

ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA EM PROVENTRÍCULO E  
VENTRÍCULO DE AVESTRUZES INFECTADOS  
EXPERIMENTALMENTE POR *Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii*

**LARA PEREIRA DE SOUZA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO- UENF  
Campos dos Goytacazes-RJ  
Agosto -2017

ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA EM PROVENTRÍCULO E  
VENTRÍCULO DE AVESTRUZES INFECTADOS  
EXPERIMENTALMENTE POR *Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii*.

**LARA PEREIRA DE SOUZA**

“Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Biociências e Biotecnologia, área de concentração Biologia Celular”.

Orientador: Prof. Clóvis de Paula Santos

Coorientador: Prof. Renato Augusto DaMatta

CAMPOS DOS GOYTACAZES/RJ

Agosto-2017

ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA EM PROVENTRÍCULO E VENTRÍCULO  
DE AVESTRUZES INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR

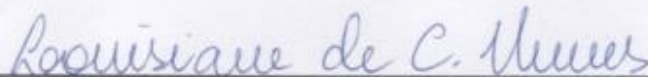
*Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii*

**LARA PEREIRA DE SOUZA**

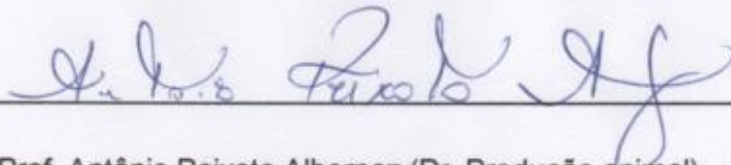
“Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Biociências e Biotecnologia, área de concentração Biologia Celular”.

APROVADA EM 08 DE AGOSTO DE 2017.

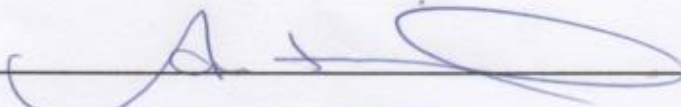
COMISSÃO EXAMINADORA:



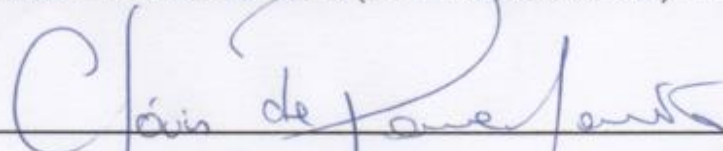
Profa. Louisiaine de Carvalho Nunes (Dra. Med. Vet. Patologia Animal) – UFES



Prof. Antônio Peixoto Albernaz (Dr. Produção animal) – UENF



Adolpho Marlon Antoniol de Moura (Dr. em Ciência Animal) - FIOCRUZ



Prof. Clóvis de Paula Santos (Dr. Méd. Vet. Parasitologia Veterinária) - UENF  
(orientador)

Ainda que eu encontre dificuldades, as tarefas serão concluídas, as mudanças serão ponto de partida para encontrar forças e buscar na simplicidade a sabedoria para não me deixar abater...

Dedico esta Tese de Doutorado à minha filha Luise, que ao chegar, fez com que minha vida tivesse novo sentido, que meu trabalho tomasse novo rumo, me ensinando que junto com as mudanças, novas buscas são parte de um processo de crescimento pessoal e profissional.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais Fernando Alves de Souza e Josiete Miranda Pereira de Souza por acreditarem em mim, por cuidarem da minha filha nos momentos em que precisei me dedicar aos estudos durante este processo de construção do conhecimento científico, sempre me incentivaram continuar a caminhada. Agradeço a minha avó Zizelda M. Pereira (*in memoriam*) por ter participado da minha vida e me dedicado amor.

Ao meu avô José Alves Pereira por sempre ter sido um grande incentivador dos meus estudos.

Ao Professor Dr. Clóvis de Paula Santos meu orientador, por ter me confiado este trabalho, me ajudado na construção do conhecimento durante a realização deste projeto, por ter me incentivado durante todo este processo, e por ter estado presente em grande parte dos experimentos.

