UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, BEM-ESTAR E PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL NA FRONTEIRA SUL - PPG-SBPAS

ISADORA MORAIS MASSA

Estudo Clínico-Molecular de *Chlamydophila psittaci* em Calopsitas de Criadouro Comercial: Uma Abordagem com PCR em Pool para Zoonose

REALEZA
2025

ISADORA MORAIS MASSA

Estudo Clínico-Molecular de *Chlamydophila psittaci* em Calopsitas de Criadouro Comercial: Uma Abordagem com PCR em Pool para Zoonose

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável.

Orientador: Prof. Dra. Tatiana Champion

REALEZA
2025

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Massa, Isadora Morais
Estudo Clínico-Molecular de Chlamydophila psittaci em Calopsitas de Criadouro Comercial: Uma Abordagem com PCR em Pool para Zoonose / Isadora Morais Massa. -- 2025.
36 f.:il.

Orientadora: Doutora Tatiana Champion

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável Na Fronteira Sul, Realeza,PR, 2025.

1. Psitacose. 2. Aves. 3. Métodos diagnósticos. 4. Zoonose. I. Champion, Tatiana, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ISADORA MORAIS MASSA

Estudo Clínico-Molecular de *Chlamydophila psittaci* em Calopsitas de Criadouro Comercial: Uma Abordagem com PCR em Pool para Zoonose

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável Na Fronteira Sul da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS. Para obtenção do título de Mestre em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em _06_/_08_/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br TATIANA CHAMPION
Data: 05/10/2025 10:00:47-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dra. Tatiana Champion – UFFS
Orientadora

Documento assinado digitalmente
gov.br BRUNA FARIAS ALVES
Data: 24/09/2025 21:09:38-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dra. Bruna Farias Alves - UCEFF
Avaliador

Documento assinado digitalmente
gov.br GABRIELLE COELHO FREITAS
Data: 25/09/2025 09:20:18-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dra. Gabrielle Coelho Freitas - UFSM
Avaliador

Que o sucesso deste caminho traga benefícios a todos aqueles que passarão pelas nossas mãos no futuro, e que este trabalho possa auxiliar colegas na clínica particular.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que abre todas as portas e dita todos os caminhos a serem seguidos.

A minha família, que sempre foi e sempre será minha base e meu maior apoio e exemplo, mãe, pai e mano, vocês são tudo para mim.

Agradeço especialmente a professora Tatiana que aceitou o compromisso de me orientar, se dispôs a me guiar nesse desafio, com carinho e paciência, ainda compreendendo a influência da minha rotina tumultuada em meio a tudo isso, meu eterno agradecimento! Ao professor Gentil, que iniciamente e igualmente auxiliou da mesma forma.

À Michelli e a todos os profissionais que me criaram, moldaram e me tornaram o que sou e que, até hoje, são meus espelhos tanto pessoal quanto profissionalmente.

A todos os profissionais que, de alguma forma, contribuíram para que essa etapa fosse concluída, agradeço com enorme carinho a vocês.

As minhas filhas e filhos profissionais maravilhosos, que sempre estão acompanhando todas as batalhas ao meu lado, e em especial, à Tainá, que se dispôs a seguir junto comigo nessa nova experiência do mestrado, fico imensamente feliz de termos alcançado (quase) juntas, não consigo descrever meu orgulho pela profissional que és. Uma gratidão de coração à Mari e Amanda, Fernanda e Lettycia, que sempre estavam dispostas a ajudar na parte teórica e prática, dedicando seu tempo e conhecimento para nossos projetos, amo vocês.

Ao meu amor, Alex, que entrou junto e também abraçou e entendeu com carinho a importância dessa missão, sendo muitas vezes meu ponto forte nos momentos difíceis, eu te amo para sempre. A Dany que me ajudou na compreensão e materialização do processo de conclusão.

E, por fim, ao motivo de eu ser quem eu sou, meus bichos de pelos, de penas e de escamas. A minha amada Sofia, que não pôde mais estar presente neste plano, mas que sei que me acompanha eternamente.

Obrigada a todos, eu não seria nada sem vocês!

RESUMO

As aves da espécie *Nymphicus hollandicus* (Calopsita) são animais domésticos comumente mantidas como pets sendo assim criadas próximas ao ser humano. Desta forma, é importante que se estude o status sanitário desses animais, principalmente em se tratando de doenças de caráter zoonótico. O objetivo deste estudo é detectar em aves oriundas de um criadouro comercial contaminação por *Chlamydophila psittaci* através do método laboratorial de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), bem como correlacionar ao status sintomático ou assintomático da afecção apontando os principais sinais clínicos apresentados pelas aves acometidas. Para isso, foram selecionadas 23 aves oriundas de um criador comercial e realizou-se coleta de amostras de sangue, swabe de coana, swabe de cloaca, além da avaliação visual e detecção de sinais clínicos compatíveis com a doença. Com o estudo, buscou-se identificar nas amostras o número de animais portatores de *Chlamydophila psittaci* e se estas apresentam algum sinal perceptível em uma avaliação visual. Das 23 aves avaliadas, 5 (21,7%) apresentavam sinais oculares, 9 (39,1%) apresentaram alterações de empenamento, 2 (8,69%) apresentavam alterações nas fezes e 3 (13,04%) apresentavam alterações no posicionamento corporal. Ainda das 23 aves avaliadas 9 (39,1%) animais obtiveram resultado positivo na detecção da bactéria, sendo que 3 (13,04%) aves foram a óbito durante o estudo, estas com alterações de necrópsia características de clamidiose, porém não foi possível identificar a presença da bactéria, portanto 14 (60,1%) aves testaram negativa ou sugestivamente. As aves que apresentavam a contaminação por *Chlamydophila psittaci* receberam o devido tratamento após o estudo. Oteve-se através das análises utilizando modelo linear generalizado que no presente estudo não houve uma correlação entre os diferentes sinais clínicos e a detecção da bactéria na ave.

Palavras-chave: psitacose; aves; métodos diagnósticos; zoonose.

ABSTRACT

Birds of the species *Nymphicus hollandicus* (Calopsita) are domestic animals commonly kept as pets and are therefore raised close to humans. Therefore, it is important to study the health status of these animals, especially when it comes to zoonotic diseases. The objective of this study is to detect contamination by *Chlamydophila psittaci* in birds from a commercial breeding facility using the Polymerase Chain Reaction (PCR) laboratory method, as well as to correlate the symptomatic or asymptomatic status of the disease, pointing out the main clinical signs presented by the affected birds. For this, 23 birds from a commercial breeder were selected and blood samples, choana swabs, cloaca swabs were collected, in addition to visual assessment and detection of clinical signs compatible with the disease. With the study, we sought to identify the number of animals carrying *Chlamydophila psittaci* in the samples and whether they present any noticeable signs in a visual assessment. Of the 23 birds evaluated, 5 (21.7%) had ocular signs, 9 (39.1%) had changes in feathering, 2 (8.69%) had changes in feces and 3 (13.04%) had changes in body positioning. Of the 23 birds evaluated, 9 (39.1%) animals obtained a positive result in the detection of the bacteria, with 3 (13.04%) birds dying during the study, these with necropsy changes characteristic of chlamydiosis, but it was not possible to identify the presence of the bacteria, therefore 14 (60.1%) birds tested negative or suggestively. Birds that were contaminated with Chlamydophila psittaci received appropriate treatment after the study. It was observed through analyzes using a generalized linear model that in the present study there was no correlation between the different clinical signs and the detection of the bacteria in the bird.

