

Parasitismo em aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, Estado do Rio de Janeiro¹

Winnie M. Brum², Maria A.V. da Costa Pereira^{2*}, Gilmar F. Vita³, Ildemar Ferreira³, Ericson R. Mello³, Rita de Cássia M. Aurnheimer⁴, Argemiro Sanavria⁵ e Elisa D. Padua⁵

ABSTRACT- Brum W.M., Da Costa Pereira M.A.V., Vita G.F., Ferreira I., Mello E.R., Aurnheimer R.C.M., Sanavria A. & Padua E.D. 2016. [Parasitism in migratory and resident wild birds of Marambaia island, Rio de Janeiro state.] Parasitismo em aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, Estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(11):1101-1108. Setor de Parasitologia, Hospital Veterinário, Laboratório de Sanidade Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602, Brazil. E-mail: angelicadacostapereira@yahoo.com.br

The study intended to analyze the population of migratory and resident wild bird species from Marambaia island, located in the municipality of Mangaratiba, Rio de Janeiro state, regarding the presence of microorganisms in blood smears during the year of 2009. In order to achieve the goal, 86 individuals of 22 bird species were captured using mist nets; peripheral blood was collected and blood smears performed. The birds were released after examined and sampled *in situ*. The diagnostic results were 11 (12.80%) birds positive for *Plasmodium* sp., one (1.16%) for microfilaria and 16 (18.60%) for *Borrelia* sp. Ticks identified as *Amblyomma* sp. (Ixodidae) were observed parasiting the sampled birds, suggesting that a relationship parasite-vector-host exists between these ticks and the *Borrelia* genus. This study should be expanded to other regions so that its results may favour other surveys, focused on conservation of wild birds in their habitat.

INDEX TERMS: Wild birds, *Plasmodium* sp., microfilarie, *Borrelia* sp., *Amblyomma* sp.

RESUMO.- O objetivo desta pesquisa foi buscar a presença de microrganismos em esfregaços sanguíneos de aves silvestres residentes ou migratórias da Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro, durante o ano de 2009. Para execução da pesquisa, 86 indivíduos referentes a 22 espécies foram capturados através de rede de neblina e após manuseio liberados ao seu habitat natu-

ral. Foi coletado sangue periférico das aves e realizado esfregaços sanguíneos. Como resultados foi diagnosticado a ocorrência de 11 (12,80%) indivíduos positivos para *Plasmodium* sp., um (1,16%) para microfilaria e 16 (18,60%) para *Borrelia* sp. Foram encontrados carrapatos *Amblyomma* sp. (Família Ixodidae) parasitando as aves amostradas, o que sugere existir uma interação parasito-vetor-hospedeiro entre esse e o gênero *Borrelia*. Este estudo deve ser ampliado para outras regiões e o seu conhecimento dará maiores subsídios para outras pesquisas, voltadas principalmente para a preservação de aves em ambiente por elas escolhidos como seu habitat.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Aves silvestres, *Plasmodium* sp., microfilaria, *Borrelia* sp., *Amblyomma* sp.

INTRODUÇÃO

Diversas espécies de parasitos e bactérias circulam pelo sangue das aves, onde encontram ambiente adequado para sua reprodução e multiplicação. Estes microrganismos apresentam distribuição global e já foram descritos para-

¹ Recebido em 12 de julho de 2015.

Aceito para publicação em 14 de julho de 2016.

² Setor de Parasitologia, Hospital Veterinário, Laboratório de Sanidade Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Av. Alberto Lamego 2000, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602, Brasil.
*Autor para correspondência: angelicadacostapereira@yahoo.com.br

³ Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil.

⁴ Centro Universitário Anhanguera, Rua Visconde do Rio Branco 137, Niterói, RJ 24020-001, Brasil.

⁵ Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR- 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil.

sitando diversos grupos de aves em praticamente todas as regiões geográficas (Fudge 2000, Santos-Prezoto et al. 2004, Fonseca et al. 2005, Lisbôa et al. 2008, Fecchio 2011). Dentre os parasitos, chama-se atenção para o gênero *Plasmodium* (Marchiafava & Celli, 1885), causador da malária aviária, que até 2005, foi registrado em 13,5% da avifauna mundial analisada para hemoparasitos. Estudos têm demonstrado que durante a fase aguda da infecção as aves apresentam palidez da mucosa, dispnéia, anorexia, megália dos órgãos e distúrbios digestivos e neurológicos, podendo de acordo com o grau de parasitemia vir a óbito (Santos-Prezoto et al. 2004, Valkiūnas 2005, Campos & Almosny 2011, Fecchio 2011).

Enfatiza-se também a ocorrência de microfilárias na corrente sanguínea de aves, formas embrionárias de filárideos que vivem e amadurecem em cavidades do corpo, incluindo o olho, cérebro, sistema respiratório e cardiovascular de aves. Pouco se tem conhecimento da sintomatologia clínica das infecções causadas por esse parasito, mas achados de necropsia incluem alargamento do coração, inflamação e hemorragia do miocárdio, hipervascularização, tenossinovite e lesões pulmonares (Garnham 1960, Almosny & Monteiro 2007, Atkinson et al. 2008).

A ocorrência desses parasitos tem sendo relatada na Europa (Viana 2010, Hass et al. 2011), Ásia (Murata 2002, Valkiūnas et al. 2006), África (Savage et al. 2009, Valkiūnas et al. 2009), América Central (Valkiūnas et al. 2004, Benedikt et al. 2009) e América do Norte (Barnard et al. 2010, Gibson 2010). América do Sul, Oceania e ilhas oceânicas são mencionadas como regiões pouco estudadas (Fecchio et al. 2007).

No Brasil, estudos sobre ocorrência e prevalência de parasitos no sangue de aves silvestres tem sido registrados por vários autores, entre outros, Woodworth-Lynas et al. (1989), Adriano & Cordeiro (2001), Vanstreels et al. (2015) e Chagas et al. (2016) em São Paulo, Fecchio et al. (2007), Crizóstimo (2008) e Fecchio (2011) no Distrito Federal, Sebaio (2002) e Ribeiro et al. (2005) em Minas Gerais, Leite et al. (2013) em Tocantins e Roos et al. (2015) na Amazônia.

