem Accipitriformes, família Accipitridae que habita na América Latina desde o México até a Argentina, sendo considerado o gavião mais abundante no Brasil (SICK, 1997). Apresenta hábito diurno e um comportamento territorialista expressivo. Esse animal é encontrado em uma ampla variedade de ambientes (TORTATO, 2009), com uma alimentação diversificada, típica de um caçador oportunista (PANASCI; WITACRE, 2000), como por exemplo, grandes insetos, alguns répteis, anfíbios e pássaros (ROBINSON, 1994; SICK, 1997). Essa ave tem um papel ecológico importante, por ser um predador de topo, é responsável pela manutenção e funcionamento de comunidades as quais pertencem (RICKLEFS, MILLER, 2000).

Acredita-se que os animais silvestres em cativeiro são uma fonte de 70% das doenças emergentes, incluindo o aumento da resistência a antimicrobianos (AHMED et al., 2007). Segundo Curcino, Heming e Feraboli (2009) e Menq (2011) o gavião-carijó é uma ave bem adaptada aos centros urbanos e a sua população tende a aumentar gradativamente (IUCN, 2013). Essa oportunidade de contato com os humanos e outros animais, pode trazer riscos à saúde pública, através de contaminação por agentes patogênicos, já que as aves de rapina podem ser acometidas por variadas infecções bacterianas e/ou fúngicas, apresentando corpos estranhos ou alterações em seu trato digestório que proporcionem essas zoonoses (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006).

A microbiota intestinal de aves silvestres ainda é pouco estudada, especialmente a ocorrência de enterobactérias no Gavião-carijó. O trato intestinal dos rapinantes apresenta uma grande densidade de bactérias, incluindo anaeróbio facultativo e anaeróbio estrito. As bactérias isoladas encontradas frequentemente no material fecal de rapinantes são: *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Mycobacterium avium*, *Pasteurella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. (SORUM, SUNDE, 2001). O desequilíbrio da microbiota com consequente proliferação de micro-organismos indesejáveis pode causar diarreia, infecções, perda de peso, podendo levar o animal à morte (ISOLAURI; SALMINEN; OUWEHAND, 2004).

A utilização inadequada de agentes antimicrobianos exerceu uma grande pressão seletiva favorecendo o surgimento de cepas bacterianas multirresistentes, agravando o problema de saúde pública e fazendo com que estudos referentes à susceptibilidade a antimicrobianos sejam relevantes. Estudos realizados com aves silvestres demonstram alto

índice de resistência a antimicrobianos, mesmo em animais que nunca foram tratados com antibióticos (MIDDLETON, AMBROSE, 2005, DOLEJSKA; CIZEK; LITERAK, 2007, GIBBS et al., 2007). Esses fatores são decorrentes de contatos dessas aves com humanos e outros animais, e também com antibióticos produzidos por micro-organismos ambientais (GIBBS et al., 2007).

Devido ao escasso conhecimento da microbiota cloacal de aves silvestres, assim como do perfil de sensibilidade desta microbiota e, ainda, pela possibilidade dessas aves abrigarem micro-organismos nocivos aos humanos e outros animais, o presente estudo objetivou identificar enterobactérias isoladas da cloaca de Gaviões-carijós (*Rupornis magnirostris*) cativos e analisar o perfil de susceptibilidade dessas bactérias a agentes antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição dos Animais

Foram obtidos nove Gaviões-carijós (5 machos e 4 fêmeas) do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) – IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). Os animais apresentavam mutilações e/ou atrofia muscular nos membros. Todos os animais apresentavam faixas etárias diferentes. O procedimento apresentou licença do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) para aquisição dos exemplares, concedida pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), do Centro de Ciências Biológicas (CCB) da UFPE, recebendo a devida autorização no processo de número 23076.018906/2013-25.

Identificação das Enterobactérias

A coleta das amostras cloacais foi realizada utilizando swabs estéreis, os quais foram depositados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e caldo tetrationato por 24h a 35°C. Após este período, as amostras foram plaqueadas em ágar MacConkey, ágar Hektoen, ágar EMB e ágar SS e reincubadas por mais 24h a 35°C. Após o último período de incubação, as amostras que apresentaram crescimento microbiano compatível com enterobactérias foram submetidas às provas bioquímicas, como por exemplo, fermentação de lactose, citocromo-oxidase, TSI, lisina e ornitina, produção de sulfeto de hidrogênio (H₂S) e gás (CO₂) na produção de ágar TSI, indol, citrato, urease e motilidade, para confirmação da presença destas enterobactérias.

Avaliação do perfil de susceptibilidade das Enterobactérias a agentes antimicrobianos

Todas as bactérias identificadas foram submetidas ao teste da difusão em disco para avaliar o perfil de susceptibilidade aos seguintes antimicrobianos: Ceftriaxona (30µg), Tobramicina (10µg), Penicilina G (10U), Imipenem (10µg), Amicacina (30µg), Amoxicilina (10µg), Gentamicina (10µg), Cefalotina (30µg) e Ciprofloxacina (0,5µg), de acordo com o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2014). Inicialmente os micro-organismos identificados foram ajustados no 0,5 da escala de MacFarland e semeados em ágar Mueller Hinton. Posteriormente, os discos dos antimicrobianos foram depositados nas placas e em seguida foram incubadas a 35 °C por 24h. O perfil de resistência ou sensibilidade foi expresso seguindo os pontos de corte do CLSI (2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isolados 4 grupos de enterobactérias, sendo identificados 14 cepas (Tabela 2.1). Sete animais dos espécimes apresentaram *Escherichia coli* (77,8%, 7/9), um animal apresentou *Klebsiella oxytoca* (11,1%, 1/9), um animal apresentou *Klebsiella pneumoniae* (11,1% 1/9) e cinco animais apresentaram *Salmonella* spp (55,6%, 5/9).

O isolamento de *Escherichia coli* em 77,8% das amostras é um resultado esperado, pois essa bactéria é frequentemente isolada da microbiota do trato intestinal de aves silvestres, podendo, em determinadas condições, ocasionar processos infecciosos (ALMEIDA et al., 2005), sendo considerada a enterobactéria mais descrita do mundo (GERLACH, 2004). Estudos realizados por Santos et al. (2010), com amostras cloacais de cracídeos, demonstraram uma frequência de 70,5%, como também, D'Aloia et al. (1996) e Steele, Brown e Botzler (2005) com amostras fecais de gaivotas e espécies de aves marinhas demonstraram uma frequência de 71% e 90%, respectivamente.

Análises realizadas por Brittingham, Temple e Duncan (1988) e Gibbs et al. (2007) com amostras cloacais de passeriformes evidenciaram um índice de isolamento de *E. coli* entre 1,0-9,5%. Essa discrepância de percentual pode ser acarretada por fatores como a alimentação e manejo dos espécimes estudados, que pode propiciar alteração de sua microbiota (GODOY-VITORINO et al., 2008).

Tabela 2.1 - Enterobactérias isoladas em amostras de swabs cloacais dos Gaviões-carijós (*Rupornis magnirostris*) provenientes do CETAS-IBAMA-PE, Vitória de Santo Antão - PE, 2014.

Gavião-carijó	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella</i> spp.
Animal 1	+	+	-	+
Animal 2	-	-	+	+
Animal 3	+	-	-	-
Animal 4	-	-	-	+
Animal 5	+	-	-	-
Animal 6	+	-	-	+
Animal 7	+	-	-	+
Animal 8	+	-	-	-
Animal 9	+	-	-	-
Total (%)	77,8	11,1	11,1	55,6

+: Presença; -: Ausência.

A *E. coli* é uma espécie de bactéria de grande importância clínica, visto que é uma das bactérias causadoras de patologias em humanos, como intoxicações alimentares e infecções do trato urinário (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). Porém, são as bactérias do gênero *Salmonella* as mais frequentemente isoladas em surtos em diversos países, sendo considerado um dos principais problemas de saúde pública mundial em razão da elevada endemicidade, alta morbidade e, acima de tudo, pela dificuldade do seu controle (SILVA; DUARTE, 2002; MAIJALA et al., 2005; CHOMEL; BELOTTO; MESLIN, 2007).

De acordo com os resultados obtidos nessa pesquisa, o gênero *Salmonella* foi o segundo mais isolado com uma frequência de 55,6%. Esse achado atrai atenção especial, pois segundo Quessy e Messier (1992) as aves silvestres não apresentam um papel importante na epidemiologia da salmonelose humana. Porém, Refsum et al. (2002) relataram que as aves silvestres podem servir de reservatórios dessas bactérias, de acordo com estudos feitos em um surto de salmonelose em humanos ocasionado por aves aquáticas.

Vários estudos evidenciaram a prevalência de infecção por *Salmonella* spp. em aves, porém quando comparados aos resultados obtidos nesse estudo, se apresentam com baixa frequência. Nos estudos de Kirpatrick e Trexler-Myren (1986) foi relatado que falconiformes de vida livre apresentaram uma prevalência de infecção por *Salmonella* spp. de 1,9%. Quessy

e Messier (1992) citaram a prevalência de 8,7% em gaivota-de-bico-riscado (*Larus delawarensis*). Gaukler et al. (2009) em análise de excretas de estorninhos-comum (*Sturnus vulgaris*) evidenciaram a prevalência de 0,69% desta bactéria. Marietto-Gonçalves et al. (2010) avaliaram 103 aves, em sua maioria psitacídeos, detectando a presença em 2,9% dos casos.

Vale salientar que o grande número de aves vivendo em um determinado local pode representar um grande potencial de risco para a saúde humana e de outros animais, principalmente nas cidades (WILSON, MACDONALD, 1967), além de que aves silvestres cativas apresentam uma maior prevalência de infecção por *Salmonella* spp. Segundo relatos de McFarlane (1996) o isolamento de salmonelose em aves aparentemente saudáveis é difícil, devido ao pequeno número dessa bactéria na microbiota normal. Não obstante as infecções que exigem de tratamento são comumente encontradas especialmente em aves estressadas, com deficiência nutricional ou alojadas em condições de pouca higiene (HARKINEZHAD; GEENS; VANROMPAY, 2009). Essa pode ser a hipótese para a alta prevalência de infecção por *Salmonella* spp. nos gaviões-carijós desse estudo, pois esses também se encontravam em cativeiro.

Além das bactérias já citadas, outras foram identificadas como *Klebsiella oxytoca* e *Klebsiella pneumoniae*. Dentre as espécies do gênero, essas são as mais comumente envolvidas em processos mórbidos em aves (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006). Essas enterobactérias, juntamente com outras, são identificadas em estudos como causadoras de enterites, como é o caso de análises feitas com avestruzes (*Struthio camelus*) por Huchzermeyer (2000) e Carrer e Kornfeld (1999), e também em relatos de morte de 121 avestruzes após 3 a 5 dias de sintomatologia devido à infecção causada por *K. pneumoniae* como descrito por Melville et al. (2004).

Os resultados referentes ao teste de susceptibilidade a antimicrobianos estão descritos na Tabela 2.2. Todas as cepas isoladas foram sensíveis à gentamicina, tobramicina e amicacina (aminoglicosídeos). A espécie *K. oxytoca* demonstrou sensibilidade a todos os antimicrobianos. As espécies de *E. coli*, *K. oxytoca* e o gênero *Salmonella* foram sensíveis a ceftriaxona e imipenem, enquanto *K. pneumoniae* apresentou perfil de resistência. Os maiores percentuais de resistência foram observados frente à penicilina pela *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Salmonella* spp. E os menores percentuais foram observados frente à amoxicilina, ampicilina, cefalotina e ciprofloxacina.

Ahmed et al. (2007), em estudos feitos com animais de cativeiro, encontrou 21% de cepas de *E. coli* com resistência a um ou mais antimicrobianos, em especial a ampicilina e o

grupo das cefalosporinas. Resultado também observado por Vargas, Máttar e Monsalve (2010) com aves do zoológico de Barranquilla. Diferente do observado neste trabalho, onde se obteve uma resistência a ampicilina e cefalotina (cefalosporina) em 14,3% das cepas de *E. coli*.

Não obstante, Santos et al. (2010) observou que a penicilina foi o antimicrobiano com maior percentual de resistência nas cepas de *E. coli* (96,7%), corroborando com o observado no presente trabalho. Salientando também que as cepas de *K. pneumoniae* nos estudos de Steele, Brown e Botzler (2005), Ahmed et al. (2007) e Vargas, Máttar e Monsalve (2010) obtiveram 100% de resistência a ampicilina, resultado também encontrado nesse estudo.

Em análises feitas por Marietto-Gonçalves et al. (2010), foi observado que as cepas de *Salmonella* spp. apresentaram sensibilidade a gentamicina e resistência a ciprofloxacina, esse último resultado foi diferente do encontrado na nossa análise do gavião-carijó, pois foi observado que 80% das cepas de *Salmonella* spp. apresentaram sensibilidade a ciprofloxacina. O nosso resultado evidencia a eficácia do medicamento, visto que as quinolonas, como por exemplo, a ciprofloxacina, é um grupo de antimicrobianos recomendado para o tratamento de salmonelose (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

Livermore et al. (2001), Middleton e Ambrose (2005) e Santos et al. (2010) também evidenciaram um baixo nível de resistência das aves pegas (*Pica pica*), gansos-do-canadá (*Branta canadensis*) e cracídeos, respectivamente, a ciprofloxacina, enfatizando que as enterobactérias fecais de aves silvestres apresentavam um índice menor de resistência a este antimicrobiano.