Keywords:. Psitacosis; Birds; Diagnosis methods; Zoonosis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sinais clínicos envolvendo sinais oculares, alterações de empenamento, sinais respiratórios, alterações de posicionamento, alterações nas fezes e ausência de sinais. Resultados laboratoriais utilizando a técnica de PCR para detecção de *Chlamydophila psittaci* em calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) das aves provenientes de criador comercial, utilizando amostras de swab de coana/ cloaca/ sangue..... 23

Tabela 2 - Frequência de sintomatologia ocular, de empenamento, posicionamento e alterações nas fezes entre aves com detecção de *Chlamydophila psittaci*. e sem detecção em calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) provenientes de criador comercial.....17

Tabela 3 - Modelo linear generalizado de uma via testando os efeitos da presença ou ausência de *Chlamydophila psittaci* entre a presença ou ausência dos sinais clínicos (ocular, empenamento, posição e fezes), em grupos de aves da espécie Calopsita (*Nymphicus hollandicus*) de criadouro comercial no município de Chapecó – SC 17

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Mg/kg	Miligrama por quilo
RT PCR	Reação da transcriptase reversa seguida pela reação em cadeia da polimerase
LxCxH	Largura, Comprimento, Altura
DNA	Ácido desoxirribonucleico
MgCl2	Cloreto de Magnésio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 11
1.1 AGENTE ETIOLÓGICO 12
1.2 FISIOPATOLOGIA 13
1.3 DIAGNÓSTICO 15
1.4 TRATAMENTO 16
1.5 PREVENÇÃO E CONTROLE 18
2 MATERIAL E MÉTODOS 19
2.1 AVALIAÇÃO E COLETA 20
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 22
4 CONCLUSÃO 30
REFERÊNCIAS 31
ANEXOS 35

1 INTRODUÇÃO

A clamidiose é uma doença que afeta aves, altamente infecciosa e causada pela bactéria intracelular obrigatória denominada *Chlamydophila psittaci*, esta podendo causar também a psitacose em humanos. Pode-se observar a doença de duas formas: inaparente (assintomática), ou na doença clínica grave gerando elevada mortalidade, a depender do sorotipo envolvido e da susceptibilidade da espécie afetada (Raso, 2014).

A maioria das infecções por clamídia em aves é comensal, sem trazer impacto negativo na espécie hospedeira, entretanto, mesmo assintomáticas, as aves contaminadas continuam eliminando o agente por meio de excreções, podendo, assim, contaminar o ambiente, outros animais e seres humanos, sendo considerada uma das principais doenças negligenciadas com potencial zoonótico para saúde pública (Ravichandran et al., 2021.; Stokes at al., 2021).

Bactérias do gênero *Chlamydia* já foram isoladas em pelo menos 70 espécies de aves de vida livre e sabe-se que as aves que se apresentam contaminadas acabam sendo alvo de predação ou se tornam mais susceptíveis à infecções concomitantes (Raso, 2007; Stokes at al., 2021).

No ano 2000, a doença gerou um grande impacto quando foi descrito um surto em papagaios jovens, ocorrendo a morte de 96,5% das aves, todas provenientes do tráfico (Raso, 2007).

A clamidiose é considerada de importância na saúde pública, pois psitacídeos são comumente criados como *pets* (animais de estimação), bem como pelo aumento da utilização dessas aves com crianças e idosos. O período de incubação da doença no ser humano é entre 5 a 14 dias, podendo sinais inespecíficos como cefaleia, calafrios, mal-estar e mialgia e aindaquadros graves de pneumonia. (Harkinezhad, 2009; Grespan, 2009). Quando tratados de maneira correta, a doença raramente é fatal, porém ressalta-se a importância do disgnóstico precoce (Harkinezhad, 2009).

A Psitacose é considerada uma ameaça a saúde pública, principalmente quando focamos em prorpietários de lojas que comercializam animais, veterinários, tratadores, trabalhadores da área de produção que envolve aves e entusiastas da criação de aves (Ravichandran, 2021)

Segundo Kowalczyk, (2022) a bactéria já foi descrita em vários países e Dai (2022) aponta que houve um aumento de casos reportados de clamidiose tanto em aves quanto em humanos. No Brasil não é necessária a notificação da doença (Almeida, 1023), enquanto em outros países esta é de notificação obrigatória e deve ser relatada em 48 horas (Harkinezhad et al., 2009; Vanrompay, 2020).

Em 1879 Jacob Ritter descreveu o primeiro caso de psitacose possivelmente relacionado a papagaios e tentilhões de estimação. Em 1929 e 1930 ocorreram surtos pandêmicos associados a psitacídeos infectados trazidos através de importação da América do Sul para a Europa e América do Norte (Harkinezhad et al., 2009; Vanrompay, 2020).

Em humanos quando tratados corretamente menos de 1% dos casos são fatais, tendo um número de 25% quando não tratados da forma certa. Nos Estados Unidos, entre 2005 e 2009 66 casos da doença foram registados em humanos segundo a Associação Nacional dos Veterinários de Saúde Pública do Estado - National Association of State Health Veterinarians - NASPHV, 2010 (Moschioni et al., 2001; Petrovay & Balla, 2008; NASPHV, 2010).

Um estudo realizado na China por Hou (2022) sugere que a bactéria tem distribuição mundial, incluindo as aples comerciais, com uma ampla abrangência de hospedeiros.

Este estudo trouxe a prevalência estimada de infecções por *Chlamydophila psittaci* através de um compilado de 74 estudos envolvendo amostras de 4 continentes diferentes contando um total de aproximadamente 39,225 aves, que mostravam que haviam aves infectadas em quase todos os estudos, mostrando que uma grande fonte de transmissão para os humanos ainda são as aves (Hou, 2022).

Nieuwenhuizen et al. (2018) identificou casos de psitacose em humanos em 12 países, quase todos ligados a psitacose aviária chegando a um número de 44 casos.

A obtenção de uma metodologia diagnóstica padrão para clamidiose é dificultada pela variabilidade de hospedeiros e tecidos afetados, não havendo testes comerciais bem estabelecidos para aplicação clínica. Atualmente, técnicas de amplificação de ácidos nucleicos são os principais métodos para diagnóstico da infecção, havendo discrepâncias em relação à espécie especificidade e sensibilidade dentre eles (Angen et al., 2021; Ravichandran et al., 2021).

O objetivo deste estudo foi realizar uma abordagem da detecção e identificação de *Chlamydophila psittaci* em aves da espécie *Nymphicus hollandicus* (calopsita) através do diagnóstico laboratorial utilizando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em *pool* de amostras, bem como correlacionar ao status sintomático ou assintomático da afecção apontando os principais sinais clínicos apresentados pelas aves acometidas.

1.1 AGENTE ETIOLÓGICO

A espécie bacteriana *Chlamydophila psittaci,* pertencente à família Chlamydiaceae, pode ser subdividida, de acordo com anticorpos monoclonais (mAbs) contra a principal proteína

da membrana externa, em oito genótipos sendo eles A, B, C, D, E, F, M56 e WC (Ruiz-Laiton et al., 2022). Destes, o genotipo A é o que possui maior associação com psitacídeos e raramente, o genótipo F pode ser encontrado nos *Psittaciformes* (Origlia et al., 2019). É responsável por uma zoonose importante conhecida como psitacose em humanos (Piasecki et al., 2012). Trata-se de uma bactéria gram-negativa com formato cocobacilo que possui três formas morfológicas e funcionalmente distintas, sendo elas: a forma extracelular infecciosa, porém metabolicamente inativa, conhecida como corpo elementar (West, 2011); a forma intracelular e metabolicamente ativa, chamada corpo reticular. Há também a forma transicional entre elas, denominada corpo intermediário (Andersen; Vanrompay, 2003).

Por se tratar de um parasita intracelular obrigatório, apresenta um ciclo de desenvolvimento bifásico, que dura de 48 a 72 horas (Leal, 2013). O corpo elementar sofre endocitose na célula hospedeira e, após um período de 9 a 12 horas, ocorre a diferenciação na forma intracelular (corpo reticular) e, em seguida, sua divisão por fissão binária que origina os típicos corpúsculos de inclusão (Casagrande et al., 2014). Em um período de cerca de 50 horas pós infecção, os corpos reticulares diferenciam-se em corpos elementares que são eliminados pela lise da célula hospedeira (Harkinezha et al., 2009).

O agente é excretado pelas fezes e secreção nasal, sua eliminação é intermitente e pode ser ativada pelo estresse causado por deficiências nutricionais, transporte, superlotação, frio, reprodução, uso de medicamentos ou manejo, bem como, podem variar dependendo da virulência da cepa e dose de infecção (Kalmar, 2014). No entanto, a eliminação pode ocorrer por vários meses (Mitchel, 2009). A transmissão se dá principalmente através da inalação de material contaminado e, às vezes, ingestão (Rodolakis, 2010).

1.2 FISIOPATOLOGIA

Nas aves, a infecção por *Chlamydophila psittaci* invade tanto as células epiteliais da mucosa quanto os macrófagos do trato respiratório (Ravichandran et al., 2021). Os sinais clínicos variam de acordo com a idade, espécie e estado imunológico da ave acometida, além da forma de contaminação e da virulência do agente. A doença pode cursar com quatro formas diferenciadas, sendo elas: a forma super aguda, sem que a ave apresente sinais e somente vá a óbito; forma aguda, contando com sinais inespecíficos envolvendo todos os sistemas; forma crônica, com sinais mais discretos; e, por fim, forma inaparente, sem a apresentação de sinais, mas ainda com eliminação do agente (Raso, 2007; Cavalvante, 2008).