Com relação às bactérias, destaca-se o gênero *Borrelia*, infeccioso tanto para homem como animais. No mundo, a borreliose aviária é ocasionada por *Borrelia anserina*, que delinea um quadro clínico inicial de hipertermia e poli-dipsia, sonolência, inapetência, diarreia verde-escura, com evolução para cianose com hipotermia, podendo ocorrer transtornos paráliticos e morte (Fonseca et al. 2005, Ataliba et al. 2007, Lisbôa et al. 2008).

Autores confirmam a ocorrência de espécies de *Borrelia* em aves de várias regiões, entre eles, Yabsley et al. (2012) na África, Scott et al. (2010) e Mathers et al. (2011) na América do Norte, Ishiguro et al. (2000) e Takano et al. (2009) na Ásia, e Taragel'ová et al. (2008) e Dubska et al. (2011) na Europa.

Na América do Sul os trabalhos concentram-se no Brasil, onde *Borrelia burgdorferi* é mais pesquisada, visto o papel relevante das aves migratórias, reservatórios imunes desta espiroqueta na epidemiologia da Borreliose de Lyme e transportadoras de carrapatos infectados (Ishikawa 2000, Soares et al. 2000, Massard & Fonseca 2004, Alvim et al. 2005, Corradi et al. 2006).

O presente estudo teve como objetivo buscar a presença de microrganismos em esfregaços sanguíneos de aves silvestres residentes ou migratórias da Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro, durante o ano de 2009. Sua contribuição está no enriquecimento da literatura nacional sobre o tema, e referente à localidade estudada, incentivar estudos sobre processos ecológicos, comportamentais, migratórios e competitivos das aves parasitadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada na Ilha da Marambaia, situada no litoral da Costa Verde, município de Mangaratiba, sul do Estado do Rio de Janeiro, com coordenadas geográficas de 23°03' S e 43°36' W. Possui extensão de aproximadamente 42 km, sendo separada do continente pelo Canal do Bacalhau, na Barra de Guaratiba (Brasil 2009, Paula et al. 2009).

A parte oeste é conhecida como Pontal da Marambaia, isto é, a ilha propriamente dita. Apresenta relevo variado entre baixada, meia-baixada e elevação rochosa, sendo o seu ponto culminante o Pico da Marambaia, com 647 metros de altitude, cuja formação vulcânica é revestida por uma Mata Atlântica exuberante. Conserva uma vegetação de Restinga e de Mata Pluvial Costeira, sendo esta quase que totalmente extinta no Estado do Rio de Janeiro (Xerez et al. 1995). A vegetação dominante é a mata secundária, com sub-bosque denso (Garske & Andrade 2004).

Devido às queimadas e ao pastoreio intensivo que ocorreram na primeira metade do século XX, a cobertura vegetal da área do quartel da Marinha, encontra-se atualmente bem mais alterada do que a da área oceânica, que é desabitada tanto pela distância e precariedade de acesso por via terrestre, quanto pela dificuldade das embarcações aportarem. Particularmente, são as vertentes da área oceânica que conservam expressiva parcela da Mata Pluvial da ilha (Garske & Andrade 2004).

Para execução da pesquisa, aves foram capturadas com o uso de três redes de neblina (12 m de comprimento por 2,5 m de altura e malha de 35 mm), abertas no ambiente desde a alvorada até às 12 horas, sendo vistoriadas em intervalos médios de 30 minutos para a retirada das aves (Bibby et al. 1993, Fecchio 2006), durante os meses de fevereiro, maio, agosto e novembro de 2009. Seguiu-se os critérios recomendados por Werther (2008) e Roos (2010) para manipulação e manutenção das aves, onde todo o procedimento, desde a remoção na rede até a coleta de sangue, foi realizado no menor tempo possível, cerca de 30 minutos, sendo então devolvidas ao seu habitat natural. Os indivíduos capturados eram identificados e marcados com anilhas metálicas (Ibama 1994, Bejcek & Stastny 2002, Frisch & Frisch 2005). Para efeito de nomenclatura e nomes vulgares das espécies, seguiu-se o proposto por Sick (1997) e Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (2011).

Amostras de sangue foram coletadas das aves capturadas, nunca excedendo a 1% do peso vivo do animal, através de punção da veia braquial, em seringas descartáveis tipo insulina (1ml) e agulha de insulina (13 x 4), e colocadas em frascos de vidro contendo ácido etilendiaminotetracético 10% (EDTA), sendo esfregaços sanguíneos confeccionados nesse momento (Almosny et al. 1998, Clark et al. 2009, Braga et al. 2010). Esses foram fixados, acondicionados em caixas específicas para guardar lâminas e transportados para o Setor de Parasitologia, Laboratório de Sanidade Animal, no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) em Campos dos Goytacazes, estado do Rio de Janeiro, onde foram corados através do método Panótico Rápido e observados em microscópio óptico nos aumentos de 10x, 40x e 100x, também se utilizando de lente de imersão. A taxono-

mia parasitária seguiu o proposto por Sloss et al. (1999), Vicente et al. (1997), Quinn et al. (2005) e Valkiūnas (2005), tomando principalmente por base para certificação do gênero *Plasmodium*, a presença de formas intraeritrocíticas em diversos estágios de desenvolvimento, diferenças entre gametócitos e observação de grânulos de hemozoína, e quando impossível uma confirmação, a opinião experiente de um renomado pesquisador do Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

O Panótico Rápido baseia-se no princípio de coloração hematológica estabelecida por Romanowsky (1861-1921) atuando em 15 segundos. A amostra usada consiste em lâminas com extensões de sangue periférico. A extensão hematológica é submetida à ação de um fixador e duas soluções corantes, por meio de imersões de cinco segundos em cada, e ao final da última imersão encontra-se pronta para leitura (Laborclin 2005).