No que se refere ao perfil de multiresistência, uma cepa de *E. coli* apresentou resistência a ampicilina, cefalotina e ciprofloxacina, uma cepa de *K. pneumoniae* foi resistente a ciprofloxacina, ceftriaxona e imipenem, e uma cepa de *Salmonella* spp. apresentou resistência à ampicilina e cefalotina simultaneamente. Vários autores já isolaram cepas de enterobactérias multiresistentes em aves de cativeiro (MARIETTO-GONÇALVES et al., 2010; SANTOS et al., 2010).

Essa multirresistência pode ser caracterizada pelo fato dos gaviões-carijós serem criados em cativeiro, estando em contato com humanos, podendo haver troca genética através de micro-organismos de origem diferente, além de estarem próximos a outros animais selvagens que poderiam estar infectados com micro-organismos multirresistentes, ou por terem uma dieta com alimentos que apresentam antibióticos (GIBBS et al., 2007). Assim, este estudo trouxe um maior conhecimento sobre as enterobactérias do Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*), uma ave amplamente distribuída, porém pouco estudado. O Gavião-carijó

apresentou uma alta porcentagem de enterobactérias importantes para a saúde pública, tais como *Salmonella* spp. Além disso, algumas bactérias isoladas neste estudo exibiram um perfil de multirresistência a agentes antimicrobianos trazendo informações que preconizam estudos futuros sobre hospedeiro/parasita.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo apoio e também o centro de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA (CETAS – IBAMA / PE) por fornecer as amostras utilizadas no estudo.

Tabela 2.2 - Percentual de susceptibilidade a agentes antimicrobianos de *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella* spp. isoladas da cloaca do Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*) provenientes do CETAS-IBAMA-PE, Vitória de Santo Antão - PE, 2014.

Grupos de Antibióticos	<i>Escherichia coli</i>				<i>Klebsiella oxytoca</i>				<i>Klebsiella pneumoniae</i>				<i>Salmonella</i> spp.			
	Resistente		Sensível		Resistente		Sensível		Resistente		Sensível		Resistente		Sensível	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Penicilinas																
-Penicilina	4	57,1	3	42,9	0	0	1	100	1	100	0	0	2	40	3	60
-Amoxicilina	1	14,3	6	85,7	0	0	1	100	1	100	0	0	1	20	4	80
-Ampicilina	1	14,3	6	85,7	0	0	1	100	1	100	0	0	1	20	4	80
Cefalosporina 1ª Geração																
-Cefalotina	1	14,3	6	85,7	0	0	1	100	1	100	0	0	1	20	4	80
Cefalosporina 2ª Geração																
-Ceftriaxona	0	0	7	100	0	0	1	100	1	100	0	0	0	0	5	100
Carbapenêmicos																
-Imipenem	0	0	7	100	0	0	1	100	1	100	0	0	0	0	5	100
Aminoglicosídeo																
-Gentamicina	0	0	7	100	0	0	1	100	0	0	1	100	0	0	5	100
-Tobramicina	0	0	7	100	0	0	1	100	0	0	1	100	0	0	5	100
-Amicacina	0	0	7	100	0	0	1	100	0	0	1	100	0	0	5	100
Fluoroquinolona																
-Ciprofloxacina	1	10	7	90	0	0	1	100	0	0	1	100	1	20	4	80

n: número de amostras.

REFERÊNCIAS

- AHMED, A. M.; MOTOI, Y.; SATO, M.; MARUYAMA, A.; WATANABE, H.; FUKUMOTO, Y.; SHIMAMOTO, T. Zoo animals as reservoirs of Gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 20, p. 6686-6690, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2075039>>. Acesso em: 15 abr. 2015. doi: 10.1128/AEM.01054-07.
- ALMEIDA, R. M. A.; BIANCHI, M. D.; GONÇALVES NETO, M. C.; SOUZA, R. R.; CAMPOS, W. R. Microbiota da orofaringe e fezes de avestruzes (*Struthio camellus*) clinicamente sadios: estudos preliminares. **Boletim de Medicina Veterinária**. v. 1, p. 49-56, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2010001200013&lang=pt>. Acesso em: 10 Ago. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010001200013>.
- BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses Aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 185-195.
- BRITTINGHAM, M. C.; TEMPLE, S. A; DUNCAN, R. M. A survey of the prevalence of selected bacteria in wild birds. **The Journal of Wildlife Diseases**. v. 24, p. 299-307, 1988.
- CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E. **A criação de avestruzes no Brasil**. Pirassununga: Brasil Ostrich Comercial, 1999. p. 304.
- CHOMEL, B. B.; BELOTTO, A.; MESLIN, F. X. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. **Emerging Infectious Diseases journal**. v. 13, p. 6-11, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2725831>>. Acesso em: 12 abr. 2015. doi: 10.3201/eid1301.060480.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Approved Standards M100-S22. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement**. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne. Pennsylvania USA, 2014.
- CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens - medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006.
- CURCINO, A.; HEMING, N.; FERABOLI, A. **Predação oportunística de passeriforme em rede-de-neblina por indivíduo de *Rupornis magnirostris* (Falconiformes: Accipitridae)**. Atualidades Ornitológicas Nº 151, 2009. Disponível em: <www.ao.com.br> Acesso em: 19 fev. 2014.

D'ALOIA, M. A.; BAILEY, T. A.; SAMOUR, J. H.; NALDO, J.; HOWLETT, C. Bacterial flora of captive houbara (*Chlamydotis undulata*), kori (*Ardeotis kori*) and rufous-crested (*Eupodotis ruficrista*) bustards. **Avian Pathology**, v. 25, p. 459-468, 1996. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000200017&lang=pt>. Acesso em: 12 ago. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000200017>.

DOLEJSKA, M.; CIZEK, A.; LITERAK, I. High prevalence of antimicrobial resistant genes and integrons in *Escherichia coli* isolates from blackheaded gulls in the Czech Republic. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 11-19, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17584448>>. Acesso em: 5 abr. 2015. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03241.x.

GAUKLER, S. M.; LINZ, G. M.; SHERWOOD, J. S.; DYER, N. W.; BLEIER, W. J.; WANNEMUEHLER, Y. M.; NOLAN, L. K.; LOGUE, C. M. *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* in Wild European starlings at a Kansas cattle feedlot. **Avian Diseases**, v. 53, p. 544-551, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20095155>>.

GERLACH, H. Bacteria, In: Ritchie B. W.; Harrison G. J.; Harrison L. R. (Eds). **Avian Medicine: Principles and application**. Wingers Publishing, Lake Worth, 1994. p. 949-983.

GIBBS, P. S.; KASA, R.; NEWBREY, J. L.; PETERMANN, S. R.; WOOLEY, R.E.; VINSON, H. M.; REED, W. Identification, antimicrobial resistance profiles, and virulence of members from the family Enterobacteriaceae from the feces of Yellow-Headed Blackbirds (*Xanthocephalus xanthocephalus*) in North Dakota. **Avian Diseases**. v. 51, p. 649-655, 2007.

GODOY-VITORINO, F.; LEY, R. E.; GAO, Z.; PEI, Z.; ORTIZ-ZUAZAGA, H.; PERICHI, L. R.; GARCIA-AMADO, M. A.; MICHELANGELI, F.; BLASER, M. J.; GORDON, J. F.; DOMÍNGUEZ-BELLO, M. G. Bacterial community in the crop of the hoatzin, a Neotropical folivorous flying bird. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 5905-5912, 2008. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/74/19/5905.full>>. Acesso em: 3 mar. 2015. doi: 10.1128/AEM.00574-08.

HARKINEZHAD, T; GEENS, T.; VANROMPAY, D. Chlamydophila psittaci infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. **Veterinary Microbiology**, v. 135, p. 68-77, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19054633>>. Acesso em: 4 abr. 2015. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.046.

HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de aves e outras ratitas**. Jaboticabal: Funep, 2000. 392 p.

ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C. Microbial-gut interactions in health and disease. Probiotics. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v. 18, n. 2, p. 299-313, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15123071>>. Acesso em: 18 nov. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2003.10.006>.

IUCN, **IUCN Red List of Threatened Species**. Versão 2013.1. 2013. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 09 out. 2013.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 123-140, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15040260>>. Acesso em: 11 nov. 2014. doi: 10.1038/nrmicro818.

KIRPATRICK, C.E.; TREXLER –MYREN, V.P. A survey of free-living falconiform birds for *salmonella*. **Journal American Veterinary Medical Association**. v. 189, p. 997-998, 1986.

LIVERMORE, D.M.; WARNER, M.; HALL, L. M.; ENNE, V. I.; PROJAN, S. J.; DUNMAN, P. M.; WOOSTER, S. L; HARRISON, G. Antibiotic resistance in bacteria from magpies (*Pica pica*) and rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from West Wales. **Environmental Microbiology**, v. 3, p. 658-661, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11722546>>. Acesso em: 11 abr. 2015. doi: 10.1046/j.1462-2920.2001.00239.x.

MAIJALA, R.; RANTA, J.; SEUNA, E. The efficiency of the Finnish Salmonella Control Programme. **Food Control**, v. 16, n. 8, p. 669-675, 2005.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; ALMEIDA, S. M.; LIMA, E. T.; ANDREATTI FILHO, R. L. Detecção de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em microbiota intestinal de Psittaciformes em fase de reabilitação para soltura. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 185-189, 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26853>>. Acesso em: 10 mar. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962010000300001>.

MELVILLE, P. A.; COGLIATI, B.; MANGIATERRA, M. B. B. C. D.; PERES, M. R.; ALVES MOURA, S. C. A.; MATSUDA, L.; KIM, A.; BENITES, N. R. Determinação da microbiota presente na cloaca e orofaringe de avestruzes (*Struthio camelus*) clinicamente sadios. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782004000600031>. Acesso em: 20 nov. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000600031>.

MENQ, W. **Portal aves de rapina Brasil – Gavião carijó**. 2011. Disponível em: <<http://www.avesderapinabrasil.com/>>. Acesso em: 31 Março. 2015.

MIDDLETON, J. H; AMBROSE A. Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, p. 334-341, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16107668>>. Acesso em: 17 nov. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-41.2.334>.

PANASCI, T.; WHITACRE, D. Diet and foraging behavior of nesting roadside hawks in Petén. Guatemala. **Wilson Bulletin**, v. 112, p. 555-558, 2000.

QUESSY, S.; MESSIER, S. Prevalence of *salmonella sp.*, *campylobacter sp.* and *Listeria sp.* in ring-billed gulls (*Larus delawarensis*). **Journal of Wildlife Diseases**. v. 28, p. 256-531, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1474648>>. Acesso em: 20 out. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-28.4.526>.

REFSUM, T.; HEIR, E.; KAPPERUD, G.; VARDUND, T.; HOLSTAD, G. Molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* isolates determined by pulsed-field gel electrophoresis: comparison of isolates from avian wildlife, domestic animals, and the environment in Norway. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 5600-5606, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12406755>>. Acesso em: 12 mar. 2015. doi: 10.1128/AEM.68.11.5600-5606.2002.

RICKLEFS, R. E.; MILLER, G. L. **Ecology**. W. H. Freeman and Company, New York: USA, 2000.

ROBINSON, S. K. Habitat selection and foraging ecology of raptors in Amazonian Peru. **Biotropica**. v 26. p. 443-458, 1994.

SANTOS, H. F.; FLORES, M. L.; LARA, V. M.; SÁ E SILVA, M.; BATTISTI, L.; LOVATO, L. T. Microbiota cloacal de cracídeos cativos no Rio Grande do Sul e sua susceptibilidade a antimicrobianos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30. p. 1077-1082, 2010.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 1997. 912p.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. Salmonella Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**, v. 4, n. 2, p. 85-100, 2002.

SORUM, H.; SUNDE, M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. **Veterinary Research**, v. 32, p. 227–241, 2001. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11432415>>. Acesso em: 11 mar. 2015. doi: 10.1051/vetres:2001121.

STEELE, C.M.; BROWN, R. N.; BOTZLER, R. G. Prevalence of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the Pacific Coast of California and Washington, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 41, p. 735-744, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16456162>>. Acesso em: 22 fev. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-41.4.735>.

TORTATO, M. A. Predação de cuíca-d'água (*Chironectes minimus*: MAMMALIA, DIDELPHIDAE) por gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*: AVES, ACCIPITRIDAE). **Mastozoología Neotropical**, v. 16, n. 2, p. 491-493, 2009.

VARGAS, J.; MÁTTAR, S.; MONSALVE, S. Bacterias patógenas con elevada resistencia a antibióticos: estudio sobre reservorios bacterianos en animales cautivos en el zoológico de Barranquilla, **Revista Infectio**, v. 14, n. 1, p. 6-19, 2010.