A infecção celular por *Chlamydophila psittaci* se dá por um ciclo bifásico. Após infectar as células da mucosa do hospedeiro, realizada pela forma extracelular e infecciosa da bactéria (ou corpos elementares), estes se desenvolvem em corpos reticulados, que são metabolicamente ativos porém não infecciosos. Após inúmeras divisões binárias intracelulares, estes se diferenciam em corpos elementares maduros, saindo da célula hospedeira por lise ou extrusão (Borel et al., 2018). Durante este ciclo de desenvolvimento bifásico, a bactéria adquire energia e precursores da célula afetada e torna-se capaz de modular a resposta imune celular, o que explica a melhor disseminação nos tecidos do hospedeiro (Knittler et al., 2014; Borel et al., 2018).

Após a lise celular, a bactéria pode utilizar monócitos ou macrófagos sanguineos como veículo para se disseminar nos demais tecidos do hospedeiro pela via hematógena (Knittler; Sachse, 2014). Após a infecção nas células epiteliais alveolares, a multiplicação da bactéria é seguida por um rápido influxo de neutrófilos, seguido de degranulação e vasta lesão no tecido pulmonar (Knittler; Sachse, 2014). Após se difundir pela via hematógena, a bactéria pode afetar diversos tecidos e sistemas como sistema nervoso central, cardiovascular, gastrointestinal, rins e ainda cursar com alterações reumatológicas, hematológicas como coagulação intravascular disseminada e sepse (Chu et al., 2023).

Na apresentação super aguda da doença, esta afeta aves jovens e progride à óbito em poucas horas, com ausência de sinais clínicos; na forma aguda, observam-se manifestações clínicas como apatia, sonolência, anorexia, asas pendentes, desidratação, sinais de blefarite, conjuntivite e secreção nasal, além de que as aves também podem apresentar alterações respiratórias, digestivas, urinárias, reprodutivas e, nos estágios terminais, alterações neurológicas (Raso, 2014).

As formas subaguda ou crônica são típicas de espécies com baixa suscetibilidade ou infectadas com uma cepa de virulência moderada (Gerlach, 1994; Andersen & Vanrompay, 2003)

Existe a forma crônica, a qual possui sinais clínicos discretos que acabam sendo negligenciados, geralmente caracterizados por emagrecimento progressivo, conjuntivite e discretas alterações respiratórias; e, por fim, a forma inaparente, em que a ave não terá sinais clínicos detectáveis. Essa última é mais comum em aves adultas expostas a sorotipos de média e baixa virulência. Nesses casos, as aves permanecem portadoras e podem apresentar alterações inespecíficas como perda de peso, deficiência no empenamento e infecções bacterianas oportunistas, além de eliminar os corpos elementares do agente, intermitentemente, por vários meses (Raso, 2014).

A evolução da doença determinará a gravidade das lesões nos órgãos afetados, podendo envolver aerossaculite, sinusite, conjuntivite, hepatomegalia, esplenomegalia, miocardite, broncopneumonia e enterite catarral. Ademais, a necropsia pode apontar baço aumentado e de consistência mole, podendo conter focos necróticos, aumento de fígado, que fica com consistência friável com coloração amarelada ou esverdeada, aumento de tamanho e pequenos focos necróticos na superfície. Reações inflamatórias também podem ser observadas no saco pericárdico (Raso, 2014).

A variabilidade de sistemas acometidos pela infecção por *Chlamydophila psittaci* cursa com a ausência de sinais clínicos patognomônicos da doença, dificultando o diagnóstico da infecção, preconinizando-se então o emprego de mais de uma técnica diagnóstica para o mesmo indivíduo (Proença et al., 2011).

1.3 DIAGNÓSTICO

A clamidiose é uma doença sem sinais clínicos patognomônicos, portanto, seu diagnóstico baseado em exames complementares como testes bioquímicos, hematológicos e de diagnóstico por imagem, é apenas sugestivo (Balsamo et al., 2017).

O isolamento do patógeno através do cultivo em ovos embrionados ou em cultura de células é um método sensível. O diagnóstico confirmatório neste caso, é feito pela coloração citoquímica de esfregaços preparados a partir do material do saco vitelino infectado ou da coloração imuno-histoquímica de células infectadas. A principal desvantagem desta abordagem é que depende do armazenamento e transporte adequados das amostras para garantir a viabilidade do organismos além da possibilidade de contaminação causada por outras espécies de bactérias gram-negativas que podem resultar em reações falso-positivas (Vanrompay, 2020; Sachse et al., 2009).

Testes para detecção de anticorpos podem ser utilizados para confirmação da doença clínica ou ainda para confirmação da presença ou ausência da infecção subclínica. Um resultado positivo em um teste sorológico é evidência de que a ave foi infetada em algum momento, mas não pode indicar que haja infeção ativa. Resultados falso-negativos podem ocorrer quando o paciente tiver passado por tratamento com antimicrobianos, que diminuem a resposta de anticorpos e também em animais com infeção aguda, quando as amostras forem coletadas antes da soroconversão. No entanto, os títulos de IgG podem persistir após um tratamento bem-sucedido (Balsamo et al., 2017) A detecção de anticorpos pode ser realizada atraves de Reação

de Imunoflurescênca Indireta (RIFI) ou por anticorpos secundários no *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) indireto (Longbottom; Coulter, 2003).

A detecção de DNA por PCR pode ser sensível e específica (Sachse. et al, 2009). O procedimento recomendado segundo OIE (2018), atualmente conhecida como WOAH (World Organization os Animal Health) é realizar uma PCR *Chlamydiaceae específica* seguida por PCR específicos para detecção de *C. psittaci.*

A detecção do agente por meio da técnica de PCR apresenta uma alta sensibilidade e especificidade segundo Proença, Fagliari e Raso (2011). A desvantagem de outros exames como por exemplo os testes sorológicos é a possibilidade da ocorrência de reações cruzadas com outros agentes bacterianos tendo assim uma falha na detecção correta de uma infecção recente ou após o tratamento com antibioticoterapia (Gerlach, 1994)

A técnica de PCR se baseia na amplificação exponencial de uma porção alvo da molécula de DNA, formando milhões de amplicons (Ornelas-Eusebio et al., 2016). Já a técnica PCR em tempo real se trata da amplificação de DNA monitorizada enquanto ocorre, sua vantagem é permitir a determinação da quantidade de material genético inicial na amostra antes da amplificaçã, em detrimento à PCR convencional, que pode apenas confirmar a presença ou ausência de um determinado patógeno (Valasek; Repa, 2005; Sachse, 2009).

Segundo Vanrompay (2020) podem ser coletados *swabs* de coana em animais com alterações respiratórias assim como swabs conjuntivais se houver sinais de conjuntivite. *Swabs* de fezes são menos eficientes pois a eliminação é intermitente.

Para diagnósticos *post-morten* a Imunohistoquímica (IHQ) é considerada a mais apropriada sendo amplamente utilizada em laboratórios dos Estados Unidos (Elder & Brown, 1999), sendo o fígado e o baços os órgãos utilizados para o diagnóstico através da IHQ (Elder & Brown, 1999; Ecco et al, 2009).

1.4 TRATAMENTO

As tetraciclinas, quinolonas e macrolídeos são utilizadas no tratamento, com preferência à primeira classe mencionada (Guerlach, 1994). Guerlach (1994) cita ainda que doxiciclina ou oxitetraciclina podem ser administradas, tanto no alimento quanto por via oral ou injetável, durante um período de 45 dias, porém, mesmo com o tratamento, a clamidiose pode permanecer.

Segundo Rupley (1999) e Raso (2007), a doxiciclina é o antibiótico comumente utilizado, em formulações orais na dose de 25 a 50 mg/kg para a maioria das espécies,

destacando a importância da realização de exames de monitoramento devido à hepatotoxicidade.

A Doxiciclina utilizada durante 45 é utilizada por apresentar melhor absorção e menor tempo de elimicação do que as demais tetraciclinas. As quinolonas e macrolídios também podem ser utilizados como a Enrofloxacina e a Azitromicina (Cubas et AL, 2007).

Guerlach (1994) cita que a enrofloxacina tem sido utilizada com melhores respostas, devido ao seu mecanismo de inibir o crescimento *in vitro* de *Chlamydophila psittaci*, porém esta não foi testada em todos os sorotipos.