Ao Professor Dr. Renato Augusto DaMatta, pela coorientação, por todos os ensinamentos, pelo incentivo, por me ajudar a progredir de forma correta, buscando sempre a coerência, pelo auxílio nos experimentos e na avaliação das imagens.

Ao Professor Dr. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho do Laboratório de Sanidade Animal no CCTA, por ter me acolhido em seu laboratório, e dividido seus conhecimentos em patologia.

Ao Dr. Raphael Mansur Medina, por me ajudar com as lâminas, com as imagens e em aceitar ser o revisor e suplente da banca que compõe a tese.

Aos técnicos do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) e Laboratório de Sanidade Animal (LSA), por muito terem me ajudado nos experimentos.

Aos meus colegas de trabalho e amigos da equipe que fiz durante esta caminhada, em especial à amiga Dra. Jordana Andrioli Salgado, por ter me dedicado sua amizade, por ter me ensinado muito com sua vivência em medicina veterinária, sua simplicidade e por ter contribuído com seus conhecimentos para a realização deste experimento.

Às minhas irmãs Fernanda Pereira de Souza e Thyara Pereira de Souza, por dividir muito amor pela minha filha Luise Pereira Martins e me ajudar nos cuidados com ela quando eu precisei.

Ao meu marido Alex Martins dos Santos pelo companheirismo e compreensão.

Aos meus queridos primos Roberta Pereira Rangel e Thiago Pereira Rangel, por terem participado do início desta caminhada, me acolhendo muitas vezes quando eu precisei em sua casa, compartilhando o gosto pelos estudos e a busca pela construção do conhecimento.

Às amigas de infância Monique Bessa de Oliveira, Isabella de Almeida Miranda, Renata Faria Bernardo e Janice da Silva Tebaldi, pela amizade de uma vida inteira e por todo incentivo.

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>I- Introdução</b>	<b>13</b>
<b>II- Revisão de bibliográfica</b>	<b>14</b>
2.1- Avestruz e a estrutiocultura no Brasil	14
2.2- Principais nematoides causadores de lesões em proventrículo e ventrículo de aves	17
2.2.1- <i>Cheilospirura hamulosa</i>	20
2.2.2- <i>Sicarius uncinipenis</i>	21
2.2.3- <i>Hadjelia Truncata</i>	22
2.2.4- <i>Dispharynx nasuta</i>	23
2.2.5- <i>Echinuria uncinata</i>	23
2.2.6- Gênero <i>Libyostrongylus</i>	24
<b>III- Objetivos</b>	<b>25</b>
<b>IV- Material e métodos</b>	<b>26</b>
4.1- Obtenção de larvas infectantes	26
4.2- Infecção experimental	26
4.3- Análise histopatológica	27
4.4- Especiação de nematoides adultos	27
<b>V- Resultados</b>	<b>28</b>
5.1- Análise anatomopatológica de proventrículo e ventrículo de avestruzes infectados por <i>Libyostrongylus spp.</i>	28
5.2- Quantificação de nematoides no proventrículo e ventrículo de avestruz com distintos níveis de infecção.	33
<b>VI- Discussão</b>	<b>34</b>
<b>VII- Conclusão</b>	<b>38</b>
<b>VIII- Referências bibliográficas</b>	<b>38</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1-</b> Esquema do proventrículo e ventrículo de avestruzes. Proventrículo (Pr) e ventrículo (V) de avestruzes, região da área glandular (A), duodeno (B) esôfago (C). Fonte: Fowler (1991).	<b>17</b>
<b>Figura 2-</b> Fotomicrografia do proventrículo de avestruz infectados experimentalmente por <i>Libyostrongylus dentatus</i> e <i>L. douglassii</i> . (A) Região anterior do proventrículo com área muscular (**) e tecido conjuntivo (seta dupla). Coloração de Tricrômio de Masson. (B-C) Região glandular do proventrículo. (B) Adenômeros tubuloalveolares (seta dupla), tecido estromal (*) com fibras de tecido conjuntivo ricos em vasos sanguíneos. Coloração de Tricrômio de Masson. (C) Adenômeros (seta dupla) ao redor de tecidos de conexão entre o lóbulos (*); corados com Alcian Blue- PAS. Barra=100µ.	<b>29</b>
<b>Figura 3-</b> Fotomicrografia de proventrículo glandular com aspecto normal de avestruz infectado experimentalmente com 1000 larvas mistas de <i>Libyostrongylus dentatus</i> e <i>L. douglassii</i> . (A) Região glandular normal (seta), transição entre região glandular e camada coilínea (seta fina dupla), início de secreção e deposição de células para formação de camada coilínea (seta dupla grossa). Coloração hematoxilina e eosina. (B) Ducto central com epitélio normal (seta), ausência de nematoides. Coloração de hematoxilina e eosina. (C) Região glandular (seta) secreção na camada coilínea (seta dupla), mucinas ácidas em tons de azul. Coloração de Alcian Blue-PAS. (D) Lúmen do ducto normal, ausência de nematoides (seta). Coloração de Alcian Blue-PAS. Barra = 100 µm.	<b>30</b>
<b>Figura 4-</b> . Fotomicrografia de adenômeros da região glandular de proventrículo de avestruz do grupo não infectado (controle). Adenômeros apresentando ductos secretores sem alterações (asteriscos); corados com Alcian Blue- PAS. Barra = 200 µm.	<b>31</b>