Devido à presença de ectoparasitos nas aves procurou-se identificá-los, não sendo porém esta prática objetivo desta pesquisa. Os espécimes foram coletados através de torções leves, seguidas de movimento de tração, com a utilização de pinça, e colocados individualmente em recipientes de vidro rotulados, contendo álcool etílico 70%, sendo posteriormente identificados em laboratório, onde foram observados à luz da microscopia óptica, com aumento de 40x e 60x, seguindo-se as orientações de Aragão & Fonseca (1961), Serra-Freire & Mello (2006) e Martins et al. (2010). Para a descrição das características morfológicas em nível de gênero e espécie observou-se a projeção do capítulo, posição do sulco anal, projeção dos segmentos do palpo, hipostômio, escudo e placas adanais.

RESULTADOS

Foram capturados durante o presente trabalho 86 indivíduos referentes a 22 espécies de aves de vida livre, sendo elas: *Butorides striata* (Socozinho), *Chloroceryle americana* (Martim-pescador-pequeno), *Coereba flaveola* (Cambacica), *Cypseloides fumigatus* (Andorinhão-preto-de-cascata), *Gnorimopsar chopi* (Pássaro-preto), *Haplospiza unicolor* (Cigarrinha), *Leptotila verreauxi* (Juriti), *Myiarchus ferox* (Maria-cavaleira), *Myiodynastes maculatus* (Bem-te-vi-rajado), *Pitangus sulphuratus* (Bem-te-vi), *Ramphocelus bresilius* (Tiê-sangue), *Rupornis magnirostris* (Gavião-carijó), *Saltator atricollis* (Bico-de-pimenta), *Saltator similis* (Trinca-ferro), *Sporophila lineola* (Bigodinho), *Sporophila nigricollis* (Coleirinho), *Sporophila plumbea* (Patativa), *Thalurania glaucopis* (Beija-flor), *Thraupis sayaca* (Sanhaço), *Turdus leucomelas* (Sabiá-barranco), *Turdus rufiventris* (Sabiá-laranjeira) e *Volatina jacarina* (Tiziu) (Quadro 1).

Dos 86 esfregaços sanguíneos efetuados, 16 (18,60%) encontravam-se positivos para *Borrelia* sp., 11 (12,80%) para *Plasmodium* sp. e um (1,16%) para microfilária. Diagnosticou-se infecção mista em três esfregaços (3,49%), sendo um (1,16%) por *Plasmodium* sp. e microfilária e dois (2,33%) por *Borrelia* sp. e *Plasmodium* sp. (Quadro 1; Fig.1).

Quadro 1. Positividade parasitária para 86 esfregaços sanguíneos de aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro, durante o ano de 2009

| Esfregaço (nº) | Nome científico | Nome comum | <i>Borrelia</i> sp. | Microfilária | <i>Plasmodium</i> sp. |
|----------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------|--------------|-----------------------|
| 01 | <i>Pitangus sulphuratus</i> | Bem-te-vi | (-) | (-) | (-) |
| 02 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 03 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 04 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 05 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 06 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 07 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 08 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 09 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 10 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 11 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 12 | <i>Rupornis magnirostris</i> | Gavião-carijó | (-) | (-) | (-) |
| 13 | <i>Cypseloides fumigatus</i> | Andorinhão-preto-de-cascata | (-) | (-) | (-) |
| 14 | <i>Cypseloides fumigatus</i> | Andorinhão-preto-de-cascata | (-) | (-) | (+) |
| 15 | <i>Cypseloides fumigatus</i> | Andorinhão-preto-de-cascata | (-) | (-) | (-) |
| 16 | <i>Thalurania glaucopis</i> | Beija-flor | (-) | (-) | (-) |
| 17 | <i>Turdus rufiventris</i> | Sabiá-laranjeira | (+) | (-) | (-) |
| 18 | <i>Leptotila verreauxi</i> | Juriti | (-) | (-) | (-) |
| 19 | <i>Leptotila verreauxi</i> | Juriti | (-) | (-) | (-) |
| 20 | <i>Leptotila verreauxi</i> | Juriti | (-) | (-) | (+) |
| 21 | <i>Leptotila verreauxi</i> | Juriti | (-) | (-) | (-) |
| 22 | <i>Leptotila verreauxi</i> | Juriti | (+) | (-) | (-) |
| 23 | <i>Turdus leucomelas</i> | Sabiá-barranco | (-) | (-) | (-) |
| 24 | <i>Turdus leucomelas</i> | Sabiá-barranco | (-) | (-) | (-) |
| 25 | <i>Turdus leucomelas</i> | Sabiá-barranco | (+) | (-) | (-) |
| 26 | <i>Turdus leucomelas</i> | Sabiá-barranco | (-) | (-) | (-) |
| 27 | <i>Turdus leucomelas</i> | Sabiá-barranco | (-) | (-) | (-) |
| 28 | <i>Ramphocelus bresilius</i> | Tiê-sangue | (-) | (-) | (-) |
| 29 | <i>Ramphocelus bresilius</i> | Tiê-sangue | (-) | (-) | (-) |
| 30 | <i>Ramphocelus bresilius</i> | Tiê-sangue | (+) | (-) | (-) |

Quadro 1 (cont.). Positividade parasitária para 86 esfregaços sanguíneos de aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro, durante o ano de 2009