Guzman (2010) mostrou que doxiciclina é uma forma semi-sintética de tetraciclina que se destaca como tratamento principal para a clamidiose em aves. Comparada com outras tetraciclinas, ela tem vantagens farmacológicas importantes: oferece maior absorção oral e permanece ativa por mais tempo no organismo, o que permite usar doses menores e com intervalos maiores, facilitando o tratamento por tornar o uso menos frequente. Atua como bacteriostático inibindo o crescimento bacteriano, mas apenas enquanto as bactérias estiverem se multiplicando.

Por ser um organismo intracelular existirem evidências de que infecções podem persistir mesmo após tratamentos curtos, recomenda-se aplicar a doxiciclina por tempo prolongado (geralmente 30 a 45 dias) para assegurar a erradicação. (Guzman, 2010).

Enquanto o agente se encontra em sua forma latente e não na fase de crescimento ou divisão, as tetraciclinas não são eficazes. São raras as resistências a tetraciclinas, porém em doses baixas durante um longo período de tempo alguns sorotipos se tornam resistentes. (Guerlach, 1994).

Raso (2007) e Rupley (1999) apontam que a eficácia do tratamento tem como influência tanto a escolha do fármaco adequado na formulação, dosagem e administração, quanto à implementação de medidas rigorosas de limpeza e desinfecção, visando diminuir a presença do agente.

Além do fármaco de escolha, durante o tratamento, a ave deverá ficar isolada receber a terapia suporte necessária, envolvendo suplementação, fluidoterapia, alimentação com sonda e antibioticoterapia para combater infecções secundárias (Raso, 2007; Rupley, 1999).

A utilização da fitoterapia também é uma opção devido ao aumento da resistência microbiana de modo geral tendo como exemplo o uso da folha do caju que possui ação antibacteriana. (Júnior et al, 2016).

Além desta, é possível utilizar também o açafrão por sua ação anti-expectorante, neuroprotetora e hepatoprotetora. Outras plantas como a erva-cidreira e o óleo de copaíba

podem ser utilizados em associação ao tratamento convencional com Doxiciclina ou Tertaciclina pelas suas ações de proteção gástrica (Donatilio, et al. 2024).

1.5 PREVENÇÃO E CONTROLE

A prevenção em criações é complexa, pois não existe um teste específico que identifique a doença quando se trabalha com triagem, diferentemente de outros países, como por exemplo, os Estados Unidos e União Europeia, onde a clamidiose é considerada uma doença de notificação obrigatória a órgãos de saúde pública (Raso, 2007).

Porém, no Brasil, somente se realiza a pesquisa de clamidiose caso haja necessidade, é o que ocorre em surtos, levando à realização de quarentena e avaliação das aves recebidas, cuidados básicos relacionados as fronteiras são realizados em alguns locais (Cavalvante, 2008).

Além disso, devido aos portadores inaparentes, a variedade de hospedeiros e as elevadas incidências de infecções persistentes, as medidas de controle também se tornam extremamente difíceis (Raso, 2007).

Segundo Bicalho (2010) é importante evitar o contato entre aves somésticas e selvagens, devido a possibilidade de transmissão da doençã entre estes. Pode ocorrera infecção na maioria das aves conhecidas, em grande parte envolvendo pombos e psitacídeos.

Para controle da introdução e propagação de um agente etiológico se faz necessária a instalação de práticas adequadas de biossegurança (Khan, 2006.). Bicalho (2010) aponta que a limpeza de instalações e equipamentos de maneira rigorosa é de extrema importancia, uma vez que não existe vacina para a prevenção da doença;

Dentre as medidas de biosseguridade, Beer (1998) e Raso (2007) afirmam que junta-se a quarentena e as medidas de limpeza e desinfecção do ambiente, bem como dos utensílios utilizados com as aves infectadas. Além dessas medidas, o manejo nutricional e sanitário também é importante.

Desinfetantes e detergentes como amônia quaternária, alcool 70%, hipoclorito de sódio clorofenóis e calor também são recomendados devido ao fato de que a Chlamydofila é sensível a estes. (Bicalho,2010).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Faculdade UCEFF – Unidade Central de Educação Faem Faculdade, sob o protocolo nº 08/2023 como apresentado no Anexo A. A pesquisa realizou a avaliação clínica visual de aves da espécie calopsita (*Nymphicus hollandicus)* e posterior coleta para a detecção e identificação da bactéria *Clamidophyla Psittaci*.

Como amostra da pesquisa foram utilizadas 23 aves da espécie *Nymphicus hollandicus* provenientes de um criador comercial da cidade de Chapecó, Santa Catarina. O criardor possui um plantel pequeno com aproximadamente 200 animais de variadas espécies, envolvendo *Nymphicus hollandicus* (Calopsitas), *Melopsittacus undulatus* (Periquito-australiano), *Platycercus eximius* (Rosela) e passeriformes, pois este criador possui a finalidade de criação para venda comercial. Foi optado pela espécie *Nymphicus hollandicus* (Calopsita) como modelo do estudo por serem aves comumente mantidas como *pet* e terem alta frequência na rotina clínica do médico veterinário, tendo a escolha do número de animais baseado em estudos previamente realizados por Bento e Guimarães (2020) e Grespan (2009). Foram selecionadas de forma aleatória, aves sem sexagem determinada na faixa etária de 1 a 2 anos, sendo o único critério de exclusão aves com idade superior ou inferior a faixa etária escolhida.

O local de execução do projeto foi uma clínica veterinária especializada para pets não convencionais e animais silvestres também localizada no mesmo município. Na clínica foi reservado uma sala de 10 m² como um ambiente próprio para o estudo, esta sala contendo apenas 2 bancadas onde as gaiolas foram dispostas. As aves foram recebidas e ambientadas por um período de 20 dias, nos quais foram separadas em grupos para conforto durante o período de ambientação. Durante os 20 dias destinados a ambientação as aves foram mantidas no local com ventilação natural, temperatura mantida em torno de 27 grausº e luminosidade seguindo o ciclo circadiano adequados para manter o conforto das aves e durante este perídos os animais permaneceram recebendo apenas manejo sanitário e alimentação. No momento do recebimento foram separadas em três gaiolas, cada uma medindo 0,5 X 1,0 X 0,42 m (LxCxH), divididas em oito aves em duas gaiolas e sete aves em uma gaiola, também visando o bem-estar e evitando a superlotação.

Optou-se pela manutenção das aves em grupos seguindo os padrões do criador para não ocorrer alterações comportamentais e alterações geradas pelo estresse. As gaiolas foram equipadas com poleiros prontos para aves, duas tigelas suspensas para fornecimento hídrico e duas tigelas de tamanho grande suspensas para fornecimento de alimento.

A forração escolhida foi o jornal para uma melhor higienização diária das instalações durante toda a duração do estudo. As aves foram mantidas com água fresca à vontade e alimentação exclusivamente à base de mix de sementes para a espécie, também à vontade, sendo essa a alimentação que as aves recebiam no criadouro, facilitando a adaptação dos animais, evitando uma troca de alimentação e influência desta em qualquer etapa do estudo. Foi realizado o anilhamento utilizando anilhas de material plástico com numeração individual para posterior identificação de cada ave.

Os animais que apresentaram um resultado negativo foram direcionadas através de doação a pessoas interessadas em tê-las como pets, e as aves que apresentaram um resultado positivo com a detecção da bactéria foram mantidas na clínica no local de estudo e foram devidamente tratadas com a medicação de eleição sendo a doxiciclina na dose de 25 mg/kg, a cada 12 horas, durante 45 dias e após finalizado o tratamento foram direcionadas através de doação a pessoas interessadas em tê-las como *pets*, não se tendo mais informações a respeito das aves após este processo.

2.1 AVALIAÇÃO E COLETA

Após finalizado o período de ambientação dado nos 20 dias iniciais após o recebimento dos animais, as aves foram retiradas da gaiola em que estavam mantidas em grupo através de contenção física rápida, pesadas e, em seguida, separadas em gaiolas individuais medindo 0,2x0,5x0,3 m (LxCxH), com poleiros prontos para aves, fornecimento de água e alimento à base de mix de sementes (o mesmo ofertado diariamente).

As aves foram separadas no primeiro horário da manhã. Cada ave foi mantida na gaiola individual por um período de 30 minutos, para que ocorresse a recuperação tanto da contenção física quanto da troca de local e, após esse período, as foram avaliadas visualmente uma por vez. Para a identificação foram utilizadas anilhas coloridas de material plástico com numeração de 1 a 23.

Foram observados os itens: posicionamento corporal, estado geral das penas, padrão respiratório, presença ou ausência de lesões oculares e aparência das fezes. As avaliações visuais ocorreram com distanciamento de forma a interferir o mínimo possível nos ítens citados.