WILSON, J. E.; MACDONALD, J. W. Salmonella infection in wild birds. **British Veterinary Journal**, v. 123, n. 5, p. 212-219, 1967

CAPITULO 3

3.1 ARTIGO II

MORFOMETRIA MACROSCÓPICA E HISTOLOGIA DO TRATO INTESTINAL DE GAVIÕES-CARIJÓS (*Rupornis magnirostris*, GMELIN, 1788)

(Artigo a ser submetido ao Periódico Zoomorphology)

**Macroscopic morphometry and histology of the intestinal tract of Roadside Hawks
(*Rupornis magnirostris*, GMELIN, 1788)**

Ewerton Fylype de Araújo SILVA¹, Bruna Ferreira de MEDEIROS¹, Fernanda Alda da SILVA¹, Wellington Maurício de ALMEIDA¹, André Púkey Oliveira GALVÃO¹, Kleber Botelho FRAGA¹, Francisco Carlos Amanajás de AGUIAR-JÚNIOR², José Eduardo GARCIA², Carolina Peixoto MAGALHÃES¹

¹Laboratório de Anatomia, Centro Acadêmico de Vitória (CAV), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Vitória de Santo Antão-PE, Brazil, ²Laboratório de Biotecnologia e Fármacos, Centro Acadêmico de Vitória (CAV), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Vitória de Santo Antão-PE, Brazil,

*Corresponding author

Ewerton Fylype de Araújo Silva

Universidade Federal de Pernambuco

Centro Acadêmico de Vitória

Rua do Alto do Reservatório s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

Tel: + 55 81 35233351; fax: +55 81 35233351

E-mail: ewerton.fylype@hotmail.com

RESUMO

O conhecimento da morfologia macro e microscópica do trato intestinal do Gavião-carijó (*Rupornis magniostris*) pode trazer uma maior compreensão sobre o seu hábito alimentar, além de auxiliar com informações sobre as relações interespecíficas, já que essas aves são predadoras de topo, sendo importantes agentes bióticos na manutenção de ecossistemas. Desta forma, o objetivo do estudo foi analisar morfologicamente o trato intestinal de Gaviões-carijós. Para as análises foram utilizados doze espécimes (seis para morfometria e seis para histologia). Os animais foram eutanasiados para a retirada do trato intestinal. Foi feita a secção para a divisão das porções e o material utilizado para morfometria foi pesado em balança de precisão e medido em paquímetro de aço. As porções utilizadas na histologia foram processadas de maneira padrão utilizando os corantes, Hematoxilina e Eosina, Ácido periódico de Shiff. O gavião-carijó apresenta o trato intestinal semelhante ao das aves em geral, porém com cecos vestigiais. O trato intestinal se apresentou mais pesado e com a porção colo/reto/cloaca mais comprido que outras aves do mesmo grupo. Os intestinos apresentaram epitélio colunar simples com microvilosidades, rico em células caliciformes e lâmina própria espessa formando vilosidades alongadas. Cecos com grandes centros germinativos e na cloaca uma zona epitelial de transição passando a ser epitélio pavimentoso estratificado queratinizado. Assim, conclui-se que o trato intestinal do Gavião-carijó apresenta características morfométricas e histológicas peculiares, que estão correlacionadas ao seu comportamento e hábito alimentar.

Palavras-chave: aves; morfometria; histologia; intestinos; adaptação alimentar.

ABSTRACT

The knowledge of the macro and microscopic morphology of roadside hawk's (*Rupornis magniostris*) intestinal tract can bring a greater understanding of your eating habits, and help with information about the interspecific relations, since these birds are top predators, being important biotic agents in maintaining ecosystems. This way, the aim of this study was to analyze morphologically the roadside hawk's intestinal tract. For the analysis were used twelve specimens (six to morphometry and six for histology). The animals were sacrificed for removal of the intestinal tract. It was made a section for the division of the portions and the material used for morphometry was weighed on a precision scale and measured in steel caliper. The portions used for histological analysis were processed in a standard way by using the dyes, hematoxylin and eosin, and periodic acid Schiff. The roadside hawk has the intestinal tract similar to the birds in general, but with vestigial cecum. The intestinal tract appeared heavier and with a longer colon/rectum/cloacae portion than other birds of the same group. The intestines have simple columnar epithelium with microvillus, rich in goblet cells and thick lamina propria, forming elongated villi. Cecum with large germinal centers and in cloacae a epithelial transition zone becoming squamous stratified keratinized epithelium. So, it is concluded that the roadside hawk's intestinal tract has unique morphological and histological characteristics that are correlated with their behavior and eating habits.

Keywords: birds; morphology; histology; intestines; feeding adaptation.

INTRODUÇÃO

O Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*, Gmelin, 1788) é uma ave de rapina pertencente à ordem Accipitriformes, família Accipitridae, que apresenta hábito diurno, estando presente e bem adaptada em vários ambientes, desde regiões próximas ao mar até locais com mais de 3000m de altitude, como nos Andes, sendo também encontrado em centros urbanos (Piratelli, Andrade e Lima Filho 2005; Santos, Copatti e Rosado 2009; Tortato 2009). Esta ave tem hábito alimentar carnívoro, constituído de grandes insetos, alguns répteis, anfíbios, pequenas cobras e pássaros, tais como rolas (*Zenaida auriculata* Des Murs, 1847) e pardais (*Passer domesticus* Linnaeus, 1758), podendo também capturar morcegos em seus pousos diurnos (Robinson 1994; Sick 1997).

Devido à grande diminuição dos habitats decorrentes das ações antrópicas, vêm ocorrendo um aumento do número de espécies de aves silvestres em centros urbanos, ocasionado pela necessidade de obtenção de alimento (Ramos, Benedito e Zawadzki 2011). Ambiente este que é favorece os animais que apresentam uma ampla capacidade adaptativa como o Gavião-carijó.

Essa capacidade adaptativa é caracterizada pela ampla diversidade alimentar dessa ave. Essa característica pode ser reflexo da estrutura e/ou complexidade do habitat, do tipo de presa que essa animal que alimenta e, principalmente das adaptações morfológicas que essa ave apresenta. Pois as adaptações morfológicas e/ou comportamentais permitem que determinadas espécies sejam capazes de predação vários tipos de presas (Granzinoli 2003).

O conhecimento das adaptações morfológicas intestinais dessa ave silvestre é de grande importância, pois essas aves são “predadoras de topo”, sendo importantes agentes bióticos na manutenção e funcionamento das comunidades as quais pertencem. (Ricklefs e Miller 2000).

Devido ao escasso conhecimento da morfologia intestinal dessa ave silvestre, bem adaptada aos centros urbanos, e visando trazer informações auxiliares no conhecimento das relações entre espécies animais, o presente estudo objetivou analisar morfológicamente o trato intestinal de Gaviões-carijós (*Rupornis magnirostris*).

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta dos animais e delineamento experimental

Foram utilizados 12 Gaviões-carijós, destes, seis para análise morfométrica e seis para análise histológica, já que não é possível utilizar todos os animais para essas duas técnicas, devido à deterioração rápida dos órgãos. Todos de ambos os sexos e faixas etárias diferentes. Essas aves não puderam ser reinseridas na natureza, pois apresentavam mutilações nas asas, patas e/ou atrofia muscular. O procedimento apresentou licença do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) para aquisição dos exemplares, concedida pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), do Centro de Ciências Biológicas (CCB) da UFPE, recebendo a devida autorização no processo de número 23076.018906/2013-25.

Procedimento Cirúrgico

Os animais foram anestesiados com xilazina e quetamina 1,6 mg/kg e 30 mg/kg respectivamente, administradas no músculo peitoral superficial. A profundidade anestésica foi avaliada pela ausência de alguns sinais como reflexo palpebral, corneal e podal. Posteriormente os animais foram eutanasiados com Pentobarbital Sódico 100mg/kg I.M. Constatado o óbito, foi realizada uma incisão no músculo peitoral tendo acesso a cavidade torácica e abdominal para retirada do trato digestório completo.

Análise Morfométrica Macroscópica

O trato digestório foi retirado em bloco, desde a orofaringe até a cloaca. O estômago foi seccionado junto ao piloro e posteriormente mesentério e pâncreas, restando o trato intestinal, o qual foi lavado com água corrente, seco em papel toalha, pesado em balança de precisão e medido. Posteriormente o intestino delgado, cecos, cólon/reto e cloaca foram seccionados e separados para pesagem utilizando balança Celtac® e medição de comprimento, que foi realizado utilizando-se paquímetro de metal com precisão de 0,05 até 150 milímetros.

Análise Histológica

Foram coletadas as amostras de cada porção do trato intestinal (duodeno, jejuno, íleo, cecos, cólon/reto e cloaca), também foram coletados os segmentos cranial, médio e caudal do duodeno, jejuno e íleo, para analisar possíveis diferenças entre as porções. Os fragmentos de cada uma das porções supracitadas foram colocados em formaldeído tamponado (NBF) a 10%

durante 48h para fixação. Após esse procedimento, as amostras foram submetidas à desidratação em uma bateria crescente de álcool etílico, desde o 70% até o absoluto, em quatro concentrações diferentes. Posteriormente foram diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina líquida. Os blocos foram cortados a 5µm. Os cortes foram colocados em lâminas untadas com albumina e mantidos na estufa em uma temperatura de 37°C durante 24h. Posteriormente as lâminas com os cortes foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE) e Ácido Periódico de Schiff (PAS).

RESULTADOS

Morfometria Macroscópica

Observou-se que o Gavião-carijó apresenta um trato intestinal com as características morfológicas padrão das aves (Figura 3.1), com apenas algumas diferenças que serão descritas adiante.

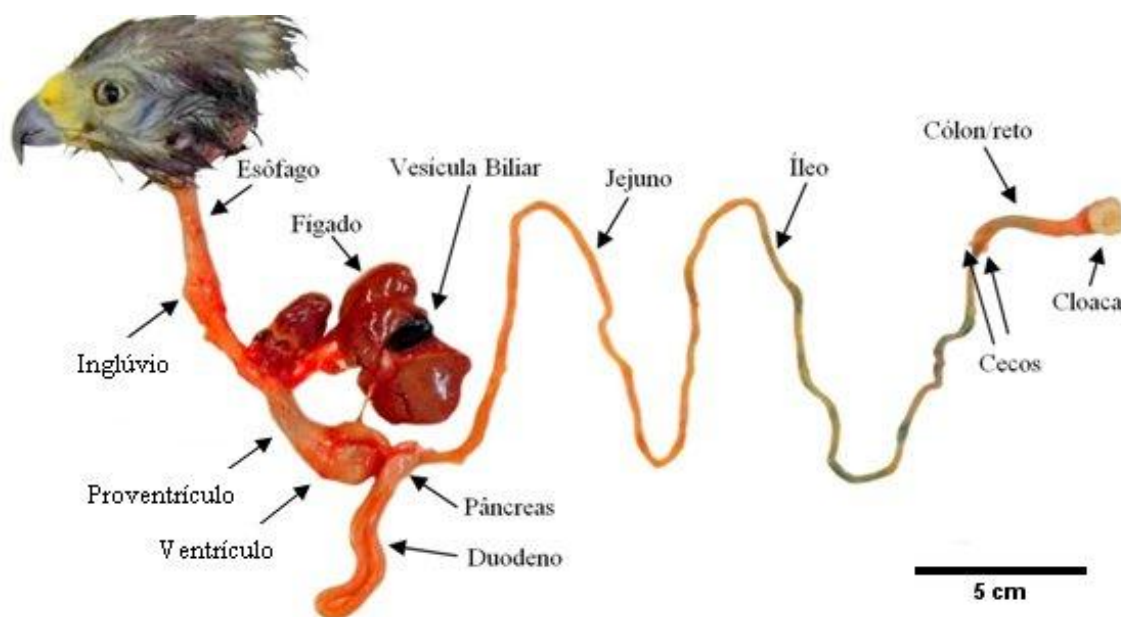


Figura 3.1 - Trato digestório do Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*) dissecado.

Com relação ao peso corporal (Tabela 3.1), observou-se que o Gavião-carijó apresenta uma média de $213,5 \pm 21,55$ g. O intestino dessas aves obteve a seguinte média de peso: duodeno $1,23 \pm 0,23$ g, jejuno $1,02 \pm 0,26$ g, íleo $1,51 \pm 0,57$ g, cólon/reto e cloaca $0,74 \pm 0,22$ g. A média de peso (g) do intestino completo foi de $4,50 \pm 1,12$ g. Foi observado também que o percentual de massa do trato intestinal em relação ao peso corporal do Gavião-carijó obteve

uma média de 2,10% (Tabela 3.2), como também foi observado o percentual de massa de cada estrutura do trato intestinal (Figura 3.2), qual o duodeno e o íleo obtiveram um maior percentual de massa em relação ao trato intestinal completo.

Tabela 3.1 - Peso (g) dos Gaviões-carijós, das porções do intestino delgado e grosso e do intestino completo.

Ave/Sexo	Peso do Espécime	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cólon/reto Cloaca	Intestino Completo
Animal 1*	175,0	1,15	0,97	1,01	0,42	3,55
Animal 2**	214,0	1,23	0,85	1,42	0,73	4,23
Animal 3**	237,0	1,17	1,18	1,83	0,98	5,16
Animal 4**	230,0	1,26	1,06	2,33	0,95	5,60
Animal 5*	210,0	1,62	1,40	1,69	0,83	5,54
Animal 6**	215,0	0,92	0,66	0,78	0,54	2,90
Média±DP	213,5±21,55	1,23±0,23	1,02±0,26	1,51±0,57	0,74±0,22	4,50±1,12

Macho (*); Fêmea (**); Desvio Padrão (DP).

Tabela 3.2 - Percentual (%) de massa do trato intestinal relacionado ao peso corporal do Gavião-carijó.

Ave/sexo	Trato intestinal/peso corporal
Animal 1*	2,03%
Animal 2**	1,98%
Animal 3**	2,18%
Animal 4**	2,43%
Animal 5*	2,64%
Animal 6**	1,34%
Média±DP	2,10±0,004%

Macho (*); Fêmea (**); Desvio Padrão (DP).