**Figura 5-** Fotomicrografia de camada coilínea do estômago de avestruz infectadas experimentalmente com *Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii*. (A) Camada coilínea da região anterior do proventrículo evidenciando cor azul em maior quantidade (seta) revelando secreções ácidas. (B) Camada coilínea da região posterior do proventrículo, na base das glândulas observa-se secreção ácida marcada em azul (seta dupla). A cor rosa se mistura à cor azul indicando neutralização do pH desta camada (seta). (C) Camada coilínea da região anterior do ventrículo, composição ácida na base indicada pela coloração azul (seta dupla), cor rosa indicando a neutralização da composição desta camada (seta). Coloração de Alcian Blue-PAS. Barra = 100 µm.

## ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
<b>Tabela 1-</b> Principais nematoides que infecatam proventrículo(PV) e ventrículo (V) de aves e lesões associadas.	19
<b>Tabela 2 –</b> Número de <i>Libyostrongylus</i> em cinco amostras teciduais de três diferentes regiões do proventrículo e ventrículo de avestruzes experimentalmente infectados. Animais infectados com 1.000 (1, 2, 3) e 10.000 (4, 5, 6) larvas infectantes.	34

## RESUMO

A avicultura no Brasil teve início em 1995 atingindo pico de produção, posterior declínio e atualmente se reestruturou no mercado nacional. Com isso, existe grande preocupação com as infecções parasitárias que podem impactar diretamente a produção dessas aves. Neste aspecto, nematoides do gênero *Libyostrongylus* merecem atenção, por serem patógenos gastrintestinais de grande importância veterinária. Pouco se conhece sobre alterações anatomopatológicas causadas por nematoides desse gênero nos tecidos infectados. Portanto, este estudo objetivou avaliar possíveis modificações anatomopatológicas em proventrículo e ventrículo de aves infectadas experimentalmente por *Libyostrongylus douglassii* e *L. dentatus*. Para infecção experimental, 1.000 e 10.000 larvas infectantes foram administradas oralmente a quatro animais em dois grupos distintos e outras quatro aves serviram de controle. Para análise histopatológica, proventrículo e ventrículo foram fixados em formalina neutra tamponada a 10% e corados com Hematoxilina e Eosina, Alcian Blue/PAS e Tricrômio de Masson. Proventrículos e ventrículos de aves infectadas não apresentam lesões macroscópicas e microscópicas. Tecidos corados com Tricrômio de Masson e Alcian Blue PAS não apresentaram modificações na arquitetura dos tecidos. A camada queratinóide (coílina) corada com Alcian Blue/PAS, demonstrou diferenças no pH indicando que o início do proventrículo é mais ácido próximo à constrição que divide os dois órgãos é mais neutro. Os nematoides foram observados em maior número na região do proventrículo, com preferência pela região glandular. A quantidade de larvas infectantes utilizada não foi suficiente para causar alterações anatomopatológicas, indicando que na infecção natural alterações acontecem com número maior de larvas. A coloração com Alcian Blue/PAS mostrou que o pH do revestimento da mucosa é mais ácido no proventrículo e neutro no ventrículo. O proventrículo foi o órgão de preferência durante o parasitismo. Esses dados são úteis para conhecer a biologia desses parasitas no local do tecido infectado.