Após avaliação visual, foi iniciado o processo da coleta de amostras para diagnóstico laboratorial. Procedeu-se pela coleta de material de região respiratória envolvendo orofaringe e coana, além da coleta de cloaca, ambas utilizando *swab* estéril, juntamente com três gotas de

sangue coletadas em papel absorvente próprio do laboratório para a identificação através de PCR qualitativo, exame que aponta a presença ou ausência e identificação do agente bacteriano.

Foram coletadas amostras de *swab* de 20 animais, fazendo a contenção física das aves utilizando uma toalha para imobilização do corpo, realizando a abertura do bico com um abre bico para aves e em seguida a fricção de um *swab* estéril na coana da ave.

Em seguida, um novo *swab* também estéril foi introduzido na cloaca da mesma para coleta de amostra e por último foi realizado o corte de uma unha para obtenção de três gotas de sangue, que foram gotejadas no papel absorvente próprio do laboratório para tal finalidade. As amostras foram acondicionadas em geladeira e encaminhadas ao laboratório no mesmo dia. Optou-se pela coleta de amostras em forma de *pool* para ampliar a chance de obtenção de material, uma vez que utilizou-se o método de PCR convencional.

Após envio, as amostras ao chegam ao laboratório Ampligen localizado na cidade de Maringá no estado do Paraná escolhido para a execução do estudo por ser um laboratório de referência para diversos exames em aves utilizando tecnologia de PCR. Após o encaminhamento das amostras ao laboratório é realizada a extração do material biológico para a obtenção do DNA/RNA. Para isto, é feito um pré-preparo das amostras com o intuito de diminuir as impurezas da amostra. Após este procedimento, o material é colocado no aparelho automatizado do modelo **Extracta 32** da marca **Loccus**, que proporciona a purificação e extração do DNA/RNA. A técnica de PCR consiste em amplificar o DNA celular extraído utilizando reagentes comerciais, estes já possuem a solução tampão, MgCl2, bases nitrogenadas do DNA (dNTP) e enzima, agua ultra pura, o DNA extraído e os marcadores moleculares *primers* que consistem em sequências de uma determinada região do gene do patógeno a ser identificado, sendo utilizado os marcadores 16S e 16S-23S conforme relatado previamente por Madico et. al, 2000 . Em temperatura ideal e no aparelho termociclador, ocorrerá então a amplificação em milhares de vezes a região estudada e, posteriormente, vizualiza-se a detecção ou não do patógeno em si em gel de agarose.

A análise da associação entre a presença de Clamidiose e os sinais clínicos (presença ou ausência de sinais clínicos), foi realizada por meio de modelos lineares generalizados de uma via (função "*glm*" no pacote "*lme4*"). Utilizou-se o método de seleção de modelos AIC, e foi retido o modelo mais completo com AIC <2 em relação ao modelo com menor valor.

Testou-se o melhor modelo para sub ou sobre dispersão por meio do pacote "*hnp*". Os valores de *p* foram obtidos por testes de razão de verossimilhança (distribuição Qui-quadrado). Todas as análises foram realizadas em linguagem R.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

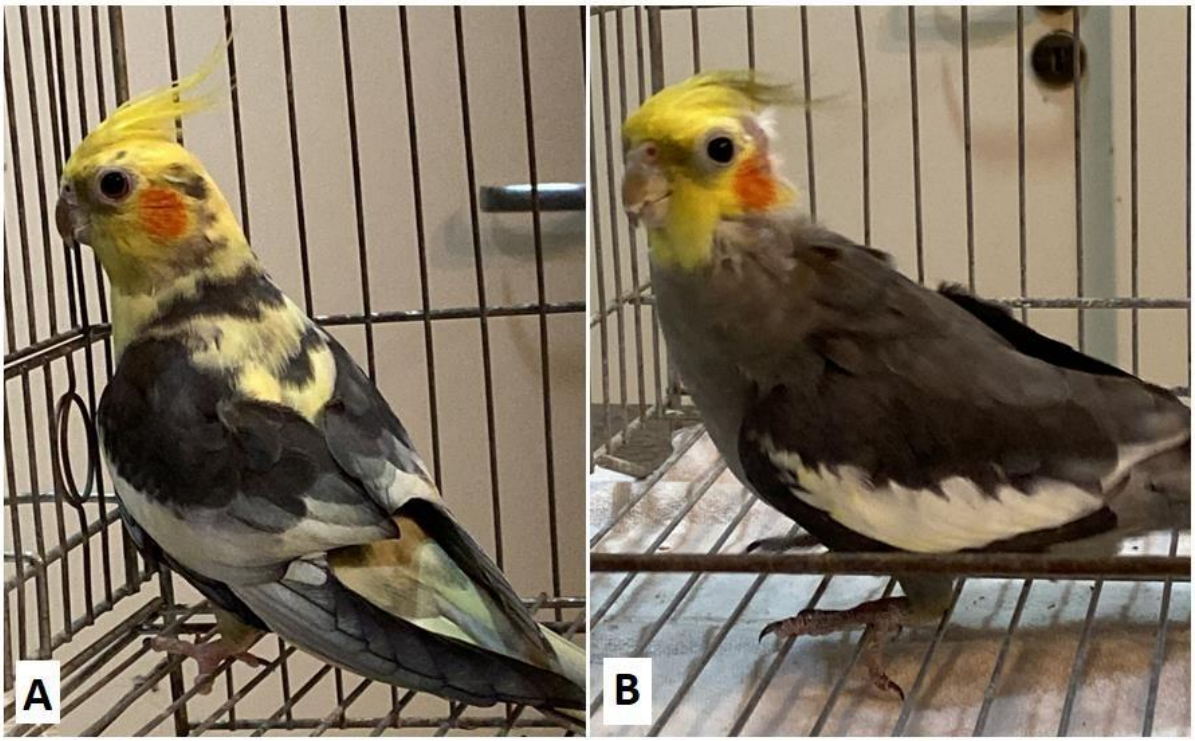
Conforme descrito na Tabela 1, das 23 aves avaliadas, 9 (39,1%) indivíduos não apresentavam nenhuma alteração na avaliação visual. Outros 5 (21,7%) animais apresentavam sinais oculares, 3 (13,04%) aves apresentavam alteração de posicionamento, de modo que mantinham as asas levemente caídas ou o corpo apoiado nos tarsos, não sendo este um posicionamento natural das aves desta espécie. Alterações de empenamento como rectrizes quebradiças e presença de penugem, principalmente nas asas, foram vistos em 10 (43,47%) aves, e apenas 1 (4,34%) ave apresentava sinal respiratório de dispneia.

Sinais respiratórios e oculares são os mais comumente vistos em casos em que as aves estão portando a doença de forma crônica ou de forma inaparente. Já os sinais de deficiência no empenamento, por serem mais discretos, se enquadram somente na forma inaparente (Raso, 2007). Somente a ave de número 1 poderia ser classificada como aguda, pois todas as manifestações apresentadas se enquadravam na forma aguda. Cavalcante (2008) caracteriza como forma aguda os sinais inespecíficos que incluem trato respiratório, gastrointestinal, urinário, reprodutivo e neurológico. Sinais como dispneia, rinite, sinusite, diarreia, prostração, anorexia, incoordenação e morte.

Os sinais da doença crônica e inaparente, ainda segundo Cavalvante (2008), são sinais mais sutis e relacionados, principalmente, à questão de empenamento, posicionamento, sinais oculares e discretos sinais respiratórios. A forma crônica conta com sinais que podem não ser notados na maioria das vezes, envolvendo o emagrecimento progressivo juntamente com sinais oculares e respiratórios (Raso, 2014).

No presente estudo não foi realizado o acompanhamento de peso e de escore corporal, não sendo possível afirmar a presença do sinal de emagrecimento. Das 23 aves, as 5 (21,7%) que apresentaram sinais oculares possuiam conjuntivite uni ou bilateral e três apresentaram alterações leves em empenamento como rectrizes quebradiças, alterações de coloração, presença de penugem e regiões de apteria, conforme apontado na Figura 1.

Figura 1 - Calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), de estudo clinico e laboratorial de clamidiose, onde se observa em A - alteração ocular (conjuntivite/episclerite) e posicionamento com asas caídas; e em B - ave apresentando alteração em empenamento (apteria em região de cabeça).



Fonte: Autoria própria (2023).