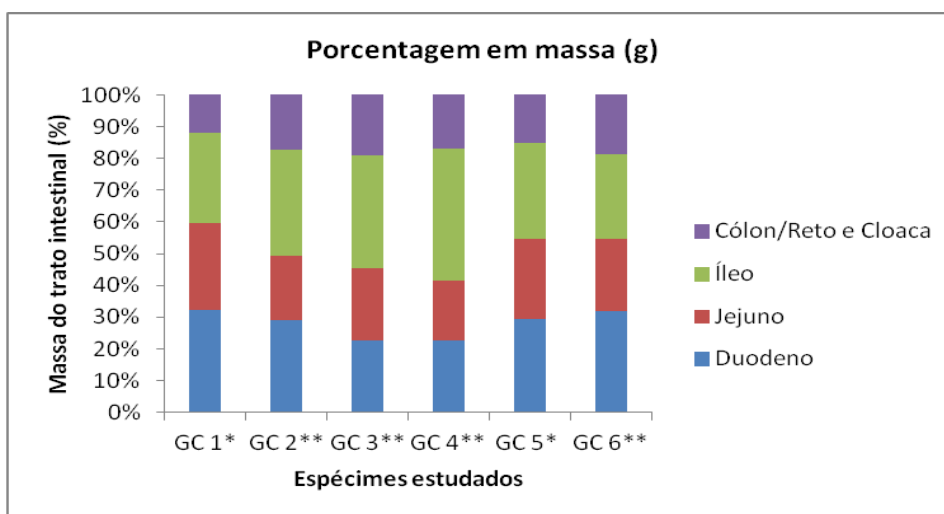


Figura 3.2 - Percentual de massa das porções do trato intestinal dos Gaviões-carijós.

Em relação aos dados de comprimento das diferentes porções anatômicas do intestino, foram obtidas as seguintes médias de comprimento: duodeno $11,41 \pm 1,16$ cm, jejuno $16,22 \pm 1,84$ cm, íleo $26,18 \pm 3,80$ cm, cólon/reto e cloaca $5,42 \pm 1,05$ cm. O comprimento do intestino completo foi de $59,23 \pm 5,12$ cm (Tabela 3.3). Também se analisou o percentual do comprimento de cada estrutura do trato intestinal (Figura 3.3), observou-se que o íleo foi a porção com maior percentual de comprimento em relação ao trato intestinal completo.

Relacionando o percentual de massa de cada estrutura do trato intestinal em relação ao trato completo (Figura 3.2), notou-se que no Gavião-carijó, a estrutura com o maior percentual de peso ($>32\%$) e comprimento ($>43\%$) foi o íleo.

Visto que os cecos eram estruturas vestigiais em Gaviões-carijós, verificou-se apenas seu comprimento, obtendo o ceco esquerdo, o valor de $0,26 \pm 0,09$ cm e o direito de $0,27 \pm 0,07$ cm (Tabela 3.4).

Tabela 3.3 - Comprimento (cm) das porções do intestino delgado e grosso e do intestino completo do Gavião-carijó.

Ave/Sexo	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cólon/reto Cloaca	Intestino Completo
Animal 1*	13,22	17,30	20,65	4,85	56,02
Animal 2**	12,26	15,43	31,21	6,03	64,93
Animal 3**	11,54	16,69	28,24	7,13	63,59
Animal 4**	10,54	18,92	26,52	5,62	61,60
Animal 5*	10,49	15,40	27,51	4,48	57,88
Animal 6**	10,39	13,58	22,96	4,43	51,36
Média±DP	11,41±1,16	16,22±1,84	26,18±3,80	5,42±1,05	59,23±5,12

Macho (*); Fêmea (**); Desvio Padrão (DP).

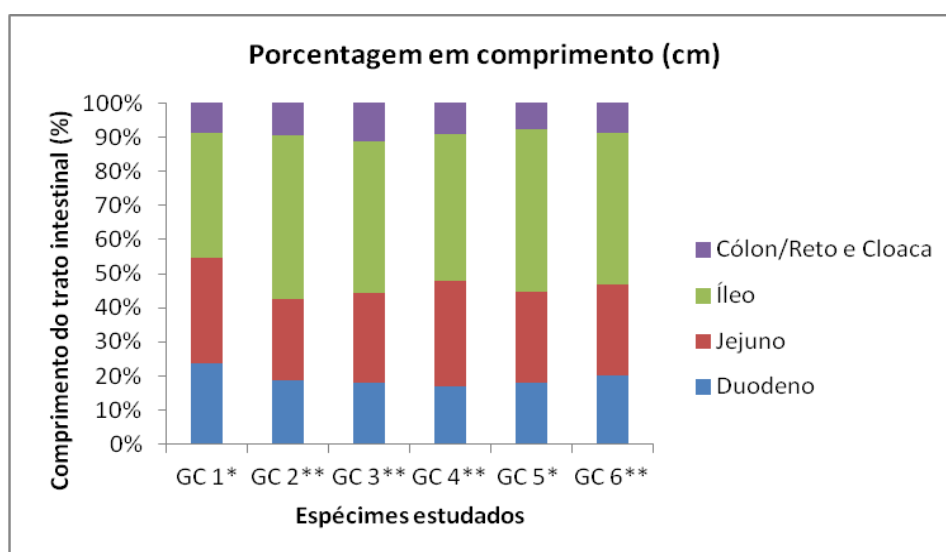


Figura 3.3 - Percentual do comprimento das porções do trato intestinal dos Gaviões-carijós.

Tabela 3.4 - Comprimento (cm) dos cecos esquerdo e direito do Gavião-carijó.

Ave/sexo	Ceco esquerdo	Ceco direito
Animal 1*	0,18	0,20
Animal 2**	0,35	0,33
Animal 3**	0,20	0,23
Animal 4**	0,40	0,38
Animal 5*	0,19	0,21
Animal 6**	0,23	0,26
Média± DP	0,26 ± 0,09	0,27 ± 0,07

Macho (*); Fêmea (**); Desvio Padrão (DP).

Histologia

Foi analisada a histologia de cada órgão intestinal separadamente, a fim de observar características peculiares das porções do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), cecos, cólon/reto e cloaca, visando trazer a maior quantidade de informação sobre essas porções do trato digestório do Gavião-carijó. Um resumo de informações está elucidado no Quadro 3.1.

O Gavião-carijó apresentou o trato intestinal organizado em: camada mucosa, camada muscular e camada serosa, sendo esta última a mais superficial. A camada da mucosa é composta por epitélio, lâmina própria e muscular da mucosa. As vilosidades presentes, com epitélio simples colunar, composta por enterócitos (células absorptivas), que mostram uma borda em escova/estriada (microvilosidades), tendo seus núcleos na região basal e células caliciformes (Figura 3.4. A). Além disso, observaram-se células enteroendócrinas situadas principalmente na região basal, com núcleo na região central da célula.

De acordo com o número de vilosidades, observou-se a presença de invaginações, denominadas de glândulas intestinais (Figura 3.4. B), além da lâmina própria constituída por fibroblastos, plasmócitos e linfócitos. Observaram-se também as outras camadas que compõem o trato intestinal: muscular da mucosa (compõe a camada da mucosa), muscular interna e a muscular externa (Figura 3.4. C). A camada muscular apresenta dois feixes em um corte transversal, a circular interna, mais espessa, e a longitudinal externa, mais fina (Figura 3.4. C).

Em todo trato intestinal do Gavião-carijó a camada submucosa, em algumas partes, é atrofiada, ou até mesmo ausente, ou seja, é tão reduzida que é imperceptível ou inexistente.

A camada serosa do Gavião-carijó é composta por um tecido pavimentoso (mesotélio), e pode ser identificada pela sua associação com ductos, vasos sanguíneos, geralmente de grande calibre, além de tecido adiposo (Figura 3.4. E).

Outras particularidades foram analisadas, em cada uma das regiões do trato intestinal, durante o estudo. No intestino delgado, as porções cranial, médio e caudal do duodeno e jejuno, apresentam vilosidades alongadas (Figura 3.2. D), que praticamente fecham a luz intestinal. Além disso, observou-se uma grande quantidade de nódulos linfáticos, com centros germinativos. As diferenças encontradas no íleo ocorreram na porção caudal, com uma redução no tamanho das vilosidades (Figura 3.4. B), em relação à porção cranial (semelhante ao jejuno) e observou-se uma maior quantidade de células caliciformes.

O Ceco é a porção com maior diferença histológica em relação às outras regiões analisadas. A luz intestinal dessa porção é pouco visível, porém com poucas vilosidades (Figura 3.5. A). A camada mucosa é abundante, ou seja, seu tamanho é grande devido ao seu tecido de sustentação/preenchimento (lâmina própria). A quantidade de nódulos linfáticos (Figura 3.5. A) com centros germinativos supera qualquer região, compondo também a lâmina própria.

No Cólon/Reto a camada mucosa apresenta reduzidas vilosidades e em menor número. Essa redução começou a aparecer desde a porção final do íleo. Além disso, é possível observar pregas longitudinais (Figura 3.5. B).

A Cloaca particularmente apresenta dois tipos de epitélio na região da mucosa. Inicialmente, o epitélio é estratificado colunar (Figura 3.5. C), porém na região final é caracterizado por um epitélio estratificado pavimentoso (Figura 3.5. D) e posteriormente vai se tornando queratinizado (Figura 3.5. E), devido a sua transição com a pele. Essa região é a única que apresenta a camada submucosa.

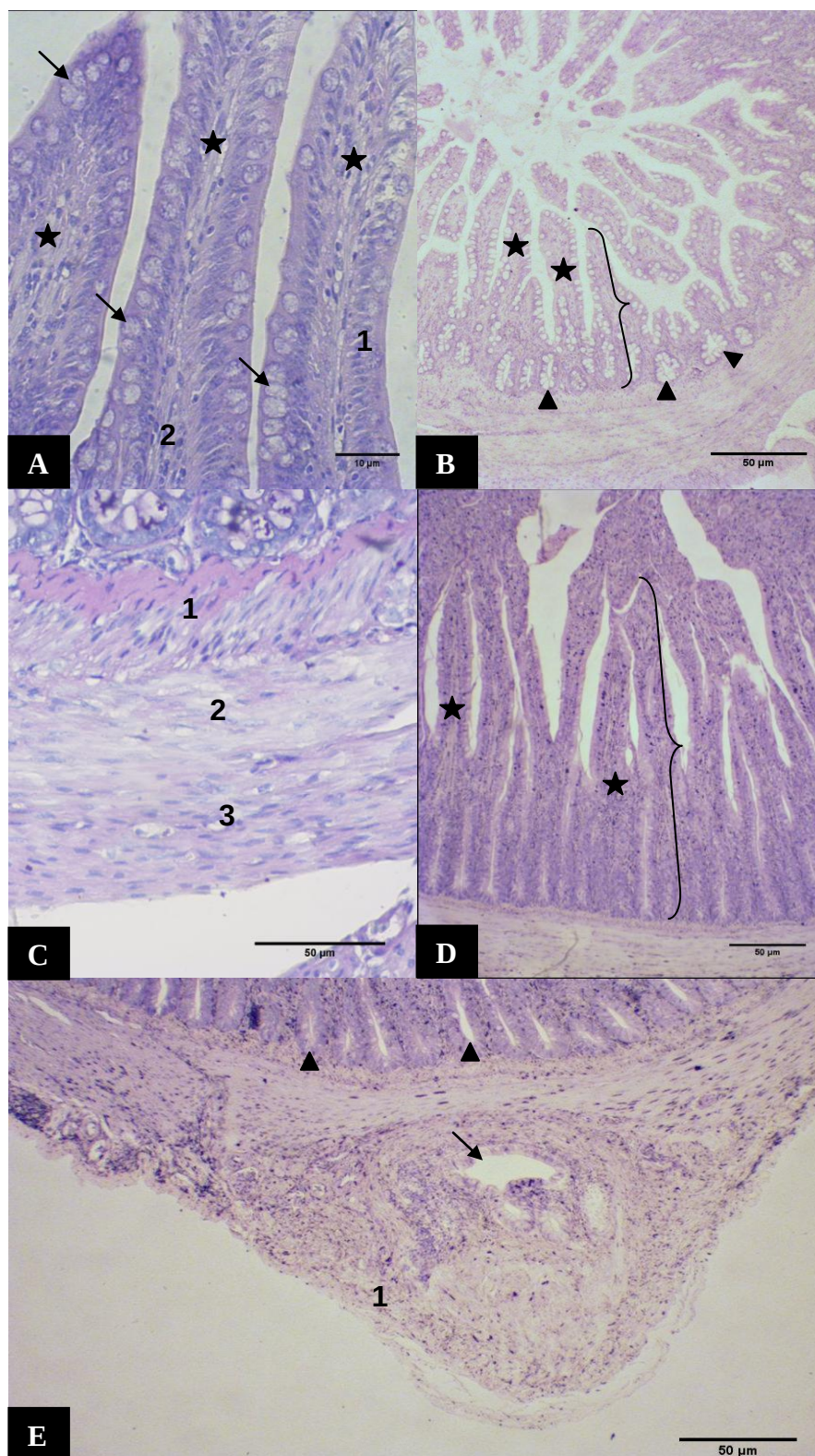


Figura 3.4. Fotomicrografia do trato intestinal do Gavião-carijó: A) Corte transversal do Íleo evidenciando as vilosidades (★), com epitélio simples colunar (1), possuindo enterócitos (formando a borda em escova/estriada) e células caliciformes (seta), e dando sustentação a vilosidade tem a camada da lâmina própria (2). Aumento de 400x, HE. B) Corte Transversal do Íleo Apresenta os mesmos componentes encontrados na região do Duodeno e Jejunio, porém ocorre uma redução do tamanho das vilosidades ({}), com isso, pode-se notar a presença de

glândulas intestinais (▲), aumento de 100x, HE. C) Corte transversal do Íleo. Apresentando as outras camadas que compõe o trato intestinal: muscular da mucosa (compõe a camada da mucosa) (1), muscular interna com seus feixes musculares (2) e a muscular externa com seus feixes longitudinais (3), aumento de 400x, P.A.S. D) Corte transversal do Duodeno. Na Camada da Mucosa (1) observou-se a presença de grandes vilosidades (★), aumento de 100x, HE. E) Corte transversal do Jejuno apresentando a última camada do trato intestinal a serosa, formada por mesotélio (1), com ducto associados (seta), aumento de 400x, HE.