| Esfregaço (nº) | Nome científico | Nome comum | <i>Borrelia</i> sp. | Microfilária | <i>Plasmodium</i> sp. |
|----------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------|--------------|-----------------------|
| 31 | <i>Chloroceryle americana</i> | Martim-pescador-pequeno | (+) | (-) | (-) |
| 32 | <i>Chloroceryle americana</i> | Martim-pescador-pequeno | (-) | (-) | (-) |
| 33 | <i>Chloroceryle americana</i> | Martim-pescador-pequeno | (+) | (-) | (-) |
| 34 | <i>Chloroceryle americana</i> | Martim-pescador-pequeno | (-) | (-) | (-) |
| 35 | <i>Myiodynastes maculatus</i> | Bem-te-vi-rajado | (-) | (-) | (-) |
| 36 | <i>Myiodynastes maculatus</i> | Bem-te-vi-rajado | (+) | (-) | (-) |
| 37 | <i>Coereba flaveola</i> | Cambacica | (-) | (-) | (-) |
| 38 | <i>Coereba flaveola</i> | Cambacica | (-) | (-) | (-) |
| 39 | <i>Coereba flaveola</i> | Cambacica | (-) | (-) | (-) |
| 40 | <i>Volatina jacarina</i> | Tiziu | (+) | (-) | (-) |
| 41 | <i>Volatina jacarina</i> | Tiziu | (-) | (-) | (-) |
| 42 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 43 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (+) | (-) | (+) |
| 44 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (+) |
| 45 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (+) | (-) | (-) |
| 46 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 47 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (+) |
| 48 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (+) |
| 49 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (+) |
| 50 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 51 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (+) | (-) | (-) |
| 52 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 53 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 54 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 55 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (+) | (-) | (-) |
| 56 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (+) | (-) | (-) |
| 57 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (+) | (-) | (-) |
| 58 | <i>Ramphocelus bresilius</i> | Tiê-sangue | (-) | (-) | (-) |
| 59 | <i>Ramphocelus bresilius</i> | Tiê-sangue | (-) | (-) | (+) |
| 60 | <i>Saltator similis</i> | Trinca-ferro | (-) | (-) | (-) |
| 61 | <i>Saltator similis</i> | Trinca-ferro | (-) | (-) | (-) |
| 62 | <i>Cypseloides fumigatus</i> | Andorinhão-preto-de-cascata | (-) | (-) | (-) |
| 63 | <i>Haplospiza unicolor</i> | Cigarrinha | (-) | (-) | (+) |
| 64 | <i>Gnorimopsar chopi</i> | Pássaro-preto | (-) | (-) | (-) |
| 65 | <i>Gnorimopsar chopi</i> | Pássaro-preto | (+) | (-) | (-) |
| 66 | <i>Turdus rufiventris</i> | Sabiá-laranjeira | (-) | (-) | (-) |
| 67 | <i>Saltator atricollis</i> | Bico-de-pimenta | (+) | (-) | (+) |
| 68 | <i>Saltator atricollis</i> | Bico-de-pimenta | (-) | (+) | (+) |
| 69 | <i>Saltator similis</i> | Trinca-ferro | (-) | (-) | (-) |
| 70 | <i>Saltator similis</i> | Trinca-ferro | (-) | (-) | (-) |
| 71 | <i>Cypseloides fumigatus</i> | Andorinhão-preto-de-cascata | (-) | (-) | (-) |
| 72 | <i>Cypseloides fumigatus</i> | Andorinhão-preto-de-cascata | (-) | (-) | (-) |
| 73 | <i>Sporophila lineola</i> | Bigodinho | (-) | (-) | (-) |
| 74 | <i>Sporophila lineola</i> | Bigodinho | (-) | (-) | (-) |
| 75 | <i>Sporophila lineola</i> | Bigodinho | (-) | (-) | (-) |
| 76 | <i>Sporophila lineola</i> | Bigodinho | (-) | (-) | (-) |
| 77 | <i>Sporophila lineola</i> | Bigodinho | (-) | (-) | (-) |
| 78 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 79 | <i>Butorides striata</i> | Socozinho | (-) | (-) | (-) |
| 80 | <i>Leptotila verreauxi</i> | Juriti | (-) | (-) | (-) |
| 81 | <i>Leptotila verreauxi</i> | Juriti | (-) | (-) | (-) |
| 82 | <i>Thraupis sayaca</i> | Sanhaço | (-) | (-) | (-) |
| 83 | <i>Ramphocelus bresilius</i> | Tiê-sangue | (-) | (-) | (-) |
| 84 | <i>Sporophila nigricollis</i> | Coleirinho | (-) | (-) | (-) |
| 85 | <i>Myiarchus ferox</i> | Maria-cavaleira | (-) | (-) | (-) |
| 86 | <i>Sporophila plumbea</i> | Patativa | (-) | (-) | (-) |