## ABSTRACT

In Brazil, the structure began in 1995, reaching a peak of production and subsequently a strong decline, and is currently being restructured in the national market. With this, there is great concern with parasitic infections that can directly impact the production of these birds. In this aspect, nematodes of the genus *Libyostongylus* deserve attention because they are gastrointestinal pathogens of great veterinary importance. This study evaluated anatomopathological changes in ostriches infected experimentally by *Libyostongylus douglassii* and *L. dentatus*. For infection, 1,000 and 10,000 infective larvae (L3) were administered orally to four animals / group and another four served as controls. For histopathological analysis of the proventriculus and ventriculus, the tissues were fixed in neutral buffered formalin at 10% and then stained with Hematoxylin, Eosin, Alcian Blue / PAS and Masson's Trichrome. Proventriculus and ventriculus of infected ostriches do not present macroscopic lesions or microscopic lesions. Tissue stained with Masson's Trichrome and Alcian Blue PAS, did not present modifications in the architecture of the tissues. The keratinous layer (koilin) stained with Alcian Blue / PAS, showed differences in Ph, at the beginning of the proventriculus is more acidic and close to the constriction that divides the two regions neutralizes. The nematodes were observed in greater numbers in the region of the proventriculus preferring the glandular region. The number of infective larvae used was not sufficient to cause anatomopathological changes, indicating that in natural infection changes occur with a larger number of larvae. The special staining determined the Ph of the lining of the mucosa showing more acidic activity in the proventriculus and neutral in the ventricle. The proventriculus was the organ of preference during parasitism. These data are useful to knowledge the biology of these parasites in the infected tissue site.

## I-Introdução

Populações de aves silvestres de vida livre são de alto valor e importância ecológica dado o papel que exercem para o meio ambiente, quer seja, para manutenção no equilíbrio de populações de insetos (Van Bael et al., 2003), roedores, serpentes (Cabral et al., 2006), consumo de carcaças de animais (Silveira, 2011) ou polinização de flores e dispersão de sementes (Bleher e Bohning-Gaese, 2001).

Aves silvestres podem também ter potencial para exploração comercial visando em especial à produção de carne. Entre estas temos as avestruzes que foram domesticadas em meados do século XX na África do Sul. No Brasil a estrutiocultura, criação de avestruz, teve início em 1995 atingindo um pico de produção após 10 anos com um plantel estimado 430 mil e forte declínio nos anos seguintes.

As doenças parasitárias podem interferir na produtividade da criação de avestruzes. Neste aspecto, nematoides do gênero *Libyostrongylus* merecem atenção, por serem patógenos gastrintestinais de grande importância veterinária (Santos et al., 2010). *Libyostrongylus* spp. habitam proventrículo e ventrículo de avestruzes (Hoberg et al., 1995; Ederli et al., 2008a; Ederli e Oliveira, 2009) e por serem hematófagos, podem causar: anemia, perda de peso, anorexia, proventriculites e mortalidade em aves jovens (Reinecke, 1983) e ocasionalmente em adultos (Sotiraki et al., 2001). Outros estudos sobre a localização destes nematoides no proventrículo e ventrículo de avestruzes naturalmente infectadas demonstram distribuição heterogênea em infecção mista, estando *L. dentatus* inserido na camada queratinóide (coilínea) e *L. douglassii* localizado sob essa camada (Ederli et al., 2008b; Ederli e Oliveira, 2009). Assim, é importante para o entendimento da biologia do *Libyostrongylus* determinar mais precisamente a distribuição destas espécies ao longo destes órgãos em avestruzes sob infecção experimental com baixa e alta infecção.