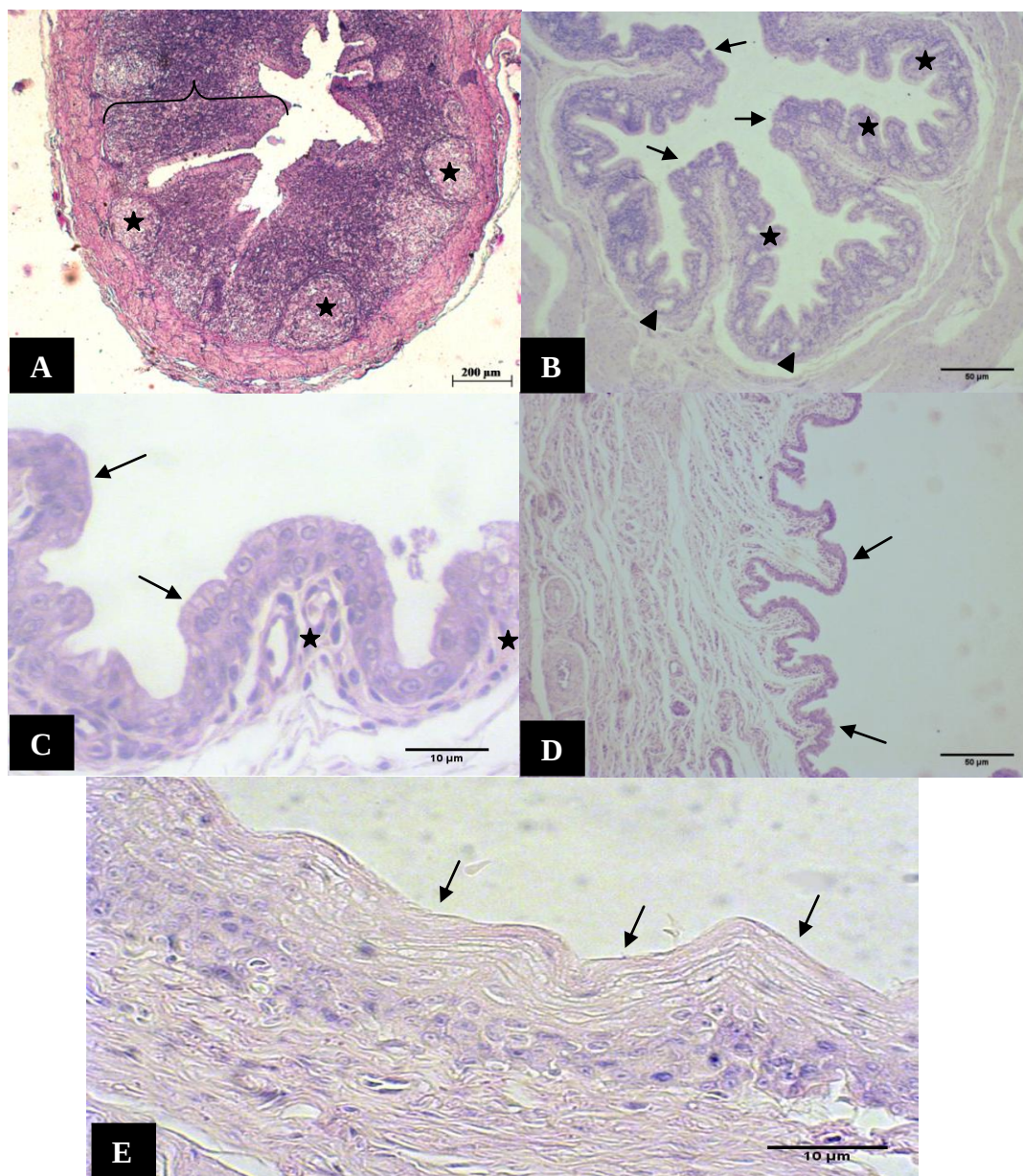


Figura 3.5. Fotomicrografia do trato intestinal do Gavião-carijó: A) Corte transversal do Ceco. Poucas vilosidades (1) são encontradas, mas a camada da mucosa se destaca pelo seu tamanho, com isso apresenta e nódulos linfáticos (com centros germinativos) (★), aumento de 50x, P.A.S. B) Corte transversal do Cólon/Reto. Apresenta pregas longitudinais (seta) e nelas suas vilosidades (★), em que na camada da mucosa, podem-se observar glândulas intestinais (▲); essas pregas são formadas a partir de tecido muscular (1) que se projeta para a luz intestinal, aumento 100x, HE. C) Corte transversal da Cloaca. Essa região é a parte cranial que se diferencia pelo seu tipo de epitélio estratificado colunar (seta) e logo abaixo a lâmina própria (★), aumento de 400x, HE. D) Corte transversal da cloaca. Apresenta um tipo de epitélio estratificado não queratinizado (seta), aumento de 100x, HE. E) Corte transversal da cloaca. Apresenta um tipo de epitélio estratificado queratinizado (seta), aumento de 400x, HE.

Quadro 3.1. Resumo comparativo entre as diferentes regiões do Trato Intestinal do Gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*).

CARACTERÍSTICAS	DUODENO	JEJUNO	ÍLEO	CECO	COLO/RETO	CLOACA
EPITÉLIO	Simples Colunar	Simples Colunar	Simples Colunar	Simples Colunar	Simples Colunar	Estratificado Colunar/ Pavimentoso
CÉLULAS CALICIFORMES	Presente	Presente	Muitas	Muitas	Muitas	Poucas
CÉLULAS ENTEROENDÓCRINAS	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
CÉLULAS DE PANETH	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
VILOSIDADES	Bastante alongadas	Longas	Porção inicial: longas / Porção final: reduzidas, mas numerosas.	Poucas	Presente	Poucas
PREGAS CIRCULARES	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
PREGAS LONGITUDINAIS	Ausente	Ausente	Porção final	Ausente	Presente	Ausente
NÓDULOS LINFÁTICOS	Presente	Presente	Grande quantidade	Abundante (com centros germinativos)	Abundante	Presente
GLÂNDULA INTESTINAL	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
LÂMINA PRÓPRIA	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
MUSCULAR DA MUCOSA	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Ausente
SUBMUCOSA	Atrofiada ou Inexistente	Atrofiada ou Inexistente	Atrofiada ou Inexistente	Atrofiada ou Inexistente	Atrofiada ou Inexistente	Atrofiada ou Inexistente
GLÂNDULA DUODENAL	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
MUSCULAR INTERNA	Sentido Circular	Sentido Circular	Sentido Circular	Sentido Circular	Sentido Circular	Sentido Circular
MUSCULAR EXTERNA	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal	Sentido Longitudinal
SEROSA	Mesotélio	Mesotélio	Mesotélio	Mesotélio	Mesotélio	Mesotélio

DISCUSSÃO

O Gavião-carijó apresenta uma média percentual de massa do trato digestório em relação ao peso corporal, maior do que o Carcará (*Caracara plancus* Miller, 1777), ave de rapina estudada por Franzo et al. (2007) e Fraga (2013) que apresentou um percentual de 1,60%. Essa relação sugere que o Gavião-carijó apresente uma baixa velocidade de esvaziamento do seu intestino, pois, Cherry e Siegel (1978) verificaram que frangos de corte com trato digestório mais pesados, apresentavam uma menor velocidade de esvaziamento gastrointestinal, permitindo assim, maior exposição dos nutrientes às células de absorção. Consequentemente esse fator pode estar relacionado à diferença no hábito alimentar dessas aves, pois o Gavião-carijó é carnívoro (Tortato 2009), enquanto que o Carcará tem um hábito onívoro (Sick 2001; Fraga 2013).

Em análise comparativa dos resultados obtidos com medidas conhecidas em aves de outras espécies, verificou-se que o comprimento do duodeno do Gavião-carijó (~11 cm) é relativamente curto, quando comparado ao dos Carcarás (40 cm) estudados por Franzo et al. (2007) e Fraga (2013). Esse fato pode ser atribuído ao Gavião-carijó por ser uma ave que necessita de uma digestão enzimática, já que ele tem um hábito alimentar exclusivamente carnívoro não necessitando apresentar intestinos longos (Tortato 2009). Diferindo do Carcará que tem hábito onívoro e necessita de uma extensão considerável do segmento intestinal, no qual ocorre à digestão química final e absorção de nutrientes para o sangue (Banks 1992). Esse mesmo fator também pode ser atribuído aos resultados relacionados com comprimento do jejuno do Gavião-carijó (~16 cm) que também é proporcionalmente curto quando comparados com o de galinha (*Gallus gallus domesticus* Linnaeus, 1758) (125 cm), pato (*Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758) (90 a 140 cm) e ganso (*Anser anser* Linnaeus, 1758) (150 a 185cm) estudados por Pilz (1937), já que essas aves também apresentam um hábito alimentar onívoro.

Em análise comparativa do percentual de massa e comprimento de cada estrutura do trato intestinal em relação ao trato completo (Figura 3.2), notou-se uma diferença entre a ave deste estudo e o Carcará estudado por Fraga (2013), pois a porção de maior massa, nesta ave foi o duodeno com uma média percentual (>43%) e o Íleo a porção com maior percentual de comprimento (>43%). Sugere-se que o local de maior absorção de nutrientes nas aves deste estudo seja o íleo, sendo essa uma porção do intestino importante na absorção de nutrientes

(Junqueira e Carneiro 2004). Já no carcará, seriam o duodeno e o íleo, os responsáveis pela maior parte absorção.

Os valores de comprimento dos cecos do Gavião-carijó em relação a outras aves obtiveram uma discrepância substancial. Em estudos realizados por Mitchell (1901) com galinhas, observou-se que os cecos desta ave apresentaram comprimento de 14 a 23,5cm, sendo um valor próximo também relatado em patos estudado por e Pilz (1937) o qual o ceco varia de 10 a 20 cm. No ganso essa diferença foi maior, pois estes apresentarm cecos entre 23 a 28 cm (Pilz 1937).

A função dos cecos está ligada a absorção de aminoácidos (Mortensen 1984) e degradação de proteínas (Chapin 1989), além da absorção de água (McNab 1973). Porém, não é uma estrutura anatômica vital, já que Galliformes vivem após a retirada dos mesmos (Dukes 1996). Estudos feitos por McNab (1973) afirmam que os Galliformes selvagens obtêm uma proporção importante de sua energia diária da fermentação bacteriana de fibras, especialmente se a disponibilidade de alimentos é escassa.

No Gavião-carijó, os nutrientes necessários para a manutenção do metabolismo corpóreo podem ser obtidos através da absorção em outras porções do intestino entre eles o jejuno e o íleo, principalmente o íleo, justificando o tamanho dessas vísceras, e também o seu hábito alimentar carnívoro, não necessitando apresentar cecos desenvolvidos. Pois não é preciso degradar celulose através de fermentação bacteriana.

O cólon-reto e a cloaca do Gavião-carijó são as porções com menor média de peso e de comprimento em relação às outras porções do trato intestinal. Entretanto, quando comparado ao do Carcará estudado por Fraga (2013), o Gavião-carijó obteve uma média de comprimento 13% maior, sugerindo que o mesmo necessite de mais absorção de água e eletrólitos em relação ao carcará, configurando uma maior extensão dessa porção do trato intestinal, já que a mesma apresenta essa função absorptiva (Junqueira e Carneiro 2004).

Histologia

Com relação ao padrão características histológicas do intestino delgado do Gavião-carijó: a camada mucosa, lâmina própria e muscular da mucosa apresentou-se semelhante ao de mamíferos estudado por Junqueira e Carneiro (2004). O epitélio encontrado na ave deste estudo também é comum em outras aves como em Carcarás (*Caracara plancus*) estudado por

Fraga (2013), mas difere de resultados obtidos em emas por Rodrigues et al. (2012), que apresenta o epitélio pseudo-estratificado.

As células caliciformes encontradas em abundância no epitélio produzem uma substância rica em mucinogênio, que ajuda reduzir o atrito com o alimento, protegendo a superfície intestinal com muco, devido aos variados valores de pH, lubrificando-a. O aglomerado de células na base das vilosidades formando as glândulas intestinais, caracteriza a importância da presença e quantidade de muco no trato intestinal.

A riqueza de fibroblastos, plasmócitos e linfócitos na lâmina própria, auxiliam na defesa contra microrganismos ingeridos na alimentação, e células lisas que dão movimentação as vilosidades para que o atrito entre o alimento e a superfície intestinal seja maior, e os nutrientes sejam absorvidos com maior eficácia.