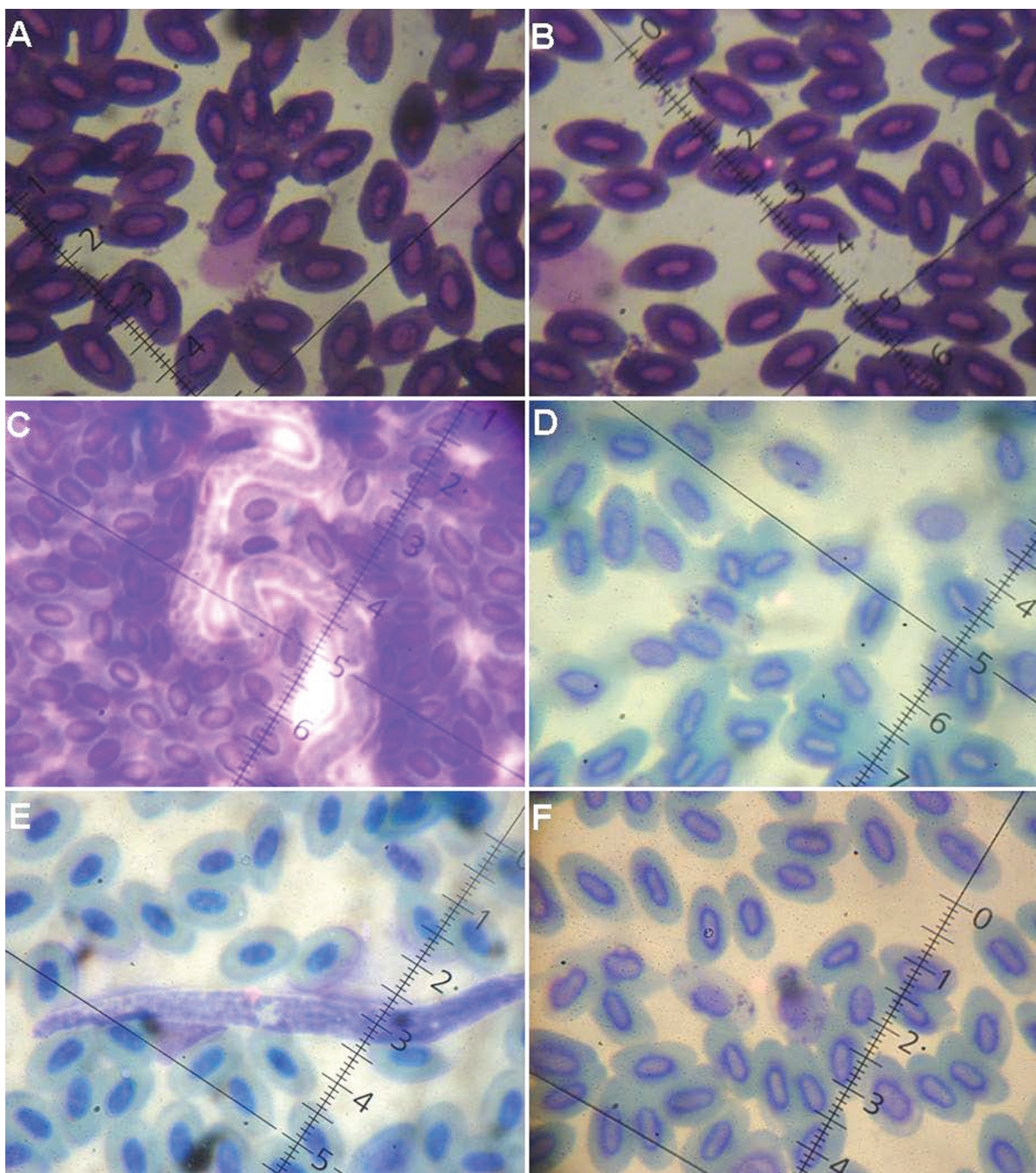


Fig.1. Parasitos e bactérias encontrados em esfregaços sanguíneos de aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, durante o ano de 2009. (A,B) *Borrelia* sp.; (C,E) *Microfilaria*; (D,F) *Plasmodium* sp. Obj.100x; Zoom óptico 4x.

Os ectoparasitos coletados constituíam-se de ninfas de ixodídeos da espécie *Amblyomma* (Koch, 1844), sendo 42 exemplares, os quais estiveram presentes somente nas 16 aves portadoras de *Borrelia* sp.

DISCUSSÃO

A ocorrência de hemoparasitos em aves no Brasil tem sido estudada por diversos autores (Bennett & Lopes 1980, Fecchio 2006, Belo 2007, Crizóstimo 2008) em diferentes regiões do país. Porém, se comparado a nossa biodiversidade em aves e extensão territorial ainda somam-se poucos trabalhos sobre o tema. Na região da Ilha da Marambaia, estado do

Rio de Janeiro, não foram encontrados trabalhos envolvendo hemoparasitos de aves de vida livre ou domésticas.

Em relação ao percentual total de aves positivas para parasitos (13,96%), considerou-se baixa a ocorrência, o que também foi constatado por Bennett & Lopes (1980) e Woodworth-Lynas et al. (1989) que encontraram, respectivamente, 8,00% e 7,80% em aves de São Paulo. Fecchio et al. (2007) diagnosticaram 6,90% trabalhando no Brasil Central.

Quanto à presença de *Plasmodium* sp. nas aves pesquisadas (12,80%), observa-se um declínio, quando comparada com os resultados obtidos por Belo (2007), que observando esfregaços sanguíneos de piscitacédeos em cativeiro

de dois estabelecimentos no estado de Minas Gerais e um no estado do Ceará verificou, respectivamente, 22,00%, 31,50% e 18,80% de animais positivos. Resultados bem abaixo dessa pesquisa foram encontrados por Fecchio et al. (2007) no Brasil Central, que observaram 1,60% de positividade, e Bennett & Lopes (1980) em São Paulo, que observaram 1,80%.

Já quanto à ocorrência de microfilária, no presente trabalho foi encontrado apenas um esfregaço positivo (1,16%), o que corrobora com Belo (2007), que em seus estudos também encontrou somente uma ave positiva entre as 127 aves amostradas, e com Fecchio et al. (2007), que não encontraram nenhuma ave positiva entre as 508 amostradas. Bennett & Lopes (1980) encontraram 2,60% de prevalência para filariídeos em 3.449 aves analisadas em São Paulo.

Com relação ao índice geral de parasitismo, as baixas taxas de prevalência encontrada no presente estudo e por Bennett & Lopes (1980) e Fecchio et al. (2007), diferem quando comparadas com Belo (2007), possivelmente por estarem relacionadas ao fato dos primeiros utilizarem aves migratórias e residentes de vida livre, enquanto o segundo utilizou aves confinadas.

Sorci & Moller (1997) observaram correlação positiva entre mortalidade e prevalência de parasitos em várias aves. Nas aves que sobreviveram à infecção aguda foi observada significativa perda do brilho das penas resultando na diminuição do sucesso reprodutivo. O que poderia justificar os baixos índices encontrados.

A diferença de resultados deste trabalho (13,96%) em relação a outros utilizando aves de vida livre acima descritos, pode estar associada com a diferença de regiões onde o trabalho foi realizado.

Para bactérias do gênero *Borrelia* diagnosticou-se 18,60% de esfregaços positivos. Os resultados deste trabalho referentes à baixa ocorrência dessa espiroqueta frente aos encontrados por outros autores devem, provavelmente, estar ligados ao uso de métodos diferentes e de maior especificidade. No entanto, o papel das aves silvestres como reservatório de *Borrelia* sp. está amplamente documentado no mundo (Olsen et al. 1995, Kurtenbach et al. 1998, Ishiguro et al. 2000, Poupon et al. 2006). No Brasil, mais trabalhos nesse campo deveriam ser realizados.

Dentre as aves positivas para *Borrelia* sp. foram observadas ninfas de *Amblyomma* sp., o que evidencia uma correlação como hospedeiro e vetor, também comentada por Barros-Battesti et al. (2000), Mantovani et al. (2007) e Yoshinari et al. (2010). No mundo, as investigações incriminam o gênero *Ixodes* como vetor dessa espiroqueta, a exemplo, Olsén et al. (1995) que encontraram 26,60% de prevalência para *Borrelia* sp. nesses carrapatos recolhidos de aves migratórias européias usando o método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), e Poupon et al. (2006) que observaram 6,00% e 18,20% de prevalência para o mesmo agente em aves migrando em sentido norte e sul, respectivamente, na Suíça, utilizando também a técnica do PCR. No Brasil, Guedes et al. (2008) diagnosticaram a presença de *Borrelia* sp. em carrapatos dos gêneros *Amblyomma* e *Rhipicephalus*.