Sabe-se que necrose grave subaguda e ulcera gástrica no proventrículo associadas a infiltrado de células inflamatórias podem ocorrer nas infecções por *L. douglassii* (Bastianello et al., 2005). Este infiltrado em infecções mistas por *L.*

*dentatus* e *L. douglassii* no proventrículo de aves sem sinais clínicos de doença foi caracterizado como sendo do tipo heterofílico e nenhum sinal macroscópico de necrose foi detectado (Andrade et al., 2011a). Provavelmente lesões macroscópicas estejam relacionadas a aves com taxas mais altas de infecção. Neste estudo, correlacionamos o nível de infecção (alto ou baixo) em avestruzes natural e experimentalmente parasitadas por *L. dentatus* e *L. douglassii* com a presença de lesões macro e microscópicas, caracterização do tipo de leucócito presente nos possíveis infiltrados inflamatórios das diferentes regiões dos proventrículos e ventrículos, modificações na arquitetura do tecido, modificações no pH da composição da camada coilínea ao longo do órgão bem como o quantitativo de parasitos por região analisada.

## **II-Revisão Bibliográfica**

### **2.1 – Avestruz e a estrutuicultura no Brasil**

O avestruz (*Struthio camelus*) pertence ao grupo das ratitas, aves incapazes de voar, possuem pernas desenvolvidas e adaptadas para correr, apresenta dois dedos nos pés e resquícios de dígitos nas asas. Possui um esterno diferente das aves voadoras, com ausência de quilha sobre o esterno e conseqüentemente sua musculatura do peito não é desenvolvida para vôo, sendo o esterno extremamente forte o protegendo como escudo (Carrer e Kornfeld, 1999). Atualmente sua distribuição natural estende-se ao Leste e Sul da África (Huchzermeyer, 2005).

Os avestruzes são oriundos das savanas africanas, vivem em zonas semidesérticas, medem de 2,0 m a 2,7 m de altura, pesam de 100 a 160 kg, chegam a viver até aos 70 anos (Barbosa et al., 2007) e possuem uma vida reprodutiva de 35 a 40 anos (Carrer e Kornfeld, 1999; Silva e Guimarães, 2008); as fêmeas põem de 40 a 60 ovos por ano (Barbosa et al., 2007) e a vida reprodutiva inicia-se em média a partir de 24 meses para fêmeas e 30 meses para os machos (Carrer e Kornfeld, 1999; Silva e Guimarães, 2008).

A importação das primeiras aves para o Brasil ocorreu em 1995, com 12 filhotes de avestruzes originários da Itália. Em 1996 foram realizadas novas

importações de filhotes da Namíbia e dos Estados Unidos para atender a demanda interna por animais (ACAB, 2006, citado por Barbosa et al., 2007).

Logo no início da formação do plantel, a estrutuicultura brasileira passou por dificuldades com suspeita que as aves pudessem estar contaminadas pelo vírus Newcastle que acomete aves domésticas atacando o sistema nervoso e os órgãos respiratórios e digestivos. Essa suspeita causou o abate dos rebanhos em vários estados brasileiros, em proteção à indústria avícola nacional (Souza, 2004, p. 18).

Outro problema enfrentado frente as dificuldades no auge da produção e abate, foi o grupo Avestruz Master que teve atuação no mercado, principalmente, entre os anos de 2003 e 2005. O grupo vendia filhotes de avestruzes aos investidores com a promessa de criar e engordar os animais, abatê-los e realizar a devida comercialização dos coprodutos ou de aves vivas. Em 2005, a empresa interrompeu suas atividades, deixando os investidores sem receber lucros e os valores aplicados, tendo a Justiça decretado a falência do grupo no ano seguinte (Fato típico, 2010).

Com o fim da Avestruz Master ocorreu o excesso de oferta de avestruzes vivos no cenário nacional, causando queda de preços, isto fez com que os produtores pouco estruturados ou que foram induzidos pela alta lucratividade, sendo a grande maioria, deixassem a atividade. Assim alguns produtores que reconheciam o caráter de maturação da atividade a longo prazo, permaneceram na atividade e foram favorecidos pela crise, passando por um momento de reestruturação (Rodrigues e Macedo, 2014).

Em 2009/2010 a produção chegou ao menor nível e existia uma perspectiva de crescimento para os próximos anos, almejando alcançar as licenças necessárias para exportar a carne de avestruz (Avicultura Industrial, 2011).