A camada muscular da mucosa presente pode ser considerada como limite da camada mucosa com a camada muscular, sendo formada por fibras elásticas delgadas no sentido longitudinal. Segundo Monteiro et al. (2009) esse estrato também é encontrado em avestruzes (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758), porém Illanes et al. (2006), na mesma ave, observou dois tipos de estratos, um interno e outro externo, podendo estar presentes até um terceiro estrato na região do íleo. A estrutura da camada muscular do Gavião-carijó é diferente do encontrado na garça azulada (*Butorides striatus* Linnaeus, 1758) (Montaner 1997), a direção dos feixes no corte longitudinal de dispões de forma circular.

Em relação à camada submucosa, Firmino (2014) descreve que esta camada é fina e está presente apenas no intestino delgado. Em estudos realizados com araras (*Anodorhynchus hyacinthinus* Latham, 1790 e *Ara ararauna* Linnaeus, 1758) (Rodrigues et al. 2012a), avestruzes (Illanes et al. 2006; Monteiro et al. 2009), periquitos (*Melopsittacus undulatus* Shaw, 1805) (Matsumoto et al. 2009) e emas (*Rhea americana americana* Linnaeus 1758) (Rodrigues et al. 2012), foi possível observar a camada submucosa, mas em carcarás (Fraga 2013) ela não foi identificada.

Foi possível observar várias características relacionadas às porções do trato intestinal, contudo a diminuição do tamanho das vilosidades e o aumento gradativo da quantidade de células caliciformes na porção final do intestino delgado (íleo) especificam que nesta região o bolo fecal começa a ser formado, necessitando de uma maior lubrificação da luz intestinal. Essa mesma descrição citada acima pôde ser observada em araras (Rodrigues et al. 2012a) e avestruz (Illanes et al. 2006). Esse aumento no número de células caliciformes ainda foi maior

na porção Cólon/Reto, visto que esta porção é onde acontece a absorção de água e eletrólitos, consequentemente aumenta a dificuldade da passagem do bolo fecal que é facilitada por essa característica adaptativa (Junqueira e Carneiro 2004). Essa descrição também foi encontrada em carcarás (Fraga 2013) e avestruzes (Monteiro et al. 2009; Illanes et al. 2006).

CONCLUSÃO

Concluimos que o trato intestinal do Gavião-carijó apresenta características que facilitam a sua adaptação alimentar. A morfometria macroscópica do trato intestinal sugere que este tenha uma baixa velocidade de esvaziamento, devido aos intestinos curtos e pesados. Além disso, a presença de cecos vestigiais indica um hábito alimentar carnívoro, visto que em herbívoros os mesmos são maiores, já que realizam fermentação bacteriana para quebra de celulose. A presença de nódulos linfáticos (centros germinativos) caracteriza uma barreira imunológica contra agentes infecciosos. A porção cólon/reto/cloaca é alongada promovendo uma maior absorção de água e eletrólitos, e o aumento gradativo de células caliciformes nessa porção final explica a eficiência na evacuação do bolo fecal, facilitada pela grande quantidade de muco secretada por essas células.

REFERÊNCIAS

- Banks WJ (1992) Histologia veterinária aplicada. 2ª ed. Manole, São Paulo, pp 629
- Chapin SB (1989) Effect of caeectomy on water and nutrient absorption of birds. J Exp Zool Suppl 3:81- 86. doi: 10.1002/jez.1402520514
- Cherry JA, Siegel PB (1978) Selection for body weight of age. Feed passage and intestinal size of normal and dwarf chicken. Poultry Sci 57:336-340. doi: 10.3382/ps.0570336
- Dukes GE (1996) Digestão nas Aves. In: Swenson MJ e Reece WO (Eds) Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, pp 390-397
- Firmino MO, Siqueira RAS, Luna ACL, Cavalcante TA, Guerra RR (2014) Caracterização biométrica externa, avaliação corpórea e caracterização histológica do trato gastrintestinal de gaviões-carijó (*Rupornis magnirostris*) apreendidos pelo CETAS/IBAMA na Paraíba. Biotemas 27(1):101-108. doi: <http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2014v27n1p101>

Fraga KB (2013) Descrição morfométrica, análise parasitológica e histológica do intestino do Carcará (*Caracara plancus*, MILLER, 1777). Dissertação, Universidade Federal de Pernambuco

Franzo VS, Artoni SMB, Vulcani VAS, Sagula A, Moraes C (2007) Análise Biométrica do Intestino do carcará (*Polyborus plancus*, Miller, 1777). Biotemas 20:83-88. doi: <http://dx.doi.org/10.5007/20731>

Granzinolli MAM (2003) Ecologia Alimentar do gavião-do-rabo-branco *Buteo aubicaudatus* (Falconiformes:Accipitridae) no município de Juiz de Fora, sudeste do estado de Minas Gerais. Dissertação, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo

Illanes J, Fertilio B, Chamblas M, Leyton V, Verdugo F (2006) Descripción Histológica de los Diferentes Segmentos del Aparato Digestivo de Avestruz (*Struthio camelus var. domesticus*). International Journal of Morphology 24:205-214. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022006000300015>

Junqueria LC, Carneiro J (2004) Histologia Básica, 10ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro

Matsumoto FS, Carvalho AF, Franciolli ALR, Favaron PO, Miglino MA, Ambrósio CE (2009) Topografia e morfologia das vísceras do periquito-australiano (*Melopsittacus undulatus*, Shaw, 1805). Ciência Animal Brasileira 10:1263-70. doi: <http://dx.doi.org/10.5216/cab.v10i4.3776>

McNab JM (1973) The avian caeca: a review. World's Poultry Science Journal 29:251-63. doi: <http://dx.doi.org/10.1079/WPS19730014>

Mitchell PC (1901) On the intestinal tract of birds, with remarks on the valuation and nomenclature of zoological characters. Transamerica Society of London 8:173-275. doi: 10.1111/j.1096-3642.1901.tb00477.x

Monteiro CMR, Souza NTM, Carvalho RG, Souza WM (2009) Análise histológica do trato gastrointestinal de avestruzes jovens (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758). Revista Biotemas 22:149-55. doi: 10.11606/issn.2318-3659.v50i4p265-269

Mortensen A (1984) Importance of microbial nitrogen metabolism in the caeca of birds. In: Klug MJ e Reddy CA (eds) Current perspective in microbial ecology, American Society of Microbiology. The Macmillha Company, Washington D.C., USA, pp 273-278

Pilz H (1937) Artmerkmale am Darmkanal des Haugeflügels (Gans, Ente, Huhn, Taube). Gegenbaurs Morphologie Jahrb 79:275- 304.

Piratelli A, Andrade VA, Lima Filho M (2005) Aves de fragmentos florestais em área de cultivo de cana-de-açúcar no sudeste do Brasil. *Iheringia, Série Zoológica* 95:217-22. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212005000200013>

Ramos CCO, Benedito E, Zawadzki CH (2011) Dieta e conteúdo calórico de aves atropeladas na região central do estado do Paraná, Brasil. *Revista Biotemas* 24:153-70. doi: <http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2011v24n4p153>

Ricklefs RE, Miller GL (2000) *Ecology*. WH Freeman and Company, New York, USA

Robinson SK (1994) Habitat selection and foraging ecology of raptors in Amazonian Peru. *Biotropica* 26:443-58. doi: 10.2307/2389239

Rodrigues MN, Oliveira GB, Silva RSB, Tivane C, Albuquerque FFG, Miglino MA, Oliveira, MF (2012) Microscopical features of the digestive tract in the rhea (*Rhea americana Americana*, Linnaeus, 1758). *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Tecnology* (A. Méndez-Vilas, Ed.) 1:723-728.

Rodrigues MN, Abreu JAP, Tivane C, Wagner PG, Campos DB, Guerra RR, Rici REG, Miglino MA (2012a) Microscopical study the digestive tract of Blue and Yellow macaws. *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Tecnology* (A. Méndez-Vilas, Ed.) 1:414-421.

Santos WWMS, Copatti JF, Rosado FR (2009) Nidificação de gavião carijó *Rupornis magnirostris* (*Falconiformes, Accipitridae*) no município de Peabiru (Paraná, Brasil). *SaBios: Revista de Saúde e Biologia* 4:52-5.

Sick H (1997) *Ornitologia brasileira*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, pp 912

Sick H (2001) *Ornitologia Brasileira*. 4 ed, Nova Fronteira, Rio de Janeiro, pp 862

Tortato MA (2009) Predação de cuíca-d'água (*Chironectes minimus*: Mammalia, Didelphidae) por gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*: aves, accipitridae). *Mastozoo Neotrop* 16:491-493. doi:

1.4 DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES

Este trabalho teve como principais objetivos esclarecer a microbiologia e a morfologia macro e microscópica do trato intestinal de Gaviões-carijós (*Rupornis magnirostris*) provenientes da região nordeste do Brasil.

Na primeira parte deste trabalho foi analisada a microbiologia cloacal desta ave a fim de evidenciar a presença de enterobactérias de importância clínica (capítulo 2). Analisou-se também a suscetibilidade das bactérias frente a antimicrobianos, além do perfil de resistência dos isolados. Os resultados obtidos mostraram que quatro grupos de enterobactérias foram identificados sendo estes: *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella* spp.

Embora todas as enterobactérias isoladas apresentem importância clínica, os resultados relacionados à salmonelose foram os mais preocupantes, devido ao sua alta virulência e importância na saúde pública. Mesmo as aves vivendo em cativeiro, o que pode caracterizar esse alto índice de infecção, esta enterobactéria pode ser um grande potencial de risco para a saúde humana e de outros animais.

Além disto, foi observado a presença de 3 cepas (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *Salmonella* spp) com perfil multirresistente a antimicrobianos, resultado que está relacionado com a vida do animal em cativeiro. Este fato justifica-se pelas elevadas trocas genéticas com micro-organismos, a facilidade de contato com animais infectados e pela ingestão de alimentos com possíveis antibióticos.

Na segunda parte deste trabalho foi analisada a morfologia macroscópica e microscópica (histologia) do trato intestinal do Gavião-carijó a fim de descrever a sua estrutura e as possíveis diferenças em relação a aves do mesmo grupo, assim como relacionar essas peculiaridades com a sua alimentação (capítulo 3).

Os resultados obtidos mostraram que o Gavião-carijó tem um trato intestinal semelhante ao das demais aves, porém com algumas peculiaridades que corroboraram com o seu hábito alimentar carnívoro, como por exemplo, a presença de cecos vestigiais, intestinos curtos e pesados. Além disto, decorrente da análise das características teciduais do trato intestinal observou-se semelhanças com o trato do Carcará (ave de rapina onívora), assim como diferenças quanto à camada submucosa em relação a esta ave, e outras silvestres. As características encontradas no ceco e na lâmina própria evidenciam a eficácia do sistema imunológico perante o seu hábito alimentar, protegendo o Gavião-carijó contra infecções provenientes de suas presas. Além disto, observou-se a distribuição e aumento gradativo de células caliciformes, assim como acompanhamento decrescente das

vilosidades, salientando a eficácia na absorção de nutrientes, assim como reabsorção de água e eletrólitos na porção cólon/reto, facilitando a excreção do bolo fecal. Por fim observou-se a transição de epitélio encontrado na cloaca, de tecido epitelial colunar simples à pavimentoso queratinizado, caracterizando a zona de transição da mucosa com pele.

Todas as características observadas e descritas do trato intestinal do Gavião-carijó visam corroborar com estudos acerca da conservação animal. O conhecimento morfológico de espécies animais, correlacionado com o seu hábito alimentar, promove maiores informações acerca dessa ave e um aprimoramento na sua conservação e nas espécies ecologicamente inter-relacionadas.

REFERÊNCIAS

ANDERY, D. A. **Perfil sanitário de rapinantes de cativeiro e recolhimento em um Centro de Triagem de Animais Silvestres**, Belo Horizonte, MG, 2011. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2011.

ANTAS, P. T. Z. **Aves do Pantanal**. RPPN. Sesc, 2005.

AZEVEDO, M. A. G.; MACHADO, D. A.; ALBUQUERQUE, J. L. B. Aves de rapina na Ilha de Santa Catarina, SC: composição, frequência de ocorrência, uso de habitat e conservação. **Ararajuba**, v. 11, n. 1, p. 75-81, 2003.

BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. In: Conferência Facta de ciência e tecnologia avícolas, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: FACTA, p. 261-274, 2009.

BROWN, L. **Birds of prey**. 2. ed. London: Chancellor Press, 1997. 256 p.

CATÃO-DIAS, J. L.; CARVALHO, V. M. Tuberculose, In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens - medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, cap, 43, p. 726-735.

CHERRY, J. A.; SIEGEL, P. B. Selection for body weight of age. Feed passage and intestinal size of normal and dwarf chicken. **Poultry Science**, v. 57, n. 2, p. 336-340, 1978.

COOPER, J. E. Nutricional diseases, including poisoning in captive birds. In COOPER, J. E. **Birds of prey: health & diseases**. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, cap. 10, 2002. p. 143-162.

CURCINO, A.; HEMING, N.; FERABOLI, A. **Predação oportunística de passeriforme em rede-de-neblina por indivíduo de *Rupornis magnirostris* (Falconiformes: Accipitridae)**. Atualidades Ornitológicas Nº 151, 2009. Disponível em: <www.ao.com.br> Acesso em: 19 fev. 2014.