O estudo parasitológico de aves silvestres deve ser ampliado para outras regiões e o seu conhecimento dará maiores subsídios para outras pesquisas, voltadas principalmente para a preservação das mesmas em ambiente por elas escolhidos como seu habitat.

CONCLUSÕES

Essa pesquisa evidencia a ocorrência dos parasitos *Plasmodium* sp. e microfilária em aves de vida livre residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, além da presença da bactéria *Borrelia* sp. e do ectoparasitismo por *Amblyomma* sp.

A ocorrência deste ixodídeo somente nas aves portadoras do gênero *Borrelia* exige o desenvolvimento de maiores pesquisas a fim de avaliar a existência de uma interação parasito-vetor-hospedeiro.

Comissão de Ética e Biossegurança.- Esta pesquisa foi submetida à Comissão de Ética na Pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob o número de processo 23083.005474/2011-13, ficando estabelecido que a mesma atende aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e está de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal, estabelecido pela Resolução 714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária.

REFERÊNCIAS

- Adriano A.E.O & Cordeiro N.S. 2001. Prevalence and intensity of *Haemoproteus columbae* in three species of wild doves from Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 96:175-178.
- Almosny N.R.P. & Monteiro A.M. 2007. Patologia clínica, p.939-966. In: Cubas Z.S., Silva J.C.S. & Catão-Dias J.L. (Eds), Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária. Roca, São Paulo.
- Almosny N.R.P., Silva K.P., Melo D.L.S., Vasconcelos T.C. & Monteiro A.O. 1998. Hematologia de aves: valores normais em hemograma de mutum de Alagoas (*Mitu mitu*). Revta Bras. Ciênc. Vet. 5:119-122.
- Alvim N.C., Bento M.A.F. & Martins L.A. 2005. Borreliose de Lyme, a doença da década. Revta Cient. Elet. Med. Vet. 4:1-4.
- Aragão H.B. & Fonseca F. 1961. Notas de Ixodologia. VII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 59:115-149.
- Ataliba A.C., Resende J.S., Yoshinari N. & Labruna M.B. 2007. Isolation and molecular characterization of a Brazilian strain of *Borrelia anserina*, the agent of fowl spirochaetosis. Res. Vet. Sci. 83:145-149.
- Atkinson C.T., Thomas N.J. & Hunter D.B. 2008. Parasitic diseases of wild birds. Wiley-Blackwell, New Delhi. 595p.
- Barnard W.H., Mettke-Hofmann C. & Matsuoka S.M. 2010. Prevalence of hematozoa infections among breeding and wintering rusty blackbirds. The Condor 112:849-853.
- Barros-Battesti D.M., Yoshinari N.H., Bonoldi V.L.N. & Gomes A.C. 2000. Parasitism by *Ixodes didelphidis* and *I. loricatus* (Acari: Ixodidae) on small wild mammals from an atlantic forest in the state of São Paulo, Brazil. J. Med. Entomol. 37:820-827.
- Bejcek V. & Stastny K. 2002. Enciclopédia das Aves. Central Livros Ltda, Lisboa. 288p.
- Belo N.O. 2007. Ocorrência de *Plasmodium* spp. em aves silvestres da família Psittacidae mantidas em cativeiro no Brasil. Dissertação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 45p.
- Benedikt V., Barus V., Capek M., Havlicek M. & Literak I. 2009. Blood parasites (*Haemoproteus* and microfilariae) in birds from the Caribbean slope of Costa Rica. Acta Parasitol. 54:197-204.
- Bennett G.F. & Lopes O.S. 1980. Blood parasites of some birds from São Paulo State, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 75:117-134.
- Bibby C.J., Burgess N.D. & Hill D.A. 1993. Bird Census Techniques. Academic Press, London. 257p.