A produção de avestruz agrega produtos e subprodutos com alto grau de aproveitamento incluindo: as plumas - na confecção de adornos, espanadores domésticos, indústria eletrônica e de computadores por impedir o acúmulo de eletricidade estática; a carne - por possuir baixos teores de colesterol e gorduras; o couro - por resistência, durabilidade, maciez e textura diferenciada; o óleo - extraído da gordura do avestruz, que possui a capacidade de aumentar a imunidade do organismo humano e propriedades anti-inflamatórias e também utilizada na indústria



cosmética; o ovo - para a comercialização de ovos inférteis e aproveitamento da casca espessa para a confecção de artesanatos (Barbosa et al., 2007). Podendo ainda agregar valores a outros subprodutos como: pestanas – na fabricação de pincéis e cílios postiços; córneas – utilizadas em pesquisas para transplante em seres humanos; ossos e tendões – utilizados na fabricação de rações animais (Barbosa et al., 2007). Os produtores encontram motivos para continuar investido na criação pois, em 2011, a indústria Amazon Struthio de Mirante da Serra - RO, teve aprovado o seu projeto de estabelecimento para produção de óleo natural de avestruz, banha natural de avestruz e farinha de torresmo de avestruz, pelo Ministério da Agricultura em Brasília. Após tramitação de processo junto ao ministério da agricultura, através do departamento de inspeção de produtos de origem animal, pela divisão de inspeção de carnes, equídeos e avestruzes (Avicultura Industrial, 2011).

Em 2013 surge a empresa Maxtruz, obstinados pela ideia de fazer da carne de avestruz a melhor e mais saudável carne consumida no Brasil, algo que vem se concretizando em diversos estados da federação, a empresa se mantém firme no mercado (Maxtruz, 2017). Fundada em maio de 1995, com o nome Piveta Assunção Agricultura e Empreendimentos Ltda, por Manoel Piveta Assunção, que assumiu o desafio do pioneirismo na criação de avestruzes no território brasileiro, se mantém firme no mercado (Piveta, 2017). A empresa Betel Avestruzes tem suas atividades voltadas para a criação de avestruzes, nas fases de incubação de ovos, cria, recria, reprodução de aves próprias, hospedagem de aves e incubação de ovos de terceiros, exercendo esta atividade desde 2001, ainda se mantendo no mercado (Betel Avestruz, 2017)

Quanto a projeção internacional, avestruzes possuem plumas que são excelentes isolantes, tanto em alta quanto em baixas temperaturas (Seolin, 2004; Rodrigues e Macedo, 2014). Possibilitando a criação em diversos países como a África do Sul, Estados Unidos, Austrália, Israel, Brasil e alguns países da Europa, como a Espanha, Itália e França (Barbosa et al., 2007). A África do Sul, possui o maior plantel do mundo (Word Ostrich Association, 2013).

## 2.2 - Principais nematoides causadores de lesões em proventrículo e ventrículo de aves

O trato gastrintestinal das aves sofreu muitas modificações para se tornar estrutura única anatômica, e se adéqua aos requisitos para voo, possui bico leve, ventrículo muscular que substitui as estruturas mais pesadas no centro da gravidade da ave dentro do abdome (Gelis et al., 2005). As ratitas, no qual incluem-se avestruzes, emas, emus, casuares e kiwis, não possuem papo; o proventrículo é distensível e tem a função de estocar os alimentos (Fig. 1). Em muitas aves o proventrículo é totalmente glandular e libera enzimas digestivas; nos avestruzes o proventrículo possui uma área restrita para estas glândulas secretoras (Stewart et al., 1994).