DYCE, K. M.; SACK, O. W.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 663.

ERICSON, P. G.; ANDERSON, L. C.; BRITTON, T.; ELZANOWSKI, A.; JOHANSSON S. U.; KALLESRSJO, M.; OHLSON, I. J.; PARSON, J. T.; ZUCCON, D.; MAYR, G. Diversification of Neoaves: integration of molecular sequence data and fossils. **Biology Letters**, v. 2, p. 543-547. 2006.

FERGUSON-LESS, J.; CHRISTIES, D. A. **Raptors of the world**. New York: Houghton Mifflin Company, 2001.

FRAGA, K. B. 2013. **Descrição morfométrica, análise parasitológica e histológica do intestino do Carcará (*Caracara plancus*, MILLER, 1777)**. 2013. 77 f. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, 2013.

GILL, F., DOSKEN, D. (eds.). **Intestinal Ornithological Committee, IOC – World Bird List**, v. 3.3. 2013. Disponível em: <<http://www.wordbirdnames.org/>>. Acesso em: 18 fev 2014.

GODOY, M. F. **El istema igestivo en iferentes espécies de aves**. 2013. Disponível em: <<http://www.aiza.org.ar/doc/Sist%20dig%20diferentes%20especies%20aves.pdf>>. Acesso em: 06 dez 2013.

GODOY-VITORINO, F.; LEY, R. E.; GAO, Z.; PEI, Z.; ORTIZ-ZUAZAGA, H.; PERICHI, L. R.; GARCIA-AMADO, M. A.; MICHELANGELI, F.; BLASER, M. J.; GORDON, J. F;

DOMÍNGUEZ-BELLO, M. G. Bacterial community in the crop of the hoatzin, a Neotropical folivorous flying bird. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 5905-12, 2008.

GRANZINOLLI, M. A. M. **Ecologia Alimentar do gavião-do-rabo-branco *Buteo aubicaudatus* (Falconiformes:Accipitridae) no município de Juiz de Fora, sudeste do estado de Minas Gerais**. São Paulo, SP: 2003. Originalmente apresentado como dissertação de mestrado, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2003.

GUERRERO, P. P. SANCHEZ, F. G. SABORIDO, D. G. LOZANO, I. G. Infecciones por enterobacterias. **Medicine**, v. 11, n. 55, p. 3276-82. 2014.

HACKETT, S. J.; KIMBALL, R. T.; REDDY, S.; BOWIE, R. C. K.; *et al.* A phylogenomic study of birds reveals their evolutionary history. **Science**, v. 320, n. 5884, p. 1763-1768, 2008.

ICMBio. Plano de ação nacional para a conservação de aves de rapina. **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade**, Coordenação-Geral de Espécies Ameaçadas. – Brasília: ICMBio, 2008. 136 p. (Série Espécies Ameaçadas, 5).

ITO, N. M. K. Fisiologia do Sistema Gastroentérico. In: **Patologia do Sistema Gastroentérico** Editado por Elanco Saúde Animal. 1997, p. 9-52.

IUCN, **IUCN Red List of Threatened Species**. Versão 2013.1. 2013. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 09 out. 2013.

KEYMER, I. F. Diseases of birds of prey. **Veterinary Record**, v. 90, p. 579, 1972.

LERNER, H. R. L.; KLAVER, M. C.; MINDELL, D. P. Molecular phylogenetics of the buteonine birds of prey (Accipitridae). **American Ornithologists' Union: AUK**. v. 125, p. 304-31, 2008.

LUNASCHI, L. I.; DRAGO, F. B. Strigeid parasites of the roadside hawk, *Buteo magnirostris* (Aves: Falconiformes), from Argentina. **Zootaxa**, v. 1106, p. 25–33, 2006.

MACHADO, A. C. R. Helminths Parasites em Aves Anseriformes que ocorrem em Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, v. 35, n. 3, p. 185-198, 2006.

MELO, C. M. F.; OLIVEIRA, J. B.; FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R.; *et al.* Parasites of Psittaciformes and Accipitriformes in Paraíba state, northeastern Brazil. Jaboticabal. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 314-317. 2013.

MENQ, W. **Portal aves de rapina Brasil – Gavião carijó**. 2011. Disponível em: <<http://www.avesderapinabrasil.com/>>. Acesso em: 31 Março. 2015.

MORAN JR., E. T. Comparative nutrition of the fowl and swine. **in: The Gastrointestinal Systems**, University of Guelph, Guelph, Ontário, Canada. 1982.

NEWTON, I. **Population ecology of raptors**. Vermillion: Buteo Books. 1979.

PENZ, A. M.; MAGRO, N. Granulometria de rações: Aspectos fisiológicos. Simpósio sobre granulometria de ingredientes e rações para suínos e aves. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, p. 1-12, 1998.

PINTO, R. M.; VICENTE, J. J.; NORONHA, D. Nematode parasites of brazilian Accipitrid and Falconid birds (Falconiformes). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 359-362, 1994.

PIRATELLI, A.; ANDRADE, V. A.; LIMA FILHO, M. Aves de fragmentos florestais em área de cultivo de cana-de-açúcar no sudeste do Brasil. **Iheringia, Série Zoológica**, Porto Alegre, v. 95, n. 2, p. 217-222, 2005.

PIRLOT, P. **Morfologia evolutiva de lós cordados**. Barcelona: Omega, 1976. p.481-484.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; JANIS, C. M. **A vida dos vertebrados**. 4ª ed. São Paulo: Atheneu. 2008.

PUERTA-GARCÍA, A.; MATEOS-RODRÍGUEZ F. Enterobacterias. **Medicine**, v. 10, n. 51, p. 3426-31. 2010.

RAMOS, C. C. O.; BENEDITO, E.; ZAWADZKI, C. H. Dieta e conteúdo calórico de aves atropeladas na região central do estado do Paraná, Brasil. **Revista Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 153-170, 2011.

RICKLEFS, R. E.; MILLER, G. L. **Ecology**. W. H. Freeman and Company, New York: USA, 2000.

RIESING, M. J.; KRUCKENHAUSER, L.; GAMAUF, A.; HARING, E. Molecular phylogeny of the genus *Buteo* (Aves: Accipitridae) based on mitochondrial marker sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. V. 27, p. 328–342, 2003.

ROBINSON, S. K. Habitat selection and foraging ecology of raptors in Amazonian Peru. **Biotropica**. v 26, p. 443-458, 1994.

SANTOS, W. M.; ROSADO, F. R. Dados preliminares da biologia do gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*, Gmelin, 1788) na região noroeste do paraná. In: VI EPCC - Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, 2009. Maringá. VI EPCC - Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, 2009.

SANTOS, W. W. M. S.; COPATTI, J. F.; ROSADO, F. R. Nidificação de gavião carijó *Rupornis magnirostris* (Falconiformes, Accipitridae) no município de Peabiru (Paraná, Brasil). **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 4, n. 2, p. 52-55, 2009.

SERGIO, F.; CARO, T.; BROWN, D.; CLUCAS, B.; HUNTER, J.; KETCHUM, J.; MCHUGH, K.; HIRALDO, F. Top predators as conservation tools: ecological rationale, assumptions, and efficacy. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 39, p. 1-19, 2008.

SICK, H. **Ornitologia brasileira, uma introdução**. 3 ed., Brasília: Universidade de Brasília, 1988. 827 p.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 1997. 912p.

SORUM, H.; SUNDE, M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. **Veterinary Research**, v. 32, p. 227–241, 2001.

THIOLLAY, J. M. 1994. Family Accipitridae (Hawks and Eagles). In: del Hoyo, J.; Elliott, A.; SARGATAL, J. (eds). **Handbook of the birds of the world**. v. 2. New World Vultures to Guineafowl. Barcelona: Lynx Edicions, 1994. p. 52-205.

TORTATO, M. A. Predação de cuíca-d'água (*Chironectes minimus*: MAMMALIA, DIDELPHIDAE) por gavião-carijó (*Rupornis magnirostris*: AVES, ACCIPITRIDAE). **Mastozoología Neotropical**, v. 16, n. 2, p. 491-493, 2009.

ANEXOS

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 29 de agosto de 2013.

Ofício nº 622/13

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Carolina Peixoto Magalhães**

Centro Acadêmico de Vitória - CAV

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.018906/2013-25

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Análise histomorfométrica do trato digestório do Gavião-Carijó (*Rupornis magnirostris*) mantido em cativeiro.**"

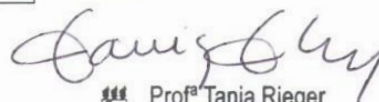
Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição – UFPE; Animais: Gavião-Carijó; Idade: adulto; Sexo: machos e fêmeas; Nº total de animais: 12.

Atenciosamente,


Prof.ª Tania Rieger
Presidente do CEUA/CCB-UFPE
SIAPE 2306924

[BJVRAS] Decisão editorial



Silvio Arruda Vasconcellos [Adicionar aos contatos](#) 01/09/2015

Para: bel_macario@yahoo.com.br Cc: ewerton.fylipe@hotmail.com, francyne_bar

Profa. Dra. Isabella Macário Ferro Cavalcanti,

Foi tomada uma decisão sobre o artigo submetido à revista Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, "Cloacal enterobacteria isolated from captive Roadside Hawks (*Rupornis magnirostris*, GMELIN, 1788) and their antimicrobial susceptibility profile".

A decisão é: O manuscrito foi aceito para publicação e enviado para a edição final. A revista entrará em contato para continuar o processo de publicação. Agradecemos seu interesse em publicar no BJVRAS e estamos a sua disposição para o envio de novas contribuições.

Atenciosamente

Prof. Dr. Francisco Javier Hernandez Blazquez
Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Fone 551130911374
fjhblazq@usp.br
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo
Departamento de Cirurgia

Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP
Fone: (11) 3091-7636
www.revistas.usp.br/bjvras
bjvras@usp.br



Diretrizes para Autores

Normas editoriais

O periódico *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* é uma publicação trimestral, vinculada à *Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia* da Universidade de São Paulo e conta com o apoio da Fundação de Medicina Veterinária (FUMVET). Destina-se a publicar trabalhos científicos sobre medicina veterinária e ciências afins. Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação da *comissão editorial*, com assessoria de especialistas da área (*peer review*). A lista de colaboradores (relatores) é publicada no último fascículo do volume/ano. Os trabalhos cujos textos necessitem de revisões ou correções que não puderem ser feitas pelos editores serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade dessa revista. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. Os trabalhos que tiverem a utilização de animais deverão apresentar a aprovação do protocolo experimental por Comitê de Ética. Qualquer que seja o tipo do trabalho deverá ser inédito e destinar-se exclusivamente a esse periódico. Os trabalhos para publicação deverão ser submetidos no portal de revistas da USP no URL: <http://www.revistas.usp.br/bjvras>

Artigo completo

- 1 - Ser escrito em língua inglesa.
- 2 - Limitar-se ao máximo de dez páginas digitadas, não sendo contadas apenas as páginas onde constem tabelas e ilustrações.
- 3 - Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do artigo.
- 4 - Ser estruturado dentro dos seguintes itens: a) Introdução; b) Materiais e Métodos; c) Resultados; d) Discussão (se conveniente, é possível a associação dos tópicos “Resultados” e “Discussão”); e) Agradecimentos; f) Referências; g) Resumo/Palavras-chave; Abstract/Keywords.
- 5 - Apresentar, obrigatoriamente, dois resumos, nos idiomas inglês e português, não devendo ultrapassar 250 (duzentas e cinquenta) palavras, seguidos das palavras-chave/Keywords, limitadas a cinco, que correspondem a palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo.

Nota de Pesquisa / Relato de Caso

- 1 - Ser escrita em língua inglesa.
- 2 - Limitar-se ao máximo de três páginas digitadas.
- 3 - Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do artigo.
- 4 - Não devem ser subdivididos em seções separadas (Introdução, Materiais e Métodos etc), mas devem apresentar, obrigatoriamente, dois resumos (Português e Inglês), com palavras-chave/keywords, conforme descrito na apresentação de artigo completo, além de referências.

Artigos de revisão

Só poderão ser publicados por especialistas de renome a convite da comissão editorial. Não devem ser subdivididos em seções separadas (Introdução, Materiais e Métodos, etc.), mas devem apresentar,

obrigatoriamente, dois resumos (Português e Inglês), com palavras-chave/keywords, conforme descrito na apresentação de artigo completo, além de referências.

Apresentação dos trabalhos

1 - Digitação: obrigatoriamente, em formato A4 (21,0 x 29,7cm), espaço 1,5, margens de 2,5 cm, fonte Times New Roman tamanho 12 e numeração consecutiva das páginas. Todas as Ilustrações devem conter título, fonte e, caso necessário, legenda. O texto dos artigos deve ser apresentado utilizando-se as extensões: doc, rtf ou odt;

2 - Página de rosto: elemento obrigatório, onde deve conter o título do artigo (Português e Inglês), nomes por extenso dos autores, instituições de origem e endereço de email de todos os autores.

3 - Tabelas: devem ser numeradas em algarismos arábicos e encabeçadas por um título, seguido de local e data. Na montagem das tabelas seguir: IBGE. **Normas de apresentação tabular**. 3. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1993. 61 p. O limite de tabelas por trabalho é de cinco. Em casos excepcionais, conhecida a opinião da comissão editorial, este número poderá ser ultrapassado. No texto devem ser indicadas pela palavra tabela (por extenso).