Marietto (2016) menciona como sinais de possibilidade de clamidiose a conjuntivite, epífora, edema perioftálmico além de rinorreia. As alterações de empenamento vistas eram a presença de penugem principalmente em região de asas, alterações de coloração e rectrizes quebradiças. As alterações de coloração podem ser sugestivas deficiências nutricionais, conforme mencionado por Santos (2023).

Alterações em fezes foram pouco encontradas, sendo em apenas 2 (8,69%) aves, e estas podem ser relacionadas ao estresse no momento da captura e avaliação.

Entre o período das coletas 3 (13,04%) aves foram a óbito sem causas aparentes, essas, portanto, foram encaminhadas à necropsia para tentativa de identificação da *causa mortis*. Não foi possível realizar o exame de detecção da bactéria nas aves em óbito, portanto avaliou-se macroscópicamente as lesões encontradas sendo estas indicativas da presença da doença.

Tabela 1 - Sinais clínicos envolvendo sinais oculares, alterações de empenamento, sinais respiratórios, alterações de posicionamento, alterações nas fezes e ausência de sinais. Resultados laboratoriais utilizando a técnica de PCR para detecção de *Chlamydophila psittaci*

em calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) das aves provenientes de criador comercial, utilizando amostras de swab de coana/ cloaca/ sangue.

ID ave	Resultado PCR	Ocular	Respiratório	Empenamento	Posicionamento	Fezes
1	Sugestivo de necrópsia	Ausente	Dispneia leve	Penas quebradiças e alteração de coloração	Encorujada / apoio nos tarsos	Urato de cor amarelo e poliúria
2	Não detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
3	Não detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Asas caídas	Ausente
4	Não detectado	Conjun-tivite bilateral	Ausente	Ausente	Asas caídas	Ausente
5	Não detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Diarréia
6	Detectado	Ausente	Ausente	Apteria na cabeça	Ausente	Ausente
7	Não detectado	Conjunt ivite bilateral	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
8	Não detectado	Conjunt ivite bilateral	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
9	Detectado	Conjunt ivite unilater al	Ausente	Penugem	Ausente	Ausente
10	Não detectado		Ausente	Penugem	Ausente	Ausente
11	Não detectado	Ausente	Ausente	Rectrizes quebradiças/ penugem	Ausente	Ausente
12	Detectado	Ausente	Ausente	Rectrizes quebradiças	Ausente	Ausente
13	Não detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

ID ave	Resultado PCR	Ocular	Respiratório	Empenamento	Posicionamento	Fezes
14	Detectado	Inchaço	Ausente	Penugem	Ausente	Ausente
15	Detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
16	Sugestivo de necrópsia	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
17	Detectado	Ausente	Ausente	Rectrizes quebradiças/ penugem	Ausente	Ausente
18	Detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
19	Não detectado	Ausente	Ausente	Penugem	Ausente	Ausente
20	Detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
21	Sugestivo de necrópsia	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
22	Detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
23	Não detectado	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Fonte: Autoria própria (2023).

O período de incubação da doença de maneira geral varia de 3 a 10 dias, portanto durante a ambientação das aves os indivíduos que possuíam a contaminação poderiam manifestar a doença durante o estudo, ou visualmente ou em resultados de exame laboratorial, pois esse período de incubação poderia estar englobado no período de adaptação das aves, porém este período pode se estender por várias semanas o que torna mais complexa a identificação do período de infecção de animais assintomáticos (Raso, 2014). Bicalho (2010) também aponta que a depender da virulência da cepa e da idade da ave há influência no período de incubação podendo variar de dias, meses ou até anos.

Em um estudo experimanetal, Guzman et al. (2010) realizaram a detecção do antígeno em calopsitas, que após 16 dias da incoulação iniciaram a apresentar sinais clínicos.

Page (1959) também realizou um estudo com contaminação proposital em perus por meio de aerosol contaminado com o agente e detectou a bactéria no sistema respiratório das

aves após 4 horas da exposição, após 48 horas no sangue, rins, fígado e baço e após 72 horas de contaminação com sinais clínicos mais visíveis em 10 dias após a exposição.

Segundo Leal (2013), deve-se considerar a imunidade do hospedeiro, questões relacionadas à carga infectante e à virulência da estirpe, pois todas influenciarão no período de excreção da bactéria, sendo que sua eliminação nas fezes é normalmente ligada a fatores estressantes.

Pode-se considerar o período de adaptação como um fator de estresse, porém as aves foram mantidas em ambiente controlado seguindo os mesmos critérios de alimentação e lotação do criadouro, visando minimizar o estresse da mudança de ambiente sendo, portanto, o único fator de estresse a contenção prévia para a troca de gaiolas e a contenção posterior para a coleta de *swabs* e sangue (Leal, 2013).

Fatores estressantes envolvendo transporte, superlotação alterações de temperatura, épocas reprodutivas e manipulação. Os pais podem transmitir a contamiação para os filhotes no momento da alimentação através da regurgitação de alimentos infectados (Sprada et al, 2008).

Todos corroborando com o fato de que algumas aves do estudo poderiam estar encubando a doença, porém no momento do estudo não estarem eliminando a bactéria, causando assim um resultado falso negativo.

De acordo com Vasconcelos (2013), o local de coleta com maior confiabilidade pode variar de acordo com o tempo de exposição da ave ao agente, devido ao fato de que a excreção do agente nas fezes ocorre somente após a sua replicação inicial no trato respiratório superior. Isso evidencia que coletas de material desse local poderiam apontar contaminações mais recentes. As coletas de orofaringe são mais coerentes em quadros iniciais de infecção para a detecção do microorganismo (Raso, 2014).

Assim, procedeu-se a coleta de *swabs* de orofaringe e coana, juntamente com *swab* cloacal e três gotas de sangue em papel absorvente fornecido pelo laboratório para envio e realização de detecção de *Chlamydophila psittaci*, através da técnica de PCR qualitativo em laboratório veterinário.

Raso (2014) evidencia a importância da coleta realizada com uma contenção adequada para que a ave não se machuque, de forma e com material adequado para que não ocorram contaminações ou perda da viabilidade do agente, bem como recomenda as coletas da região da orofaringe, cloaca, coana e conjuntiva, sendo esta ultima quando há presença de sinais oculares. A escolha por coleta em formato de *pool* ocorreu devido maior probabilidade de um resultado fidedigno, compreendendo mais sítios de eliminação da bactéria, conforme recomendado por Raso (2014).

Os resultados apontaram a detecção e identificação de *Chlamydophila psittaci* em nove aves, além das aves que foram realizadas necrópsia apontando sinais sugestivos. Dessas, apenas cinco apresentavam sinais clínicos visíveis. Pode-se observar quatro animais sem nenhum sinal visível obtendo resultado positivo para clamidiose, ainda conforme a Tabela 1.

Foi possível observar aves sem nenhum sinal clínico visível portando a bactéria *Chlamydophila psittaci*. Além das aves que possuíam sinais evidentes, mas que, em sua maioria poderiam ser relacionados a outros problemas de saúde, indo desde disfunções nutricionais até outras enfermidades virais ou bacterianas.

No caso das aves que foram a óbito, o resultado das necropsias apontou fígado aumentado com infiltrados de linfócitos, plasmócitos e macrófago, necrose e hiperplasia, além de esplenomegalia e deposições de fibrina em saco pericárdico. Tais lesões poderiam ser indicativas de presença de clamidiose, pois, segundo Rupley (1999), pode ocorrer renomegalia, miocardite e, comumente, esplenomegalia em psitaciformes. Raso (2007) e Guerlach (1994) citam que podem ocorrer alterações histopatológicas discretas ou inespecíficas em casos de quadros agudos, todavia, a presença de Corpos de Levintal-Collie-Lilie (LCL) é um achado específico. Porém, no caso das aves submetidas a necropsia, tal avaliação não foi possível e, portanto, não houve comprovação da presença de clamidiose.

Entre as 23 aves analisadas, 9 (39,1%) testaram positivamente para Clamídia spp. e 14 (60,1%) testaram negativa ou sugestivamente. Dentre o total de aves (positivas e negativas), 17 (73,9%) apresentaram sinais clínicos, sendo: cinco (21,7%) com sinais clínicos oculares, nove (39,1%) com sinais no empenamento, duas (8,7%) com sinais na posição e uma (4,3%) com sinais nas fezes, como pode ser vizualizado na Tabela 2.

Das aves com resultado positivo, quatro (44,4%) não apresentaram nenhum sinal clínico e cinco (55,6%) apresentaram sinais clínicos no empenamento e/ou oculares. Enquanto, entre as aves com resultado negativo, oito (57,1%) apresentaram algum sinal clínico. Por fim, por meio dos modelos lineares generalizados não foi encontrada correlação entre os diferentes sinais clínicos e a presença ou ausência de *Chlamydophila psittaci*.