- Braga E.M., Belo N.O. & Pinheiro R.T. 2010. Técnicas para estudo de hemoparasitos em aves, p.398-411. In: Matter S.V., Straube F.C., Accordi I.A., Piacentini V.Q. & Cândido-Jr J.F. (Eds), Ornitologia e Conservação: ciência aplicada e técnicas de pesquisa e levantamento. Technical Books, Rio de Janeiro.
- Brasil 2009. Página Oficial do Comando-Geral do Corpo dos Fuzileiros Navais. Disponível em <http://www.mar.mil.br/cgcfm/marambaia/> Acesso em 3 nov. 2009.
- Campos S.D.E. & Almosny N.R.P. 2011. A malária aviária causada por agentes do gênero *Plasmodium* pode ser um desafio durante a reabilitação. Bolm Pinguins Brasil 2:2-3.
- Chagas C.R., Guimarães L.O., Monteiro E.F., Valkiūnas G., Katayama M.V., Santos S.V., Guida F.J., Simões R.F. & Kirchgatter K. 2016. Hemosporidian parasites of free-living birds in the São Paulo Zoo, Brazil. Parasitol. Res. 115:1443-1452.
- Clark P., Boardman W.S.J. & Raidal S.R. 2009. Atlas of Clinical Avian Hematology. Wiley-Blackwell, Oxford. 198p.
- Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos 2011. Listas das Aves do Brasil. CBRO, São Paulo. 37p.
- Corradi D.A., Carvalho V.M. & Coutinho S.D. 2006. Anticorpos para *Borrelia burgdorferi* em indivíduos que trabalham com animais silvestres. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 58:966-968.
- Crizóstimo A.P. 2008. Prevalência de Hemoparasitas na Comunidade de Aves e Répteis na Área de Influência do Empreendimento Hidroagrícola do Rio Manuel Alves, Tocantins. Dissertação em Clínica Médica e Cirúrgica de animais selvagens e exóticos. Universidade Castelo Branco, Brasília, DF. 45p.
- Dubška L., Literák I., Kocianova E., Taragelova V., Sverakova V., Sychra O. & Hromadko M. 2011. Synanthropic birds influence the distribution of *Borrelia* species: analysis of *Ixodes ricinus* ticks feeding on passerine birds. Appl. Environ. Microbiol. 77:1115-1117.
- Fecchio A. 2006. Hemoparasitos de aves silvestres (Passeriformes) no cerrado do Brasil Central, DF. Dissertação em Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 33p.
- Fecchio A. 2011. Prevalência, diversidade e estrutura da comunidade de hemoparasitos (*Haemoproteus* e *Plasmodium*) em aves do Cerrado do Brasil Central. Tese de Doutorado em Biologia Animal, Universidade de Brasília, Brasília, DF. 123p.
- Fecchio A., Marini M.A. & Braga E.M. 2007. Baixa prevalência de hemoparasitos em aves silvestres no cerrado do Brasil Central. Neotrop. Biol. Conserv. 2:127-135.
- Fonseca A.H., Salles R.S. & Salles S.A.N. 2005. Borreliose de Lyme *simile*: uma doença emergente e relevante para a dermatologia no Brasil. An. Bras. Dermatol. 80:171-178.
- Frisch J.D. & Frisch C.D. 2005. Aves Brasileiras e Plantas que as Atraem. Dalgas Ecoltec, São Paulo. 480p.
- Fudge A.M. 2000. Avian complete blood count, p.9-18. In: Fudge A.M. (Ed.), Laboratory Medicine: avian and exotic pets. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Garnham P.C. 1960. Malaria parasites and other Haemosporidia. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1114p.
- Garske C.E.S. & Andrade V.A. 2004. Observações e capturas de *Leucopternis lacernulata* (Accipitridae) na Ilha da Marambaia, litoral sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Ararajuba 12:53-54.
- Gibson T.C.M. 2010. The seasonality of parasites in Illinois house sparrows (*Passer domesticus*): effect of stress on infection parameters. Eastern Illinois University Charleston, Illinois. 64p.
- Guedes D.S., Araújo F.R., Silva F.J., Rangel C.P., Barbosa Neto J.D. & Fonseca A.H. 2008. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the northeastern region of the state of Pará, Brazil. Revta Bras. Parasitol. Vet. 17:105-109.
- Hass M., Barus V., Benedikt V. & Literák I. 2011. Microfilariae in birds in the Czech Republic, including a note on adult nematodes *Eufilaria delicata* in a song thrush *Turdus philomelos*. Parasitol. Res. 109:645-655.
- Ibama 1994. Manual de Anilhamento de Aves Silvestres. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Brasília. 148p.
- Ishiguro F., Takada N., Masuzawa T. & Fukui T. 2000. Prevalence of Lyme disease *Borrelia* spp. in ticks from migratory birds on the Japanese mainland. Appl. Environ. Microbiol. 66:982-986.
- Ishikawa M.M. 2000. Pesquisa de anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* em condições experimentais e de infecções naturais em bovinos. Tese de Doutorado em Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 84p.
- Kurtenbach K., Carey D., Hoodless A.N., Nuttall P.A. & Randolph S.E. 1998. Competence of pheasants as reservoirs for Lyme disease spirochetes. J. Med. Entomol. 35:77-81.
- Laborclin 2005. Manual de Utilização do Corante Panótico Rápido. Laborclin Produtos para Laboratório Ltda, Paraná. 2p.
- Leite Y.F.C., Pinheiro R.T. & Braga E.M. 2013. Prevalência de Hemosporídios em três localidades do Estado do Tocantins, Brasil. Ornithologia 6:1-13.
- Lisbôa R.S., Guedes Júnior D.S., Silva F.J.M., Cunha N.C., Machado C.H. & Fonseca A.H. 2008. Alterações nos parâmetros hematológicos de *Gallus gallus domesticus* experimentalmente infectados por *Borrelia anserina*. Pesq. Vet. Bras. 28:527-532.
- Mantovani E., Costa I.P., Gauditano G., Bonoldi V.L.N., Higuchi M.L. & Yoshinari N.H. 2007. Description of Lyme disease-like syndrome in Brazil. Is it a new tick borne disease or Lyme disease variation? Braz. J. Med. Biol. Res. 40:443-456.
- Martins T.F., Onofrio V.C., Barros-Battesti D.M. & Labruna M.B. 2010. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: Descriptions, redescription, and identification key. Ticks Tick-Borne Dis. 1:75-99.
- Massard C.L. & Fonseca A.H. 2004. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. Hora Vet. 135:15-23.
- Mathers A., Smith R.P., Cahill B., Lubelczyk C., Elias S.P., Lacombe E., Morris S.R., Vary C.P., Parent C.E. & Rand P.W. 2011. Strain diversity of *Borrelia burgdorferi* in ticks dispersed in North America by migratory birds. J. Vector Ecol. 36:24-29.
- Murata K. 2002. Prevalence of blood parasites in Japanese wild birds. J. Vet. Med. Sci. 64:785-790.
- Olsen B., Duffy D.C., Jaenson T.G.T., Gylfe A., Bonnedahl J. & Bergstrom S. 1995. Transhemispheric exchange of Lyme disease spirochetes by seabirds. J. Clin. Microbiol. 33:3270-3274.
- Paula R.R., Pereira M.G. & Menezes L.F.T. 2009. Aporte de nutrientes e decomposição da serapilheira em três fragmentos florestais periodicamente inundados na Ilha da Marambaia, RJ. Ciênc. Florest. 19:139-148.
- Poupon M.A., Lommano E., Humair P.F., Douet V., Rais O., Schaad M., Jenni L. & Gern L. 2006. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in ticks collected from migratory birds in Switzerland. Appl. Environ. Microbiol. 72:976-979.
- Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J. & Leonard E.C. 2005. Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas. Artmed, Porto Alegre. 512p.
- Ribeiro S.F., Sebaio F., Branquinho F.C.S., Marini M.A., Vago A.R. & Braga E.M. 2005. Avian malaria in Brazilian passerine birds: parasitism detected by nested PCR using DNA from stained blood smears. Parasitology 130:261-267.
- Roos A.I. 2010. Capturando aves, p.79-106. In: Matter S.V., Straube F.C., Accordi I.A., Piacentini V.Q. & Cândido-Jr J.F. (Eds), Ornitologia e Conservação: ciência aplicada e técnicas de pesquisa e levantamento. Technical Books, Rio de Janeiro.
- Roos F.L., Belo N.O., Silveira P. & Braga E.M. 2015. Prevalence and diversity of avian malaria parasites in migratory Black Skimmers (*Rynchops niger*, Laridae, Charadriiformes) from the Brazilian Amazon Basin. Parasitol. Res. 114:3903-3911.
- Santos-Prezoto H.H., D'Agosto M. & Daemon E. 2004. Prevalência e variação dos estádios eritrocíticos do *Plasmodium (Novyella) juxtanucleare* em *Gallus gallus* sob condições naturais, no período de um ano. Parasitol. Latinoam. 59:14-20.
- Savage A.F., Robert V., Goodman S.M., Raharimanga V., Raherilalao M.J., Andrianarimisa A., Arley F. & Freiner E.C. 2009. Blood parasites in birds from Madagascar. J. Wildl. Dis. 45:907-920.