4 - Ilustrações (fotografias, gráficos, quadros, desenhos ou esquemas): devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas no texto. As ilustrações devem ser identificadas com o título e fonte. Fotos devem ter resolução mínima de 300 dpi's. As legendas de ilustrações coloridas devem estar referenciadas somente por setas, símbolos e pontos quando publicadas em preto e branco. Os gráficos devem trazer sempre os valores numéricos que lhes deram origem. Desenhos e esquemas devem apresentar boa qualidade técnica e artística. Para citar as ilustrações no texto indicar a nomenclatura por extenso conforme segue: se estiver entre parênteses utilizar letra maiúscula na inicial da palavra, ex: (Figura 1) e minúsculas se estiver inserida no texto, ex. figura 1. Indicar junto ao título da ilustração o local e data. Logo abaixo da ilustração indicar a fonte de origem mesmo sendo de autoria própria. As ilustrações serão publicadas coloridas na revista eletrônica, na revista em papel serão publicadas em preto e branco. Desta forma, recomendamos cuidados especiais para que seja possível uma boa leitura da imagem mesmo em preto e branco.

5 - Agradecimentos: a critério dos autores.

6 - Referências: As referências são organizadas por ordem alfabética e reunidas no final do trabalho. São digitadas com espaçamento simples, alinhadas à esquerda e não devem ser justificadas. Devem ser relacionados todos os autores, não usar a expressão *et al*. Os títulos de periódicos devem ser mencionados por extenso. As referências devem seguir a normalização da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 6023, que deve ser consultada para outros tipos de documentos aqui não exemplificados.

Exemplos de Referências:

☐ **Periódico**

KOTZEKIDOV, P.; BLOUKAS, J. G. Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelflife of sliced vacuum-pocked cooked ham. **Meat Science**, v. 42, n. 3, p. 333-345, 1996. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0309174095000380>>. Acesso em: 15 jun. 2014. doi:

[http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00038-0](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(95)00038-0).

☐ **Livro**

HALLIWELL, R. E. W.; GORMAN, N. T. **Veterinary clinical immunology**. London: W. B. Saunders, 1989. 548 p.

☐ **Autor diferente para livro e capítulo**

FENNER, W. R. Avaliação neurológica dos pacientes. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 577-606.

☐ **Mesmo autor para o livro e capítulo**

THORTON, H. Deleterius changes in meat. In: THORTON, H. **Aspects of meat inspection**. London: Thindall & Cassel, 1973. p. 63-72.

☐ **Tese**

BIRGEL, E. H. **Estudo do quadro eritrocitário de caprinos (*Capra hircus*, L.) normais criados no Estado de São Paulo:** influências de fatores raciais, sexuais, etários e alimentares. 1973. 92 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1973.

□ **Evento**

OLIVEIRA, C. A. Hormonoterapia em cadelas e gatas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. p. 100-111.

□ **Livro eletrônico**

POORE, M. H. **Alternative feeds for beef cattle.** North Carolina: North Carolina Corporative Extension Service, 1994. Disponível em: <<http://www.ces.ncsu.edu/drought/dro-28.html>>. Acesso em: 23 abr. 2007.

□ **Artigos de periódicos eletrônicos**

MENDONÇA JR., C. X.; MARTINS, A. P.; MORI, A. V.; SILVA, A. B.; MORI, C. S. Efeito da adição de óleo de peixe à dieta sobre o desempenho e níveis de lípides plasmáticos e de colesterol no ovo de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 1, 2000. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/5854>>. Acesso em: 31 jan. 2001. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962000000100014>.

7 - Citações: utilizar o Sistema Autor Data, conforme ABNT NBR 10520. As citações devem ser apresentadas no texto e subordinar-se à forma (AUTOR, data), como no exemplo (SANTOS, 2001). Quando a citação estiver inserida no texto utilizar letra minúscula, ex.: Santos (2001).

Exemplo de citações:

Um autor - sobrenome do autor e data: Valberg (1996) ou (VIEIRA, 1991).

Dois autores - sobrenome dos autores e data: Strunk e White (1979) ou (STRUNK; WHITE, 1979).

Três autores – para referência que possui três autores, citar os três autores no texto. Volpato, Gonçalves-de-Freitas e Jordão ou (VOLPATO; GONÇALVES-DE-FREITAS; JORDÃO, 2006).

Quatro ou mais autores - sobrenome do primeiro autor com a expressão et al. sem itálico. Carvalho et al. (2003); Zogno et al. (2004) e Addo et al. (2007). ou (CARVALHO et al., 2003; ZOGNO et al., 2004; ADDO et al., 2007).

Tarifa de publicação: A tarifa de publicação de R\$ 400,00 será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da aprovação do artigo. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta do autor.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao editor".
2. O arquivo da submissão deve estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF.
3. URLs das referências devem ser informadas.
4. O texto deve estar em espaço 1,5; usar uma fonte de 12-pontos; empregar itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL).
5. O texto deve seguir os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na página da Revista.

Instructions for Authors

Types of papers

The journal publishes Original papers and Reviews.

Original papers should present substantial new results that have never been published or submitted elsewhere; they should not exceed 10 printed pages (one printed page corresponds to approximately: 850 words text, or 3 illustrations with their legends, or 55 references) and should be arranged as detailed below.

Reviews should not exceed 25 printed pages. Please contact the Editor-in-Chief prior to submission.

Manuscript Submission

- Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

- Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

- Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Cost of Color illustrations

- Online publication of colour illustrations is always free of charge.
- For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs of EUR 950 / US\$ 1150 (+ local tax) per article, irrespective of the number of figures in it.
- Suggesting Reviewers

While submitting your paper you will be asked to suggest three potential reviewers. Indicating three reviewers is mandatory.

Language

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to ask a native speaker to help you or arrange for your manuscript to be checked by a professional language editor prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process.

The following editing service provides language editing for scientific articles in medicine, biomedical and life sciences, chemistry, physics, engineering, business/economics, and humanities

- [Edanz Editing Global](#)

Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

Title Page

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.

- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

- [LaTeX macro package \(zip, 182 kB\)](#)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

Specific Remarks

Please arrange your manuscript as follows:

- Introduction

The Introduction should be brief and state the purpose of the work in relation to other work in the same field. It should not present an extensive review of the literature and contain the scientific question or testable hypothesis that led to the study.

- The Materials and methods

This section should provide enough information to permit repetition of the experimental work.

- Results

This section should present the findings of the research, supported by statistical or illustrative validation of the assertions. It should be free of discussion.

- Discussion

The Discussion should cover but not simply repeat the new findings presented in Results, setting these in context and interpreting them with a minimum of speculation. It should refer to the question/hypothesis mentioned in the Introduction.

Scientific style

- Genus and species names should be in italics.
- Authors of scientific names of the genus and species group should not be italicized; they are not to be abbreviated.
- Nomenclature

Names for higher taxa should refer to monophyletic units, not to paraphyla (use, e.g., Teleostei or Plathelminthes but not designations such as Pisces or Turbellaria). International nomenclature conventions must be observed, especially the International Code of Zoological Nomenclature (IRZN). At first mention, a specific name should be cited with nomenclatural author and year, e.g. *Catenula lemmnae* (in italics) Dugès, 1832. Authors unfamiliar with the taxonomy of the group to which a species belongs should consult an expert to ensure that it is properly identified and that the correct name is used.

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995a, b; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999, 2000).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted

for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Order multi-author publications of the same first author alphabetically with respect to second, third, etc. author. Publications of exactly the same author(s) must be ordered chronologically.

- Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

- Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med.* doi:10.1007/s001090000086

- Book

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London

- Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

- Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

- Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

- [ISSN LTWA](#)

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

- [EndNote style \(zip, 2 kB\)](#)

Tables

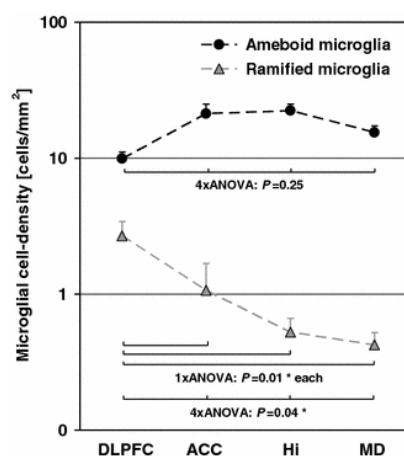
- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork and Illustrations Guidelines

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

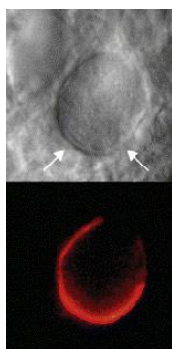
Line Art



- Definition: Black and white graphic with no shading.

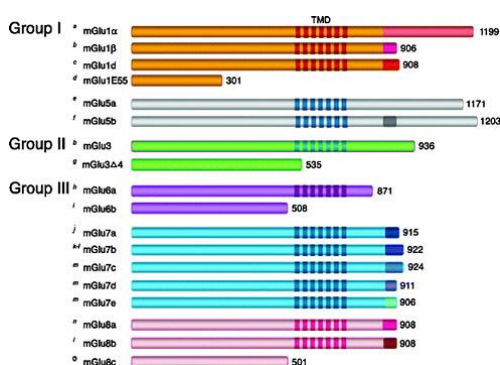
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,

"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts.

Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- Figures should be submitted separately from the text, if possible.
- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

3D Images

Three-dimensional images are published as 3D-pdfs as electronic supplementary material (see further instructions below).

Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Aspect ratio: 16:9 or 4:3
- Maximum file size: 25 GB
- Minimum video duration: 1 sec
- Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

Does Springer provide English language support?

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process.

The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas Springer

publishes in:

- [Edanz English editing for scientists](#)

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

For Authors from China

文章在投稿前进行专业的语言润色将对作者的投稿进程有所帮助。作者可自愿选择使用Springer推荐的编辑服务，使用与否并不作为判断文章是否被录用的依据。提高文章的语言质量将有助于审稿人理解文章的内容，通过对学术内容的判断来决定文章的取舍，而不会因为语言问题导致直接退稿。作者需自行联系Springer推荐的编辑服务公司，协商编辑事宜。

- [理文编辑](#)

For Authors from Japan

ジャーナルに論文を投稿する前に、ネイティブ・スピーカーによる英文校閲を希望されている方には、Edanz社をご紹介します。サービス内容、料金および申込方法など、日本語による詳しい説明はエダンズグループジャパン株式会社の下記サイトをご覧ください。

- [エダンズグループジャパン](#)

For Authors from Korea

영어 논문 투고에 앞서 원어민에게 영문 교정을 받고자 하시는 분들께 Edanz 회사를 소개해 드립니다. 서비스 내용, 가격 및

신청 방법 등에 대한 자세한 사항은 저희 Edanz Editing Global 웹사이트를 참조해 주시면 감사하겠습니다.

- [Edanz Editing Global](#)

Ethical Responsibilities of Authors

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

- The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”).

- A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).
- No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

- Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.
- Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

In addition:

- Changes of authorship or in the order of authors are not accepted **after** acceptance of a manuscript.
- Requesting to add or delete authors at revision stage, proof stage, or after publication is a serious matter and may be considered when justifiably warranted. Justification for changes in authorship must be compelling and may be considered only after receipt of written approval from all authors and a convincing, detailed explanation about the role/deletion of the new/deleted author. In case of changes at revision stage, a letter must accompany the revised manuscript. In case of changes after acceptance or publication, the request and documentation must be sent via the Publisher to the Editor-in-Chief. In all cases, further documentation may be required to support your request. The decision on accepting the change rests with the Editor-in-Chief of the journal and may be turned down. Therefore authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission.
- Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief’s implementation of the following measures, including, but not limited to:

- If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.
- If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note.
- The author’s institution may be informed.

Compliance with Ethical Standards

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

Disclosure of potential conflicts of interest

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work.

Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

- Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)
- Honoraria for speaking at symposia
- Financial support for attending symposia
- Financial support for educational programs
- Employment or consultation
- Support from a project sponsor
- Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- Multiple affiliations
- Financial relationships, for example equity ownership or investment interest
- Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)
- Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found

- [here](#):

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

Funding: This study was funded by X (grant number X).

Conflict of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker

honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Research involving human participants and/or animals

1) Statement of human rights

When reporting studies that involve human participants, authors should include a statement that the studies have been approved by the appropriate institutional and/or national research ethics committee and have been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that the independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study.

The following statements should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.”

For retrospective studies, please add the following sentence:

“For this type of study formal consent is not required.”

2) Statement on the welfare of animals

The welfare of animals used for research must be respected. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals have been followed, and that the studies have been approved by a research ethics committee at the institution or practice at which the studies were conducted (where such a committee exists).

For studies with animals, the following statement should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.”

If applicable (where such a committee exists): “All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the institution or practice at which the studies were conducted.”

If articles do not contain studies with human participants or animals by any of the authors, please select one of the following statements:

“This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.”

Informed consent

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have, for example, the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered, to what they have said during a study or an interview, as well as to any photograph that was taken. Hence it is important that all participants gave their informed consent in writing prior to inclusion in the study. Identifying details (names, dates of birth, identity numbers and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scientific purposes and the participant (or parent or guardian if the participant is incapable) gave written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases, and informed consent should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning.

The following statement should be included:

Informed consent: “Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.”

If identifying information about participants is available in the article, the following statement should be included:

“Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article.”

After Acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing

option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

- [Springer Open Choice](#)

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

- [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](#)

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.