Um fator relevante conforme já mencionado é considerarmos que as aves que não apresentaram sinais no momento do estudo poderiam estar ainda em período de incubação da doença, bem como não estarem eliminando o agente no momento do estudo.

As aves positivas para clamidiose foram tratadas com Doxiciclina na dose de 25 mg/kg a cada 12 horas durante 45 dias. Grespan (2009) afirma que este tratamento, quando realizado corretamente por 45 dias é eficaz quando realizadas novamente custuras de amostras fecais e estas apontam um resultado negativo. Entretanto, como os corpos elementares são formas

metabolicamente inativas do agente estes não são suceptíveis ao uso de antibioticoterapia, fazendo com que a ave ainda seja uma portadora mesmo após realizado o tratamento (Raso, 2014). Isso reforça a necessidade de exames de forma periódica pelos responsáveis pelas aves.

Tabela 2 - Frequência de sintomatologia ocular, de empenamento, posicionamento e alterações nas fezes entre aves com detecção de *Chlamydophila psittaci*. e sem detecção em calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) provenientes de criador comercial.

Clamídia *spp.*	**Ocular**	**Empenamento**	**Posicionamento**	**Fezes**
Detectado	2	5	0	0
Não detectado	3	4	2	1

Fonte: Autoria própria (2023).

No modelo linear ajustado, tanto a variável “ocular” quanto a variável “empenamento” não demonstraram associação estatisticamente significativa com a resposta. Em ambos os casos, os intervalos de confiança incluíram o valor nulo, o que impossibilita afirmar a existência de efeito consistente. Além disso, observou-se ampla incerteza nas estimativas, indicando que os resultados não permitem conclusões sobre a influência dessas variáveis no modelo.

Em ambos os casos, os resultados indicam ausência de significância estatística ao nível de 5% e elevada incerteza nas estimativas.

Tabela 3 - Modelo linear generalizado de uma via testando os efeitos da presença ou ausência de *Chlamydophila psittaci* entre a presença ou ausência dos sinais clínicos (ocular, empenamento, posição e fezes), em grupos de aves da espécie Calopsita (*Nymphicus hollandicus*) de criadouro comercial no município de Chapecó – SC

Tratamentos	**Estimate**	**std.error**	**Statistic**	**p.value**
(Intercept)	-0,56529	0,662364	-0,85345	0,393412
Ocular	0,03111	1,169754	0,026596	0,978782
Empenamento	1,068363	0,965448	1,106598	0,268468
Posição	-18,6079	4450,228	-0,00418	0,996664
Fezes	-18,0008	6522,639	-0,00276	0,997798

Fonte: Autoria própria (2023).

Devido a baixa quantidade de amostras, tanto pela quantidade amostral disponibilizada pelo criador quanto pela diminuição devido ao óbito de três aves ao decorer das coletas estima-

se que são necessários maiores estudos para uma maior confirmação dos dados propostos. Tendo em vista também a possibilidade de aves estarem incubando a infecção, não descartando assim resultados falso-negativos, bem como a possibilidade de aves terem se infectado ao longo do estudo por terem sido mantidas em grupos a fim de evitar estresse pela mudança da rotina. Sugere-se mais estudos a respeito do tema.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que as aves deste estudo não apresentaram uma relação entre a presença de sinais clínicos e a detecção da bactéria clamidiose, elevando a importância dos exames laboratoriais mesmo em animais que não apresentem sintomatologia clássica da doença. Os dados corroboram com os estudos apontados das variações da doença e diferentes formas de sintomatologia que as aves podem apresentar, bem como a detecção e identificação do agente causador da clamidiose. Observou-se também que a utilização do método de coleta em *pool* de amostras potencializa a viabilidade de obtenção de um resultado mais fidedigno uma vez que em algumas fases da infecção a ave não eliminará a bactéria através de todas as vias, o que aumente o alerta a manter os exames de forma periódica nos animais. Ressaltando também a importância da realização de exames e investigações mais afundo por parte do médico veterinário responsável, principalmente em casos clínicos que a ave apresente apenas um sinal ou nenhum dinal da doença.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Yasmin Teles da Costa; ARAUJO AMATO, Gabriel de; PAZIKAS, Isabelle Gorgulho; MINETA, Esther Ayumi; RODRIGUES, Julia; AURÉLIO, Luis Felipe Silva; MAGALHÃES DE MOURA, Rafael; SERRANO, Fernanda. Clamidiose em animais silvestres. **Pubvet,** [S. l.], v. 17, n. 03, p. e1354, 2023. DOI: 10.31533/pubvet.v17n03a1354. Disponível em: https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/3051.. Acesso em: 19 set. 2025.

ANDERSEN, A. A.; VANROMPAY, D. *Avian chlamydiosis* (*psittacosis*, *ornithosis*). In: SAIF, Y. M. (ed.). **Diseases of Poultry**. 11. ed. Ames: Iowa State University, 2003. p. 863-879.

BALSAMO, G. et al. Compendium of measures to control Chlamydia psittaci infection among humans (*psittacosis*) and pet birds (*avian chlamydiosis*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 31, n. 3, p. 262-282, 2017.

BICALHO F. S. B., **Revista Veterinária e Zootecnia Em Minas- Artigo Técnico 2**: Clamidofiloses dos Animais: vamos conhecer um pouco mais sobre estas doenças., p.16-20, Julh/Ago/Set 2010.

BOREL N, Polkinghorne A, Pospischil A. A Review on Chlamydial Diseases in Animals: Still a Challenge for Pathologists? **Vet Pathol.** 2018 May;55(3):374-390. doi: 10.1177/0300985817751218. Epub 2018 Jan 8. PMID: 29310550. Acesso em 17 set. 2025.

CASAGRANDE, R. et al. Diagnóstico imuno-histoquímico e caracterização anatomopatológica de clamidiose em psitacídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 885-890, set. 2014.

CAVALCANTE, G. C. *Clamidiose aviária: revisão de literatura*. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-graduação em Medicina Veterinária) – [Universidade Castelo Branco], Brasília, fev. 2008.

CHU, J. et al. Psittacosis. In: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; jan- 2023. [atualizado em 24 jul. 2023]. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538305/. Acesso em: 17 set. 2025.

CUBAS Z. S., SILVA J. C. R., DIAS J. L. C. **Tratado de Animais Selvagens- Medicina Veterinária**. São Paulo: Rocca, p.235, 2007.

Dai, N.; Li, Q.; Geng, J.; Guo, W.; Yan, W. Severe pneumonia caused by *Chlamydia psittaci*: Report of two cases and literature review. **J. Infect. Dev. Ctries. 2022**, *16*, 1101–1112.

DONATILIO, Mariana Silvestre de Oliveira; BARBOSA, Lucas Felipe Rebouças; ANTONELLI, Anuska Athayde; FERRÃO, Marcia Cristina Pires; REINA, Isabela Marchesi. Plantas medicinais e fitoterapia para psitacídeos com clamidiose: revisão de literatura. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, *[S. l.]*, v. 10, n. 8, p. 167–178, 2024. DOI: 10.51891/rease.v10i8.14366. Disponível em: https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/14366. Acesso em: 19 set. 2025.

FOWLER, M. E. (Ed.). Zoo **Wild Animal Medicine**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. p. 230-231, 418-419.

GUERLACH, H. Chlamydia. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. (Eds.). **Avian Medicine**: Principles and Application. Lake Worth: Wingers, 1994. Cap. 34, p. 984-996.

GUZMAN, D.S. etal. Evaluating 21-day doxycycline and azithromycin treatments for experimental Chlamydophila psittaci infection in Cockatiels (*Nymphicus hollandicus*). **Journal of Avian Medicine and Surgery,** v.24, n.1, p.35- 45, 2010.

HARKINEZHAD, T.; GEENS, T.; VANROMPAY, D. *Chlamydophila psittaci* infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. **Veterinary Microbiology**, v. 135, n. 1-2, p. 68-77, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.046. Acesso em: 16 set. 2024.

HEDDEMA, E. R. et al. Typing of *Chlamydia psittaci* to monitor epidemiology of psittacosis and aid disease control in the Netherlands, 2008 to 2013. **Euro Surveillance**, v. 20, n. 5, p. pii=21026, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.5.21026. Acesso em: 16 set. 2024.

HOU, Ling et al. Prevalence and genotypes of *Chlamydia psittaci* in birds and related workers in three cities of China. ***PLOS ONE,*** [s.l.], ago. 2024. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0308532. Acesso em: 19 set. 2025.