- Scott J.D., Lee M.K., Fernando K., Durden L.A., Jorgensen D.R., Mak S. & Morshed M.G. 2010. Detection of Lyme Disease spirochete, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, including three novel genotypes in ticks (Acari: Ixodidae) collected from songbirds (Passeriformes) across Canada. *J. Vector Ecol.* 35:124-139.
- Sebaio F. 2002. Hemoparasitos em aves de Mata Atlântica no estado de Minas Gerais. Dissertação em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 82p.
- Serra-Freire N.M. & Mello R.P. 2006. Entomologia e Acarologia na Medicina Veterinária. Editora L.F. Livros de Veterinária Ltda, Rio de Janeiro. 200p.
- Sick H. 1997. Ornitologia Brasileira. Nova Fronteira, Rio de Janeiro. 862p.
- Sloss M.W., Zajac A.M. & Kemp R.L. 1999. Parasitologia Clínica Veterinária. Manole, São Paulo. 198p.
- Soares C.O., Ishikawa M.M., Fonseca A.H. & Yoshinari N.H. 2000. Borrelioses, agentes e vetores. *Pesq. Vet. Bras.* 20:1-19.
- Sorci G. & Moller A.P. 1997. Comparative evidence for a positive correlation between haematozoan prevalence and mortality in waterfowl. *J. Evol. Biol.* 10:731-741.
- Takano A., Muto M., Sakata A., Ogasawara Y., Ando S., Hanaoka N., Tsurumi M., Sato F., Nakamura N., Fujita H., Watanabe H. & Kawabata H. 2009. Relapsing fever spirochete in seabird tick, Japan. *Emerg. Infect. Dis.* 15:1528-1530.
- Taragel'ová V., Koci J., Hanincová K., Kurtenbach K., Derdákóvá M., Ogden N.H., Literák I., Kocianová E. & Labuda M. 2008. Blackbirds and song thrushes constitute a key reservoir of *Borrelia garinii*, the causative agent of borreliosis in Central Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* 74:1289-1293.
- Valkiūnas G. 2005. Avian malaria parasites and other haemosporidia. CRC Press, Boca Raton. 932p.
- Valkiūnas G., Iezhova T.A., Brooks D.R., Hanelt B., Brant S.V., Sutherlin M.E. & Causey D. 2004. Additional observations on blood parasites of birds in Costa Rica. *J. Wildl. Dis.* 40:555-561.
- Valkiūnas G., Iezhova T.A., Bolshakov C.V. & Kosarev V. 2006. Blood parasites of the house sparrow *Passer domesticus* from northwestern Russia, with remarks on trends of global geographical distribution in this bird. *J. Natural Hist.* 40:1709-1718.
- Valkiūnas G., Iezhova T.A., Loiseau C., Smith T.B. & Sehgal R.N.M. 2009. New malaria parasites of the subgenus *Novyella* in African rainforest birds, with remarks on their high prevalence, classification and diagnostics. *Parasitol. Res.* 104:1061-1077.
- Vanstreels R.E.T., Silva-Filho R.P., Kolesnikovas C.K.M., Bhering R.C.C., Ruoppolo V., Epiphanyo S., Amaku M., Ferreira Junior F.C., Braga E.M. & Catão-Dias J.L. 2015. Epidemiology and pathology of avian malaria in penguins undergoing rehabilitation in Brazil. *Vet. Res.* 46:30-41.
- Viana M.S.S.B. 2010. Características hematológicas e ocorrência de hemoparasitas em aves de rapina. Dissertação em Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal. 88p.
- Vicente J.J., Rodrigues H.O., Gomes D.C. & Pinto R.M. 1997. Nematóides do Brasil. V. Nematóides de mamíferos. *Revta Bras. Zool.* 14:1-452.
- Werther K. 2008. Semiologia de animais silvestres, p.655-718. In: Feitosa F.L.F. (Ed.), *Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico*. Roca, São Paulo.
- Woodworth-Lynas C.B., Caines J.R. & Bennett G.F. 1989. Prevalence of avian haematozoa in São Paulo state, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84:515-526.
- Xerez R., Pereira L.A., Prado J.P. & Amorim M. 1995. Ilha da Marambaia (Baía de Sepetiba, RJ): II - Aspectos bionômicos e inventário da dipterofauna. *Floresta Ambient.* 2:64-67.
- Yabsley M.J., Parsons N.J., Horne E.C., Shock B.C. & Purdee M. 2012. Novel relapsing fever *Borrelia* detected in African penguins (*Spheniscus demersus*) admitted to two rehabilitation centers in South Africa. *Parasitol. Res.* 110:1125-1130.
- Yoshinari N.H., Mantovani E., Bonoldi V.L.N., Marangoni R.G. & Gauditano G. 2010. Doença de Lyme-Símile Brasileira ou Síndrome Baggio-Yoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. *Revta Assoc. Med. Bras.* 56:363-369.