JÚNIOR, Francisco Patricio De Andrade et al.. **Anacardium occidentale (cajueiro) e seu potencial antimicrobiano: uma revisão**. Anais I CONIDIS... Campina Grande: Realize Editora, 2016. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/23440>. Acesso em: 19/09/2025 16:13

KARLMAR, I. D. et al. Zoonotic infection with *Chlamydia psittaci* at an avian refuge centre. **Veterinary Journal**, v. 199, n. 2, p. 300-302, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.10.034. Acesso em: 16 set. 2024.

KHAN, C. M. (Ed.). **The Merck Veterinary Manual**. 9. ed. Whitehouse Station: Merck & Co., 2006. Cap. Poultry.

Knittler MR, Berndt A, Böcker S, Dutow P, Hänel F, Heuer D, Kägebein D, Klos A, Koch S, Liebler-Tenorio E, Ostermann C, Reinhold P, Saluz HP, Schöfl G, Sehnert P, Sachse K. *Chlamydia psittaci:* new insights into genomic diversity, clinical pathology, host-pathogen interaction and anti-bacterial immunity. Int **J Med Microbiol**. 2014 Oct;304(7):877-93. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.06.010. Epub 2014 Jun 28. PMID: 25082204.

Kowalczyk, K.; Wójcik-Fatla, A. *Chlamydia psittaci* in faecal samples of feral pigeons (*Columba livia forma urbana*) in urban areas of Lublin City, Poland. **Curr. Microbiol. 2022**, *79*, 367.

LEAL, Danielle Custodio. **Epidemiologia da infecção por chlamydophila psittaci em psittaciformes e columbiformes no estado da bahia**. 2013. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência Animal nos Trópicos, Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2013. Disponível em: https://sucupira-

legado.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=139361. Acesso em: 17 set. 2025.

LONGBOTTOM, D.; COULTER, L. J. Animal *chlamydiosis* and zoonotic implications. **Journal of Comparative Pathology**, v. 128, p. 217-244, 2003.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A. **Manual de Emergências Aviárias**. 2. ed. São Paulo: MedVet, 2016. 201 p.

MITCHELL, S. L. Genotyping of *Chlamydophila* psittaci by Real-Time PCR and High-Resolution Melt Analysis. **Journal of Clinical Microbiology**. 2009.

MOSCHIONI, C. et al. Pneumonia grave por Chlamydia psittaci**. Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 27, n. 4, 2001.

NIEUWENHUIZEN, A.A., Dijkstra, F., Notermans, D.W. *et al.* Laboratory methods for case finding in human psittacosis outbreaks: a systematic review. **BMC Infect Dis 18**, 442 (2018). https://doi.org/10.1186/s12879-018-3317-0

OIE (WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH). Chapter 3.3.1. avian chlamydiosis. In: **OIE Biological Standards Commission. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. 8. ed. Paris: OIE, 2018. p. 783-795.

ORIGLIA, C. et al. *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus in psittacine pets*. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 51, n. 2, p. 130-135, 2019.

ORNELAS-EUSEBIO, E. et al. First identification of Chlamydia psittaci in the acute illness and death of endemic and endangered psittacine birds in Mexico. **Avian Diseases**, v. 60, p. 540-544, 2016.

PAGE, L. A. (1959). Experimental Ornithosis in Turkeys. *Avian Diseases*, *3*(1), 51–66. https://doi.org/10.2307/1587757

PANNEKOEK, Y. et al. Multi locus sequence typing of Chlamydia reveals an association between Chlamydia psittaci genotypes and host species. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, p. e14179, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0014179. Acesso em: 16 set. 2024.

PIASECKI, T. et al. Detection and identification of Chlamydophila psittaci in asymptomatic parrots in Poland. **BMC Veterinary Research**, v. 8, p. 233-238, 2012.

PROENÇA, Laila Maftoum e FAGLIARI, José Jurandir e RASO, Tânia de Freitas. **Infecção por C. psittaci: uma revisão com ênfase em psitacídeos**. Ciência Rural, v. 41, n. 5, p. 841-847, 2011Tradução . . Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000500017. Acesso em: 19 set. 2025.

RASO, T. de F. Clamidiose - n. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds.). **Tratado de Animais Selvagens**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. v. 2, cap. 67.

RASO, T. de F. Clamidiose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds.). **Tratado de Animais Selvagens**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007. v. 1, cap. 47, p. 760-767.

RAVICHANDRAN, K.; Anbazhagan, S.; Karthik, K.; Angappan, M.; Dhayananth, B. A comprehensive review on avian Chlamydiosis: A neglected zoonotic disease. **Trop. Anim. Health Prod.** 2021, 53, 414.

RICCIO, M. B., García, J. P., Chiapparrone, M. L., Cantón, J., Cacciato, C., Origlia, J. A., Cadario, M. E., Diab, S. S., & Uzal, F. A. (2024). Outbreak of *Chlamydia psittaci* Infection in a Commercial Psittacine Breeding Aviary in Argentina. **Animals, 14**(13), 1959. https://doi.org/10.3390/ani14131959

RODOLAKIS, A.; MOHAMAD, K. Y. Zoonotic potential of Chlamydophila. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3-4, p. 382-391, 2010.

RUIZ-LAITON, A. et al. The prevalence of Chlamydia psittaci in confiscated Psittacidae in Colombia. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 200, mar. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105591. Acesso em: 16 set. 2024.

RUPLEY, A. E. **Manual de Clínica Aviária**. São Paulo: Roca, 1999.

SACHSE, K. et al. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. **Veterinary Microbiology**, v. 135, p. 2-21, 2009.

SANTOS, Taynara Paula; SOUSA, Felipe Gaia de. Associação entre dieta a base de sementes e flavismo em aves. In: **III Congresso Brasileiro de Proteção, Bem-Estar e Patologia Animal**, 2023, Belo Horizonte. Anais… Belo Horizonte. mar. 2023.

SPRADA A. G.,CAVALHEIRO C. P.; TREIN T. A.; FLORES M. L. Clamidiose aviária: uma revisão**- Boletim Informativo ano 1**, N.2 Agosto de 2008; Universidade Federal de Santa Maria. 2008.

STEPHENS, R. S. et al. Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of Chlamydia resolved. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 115-119, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2008.00516.x. Acesso em: 16 set. 2024.

STROKES, H.S.; Berg, M.L.; Bennett, A.T.D. A Review of Chlamydial Infections in Wild Birds. Pathogens 2021, 10, 948. https://doi. org/10.3390/pathogens10080948. Acesso em: 17 set. 2025.

VALASEK, M. A.; REPA, J. J. The power of real-time PCR. **Advances in Physiology Education**, v. 29, p. 151-159, 2005.

VANROMPAY, D. *Avian chlamydiosis*. In: SWAYNE, D. E.; BOULIANNE, M.; LOGUE, C. M.; MCDOUGALD, L. R.; NAIR, V.; SUAREZ, D. L. (eds.). **Diseases of Poultry**. 14. ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2020. p. 1086-1107.

VASCONCELOS, T. C. B. et al. *Chlamydophila psittaci* em aves silvestres e exóticas: uma revisão com ênfase em saúde pública. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 2462-2477, 2013.

WEST, A. A brief review of Chlamydophila psittaci in birds and humans. **Journal of Exotic Pet Medicine,** v. 20, n. 1, p. 18-20, 2011. Disponível em: http://doi.org/10.1053/j.jepm.2010.11. Acesso em: 16 set. 2024.

ANEXOS

Anexo 1 -

UNIDADE CENTRAL DE EDUCAÇÃO FAEM FACULDADE LTDA
FACULDADE EMPRESARIAL DE CHAPECÓ - UCEFF

Recredenciada pela Portaria nº 1.436, de 7 de outubro de 2011.

MEDICINA VETERINÁRIA

Autorizado pela Portaria nº. 375 de 24 de abril de 2017.

PARECER FINAL 08/2023

A CEUA-UCEFF no uso de suas atribuições legais, em face de decisão deliberada na reunião ordinária, referente ao protocolo 08/2023 - Avaliação Clínica e Detecção de *Chlamydophila psittaci* em Calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) de Chapecó, Santa Catarina, responsável Isadora Morais Massa, divulga o seguinte parecer:

APÓS REALIZAÇÃO DOS DEVIDOS AJUSTES SOLICITADOS, foram considerados **APROVADOS** os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo.

Rafael Festugatto

Coordenador CEUA-UCEFF

CHAPECÓ, 12/06/2023