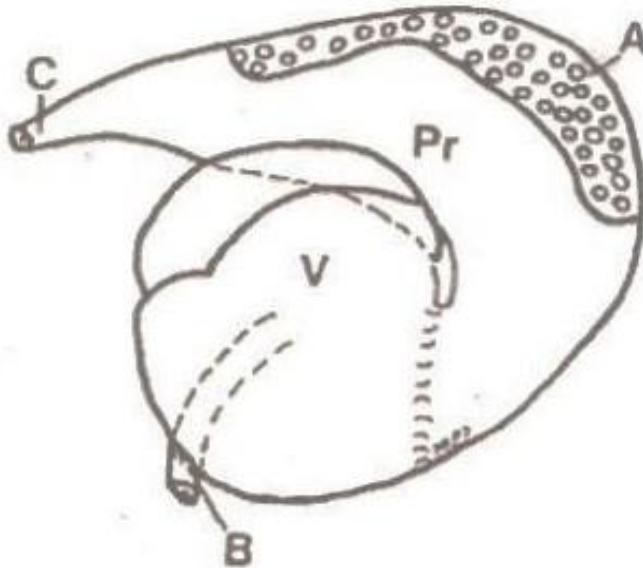


Figura 1. Esquema do proventrículo e ventrículo de avestruzes. Proventrículo (Pr) e ventrículo (V) de avestruzes, região da área glandular (A), duodeno (B) esôfago (C). Fonte: Fowler (1991).

O trato gastrintestinal de aves é susceptível a uma gama de doenças causadas por parasitas nematoides, que podem provocar a morte em determinadas infecções, afetando o bem estar animal e ocasionando sérios prejuízos às

produções. Estes parasitas podem afetar o estômago das aves levando a sérias consequências como: impactação proventricular e infecções secundárias, que podem levar o animal a sofrer injúrias neste órgão. A biologia dos ciclos de nematoides em aves selvagens, de vida livre, com potencial de caça, são importantes para compreensão e tratamento destas doenças em aves de produção. Sendo assim, seguem os principais nematoides descritos em proventrículos e ventrículos que podem causar danos à saúde e bem estar de aves. Estes dados foram sintetizados na tabela 1.

**Tabela 1. Principais nematoides que infectam proventrículo (PV) e ventrículo (V) de aves e lesões associadas.**

Nematoide	Hospedeiro	Orgão	Anatomopatologia e sinais clínicos
<i>Cheilospirura hamulosa</i>	Galinhas, perus e faisões.	V	Lesões microscópicas: infiltração granulocítica – granulomas de células epitelióides, necrose na camada muscular – Infiltrados mononucleares - áreas ulcerativas – espessamento da cutícula.
<i>Sicarius uncinipenes</i>	Emas	V e Transição entre PV e V	Lesões macroscópicas: ulcerações da camada coilínea do ventrículo – sulfusões na mucosa. Lesões microscópicas demonstram: infiltrados inflamatórios – presença de histiócitos – linfócitos – heterófilos. Sinais clínicos: estágio avançado de caquexia – atrofia muscular generalizada.
<i>Hadjelia truncata</i>	Várias espécies	V	Lesões microscópica: necrose – infiltrados inflamatórios: Linfócitos, macrófagos, heterófilos e eosinófilos. Sinais clínicos: perda de peso – diarreia – fraqueza
<i>Dispharynx nasuta</i>	Galiformes, Columbiformes, Psitaciformes, Falconiformes, Caradriiformes, Passeriformes	PV	Lesões macroscópica: atrofia da musculatura peitoral – distensão do proventrículo – espessamento da parede do proventrículo. Lesões microscópica: hiperplasia da mucosa com proliferação de papilas – células mononucleares – proventriculite proliferativa.
<i>Echinuria uncinata</i>	Anatidae	PV	Lesões macroscópicas: nódulos no intestino e proventrículo – inflamação moderada- parede do proventrículo espessa. Lesões microscópicas: modificações das glândulas do proventrículo - proliferação de papilas na mucosa – ulceração multifocal, inflamação granulocítica – inflamação subaguda. Sinais clínicos: emagrecimento, anemia.
<i>Libyostrongylus douglassii</i> <i>Libyostrongylus dentatus</i>	Avestruz	PV e V	Análise macroscópicas: hiperemia moderada – lesões erosivas/ulcerativas. Análises microscópicas: infiltrados inflamatórios – granulócitos – células mononucleares – heterófilos-lesões erosivas/ulcerativas – proventriculite. Sinais clínicos: anemia, perda de peso, anorexia e morte por impactação proventricular

Adaptada de : Menezes et al. (2003), Brener et al. (2006), Ederii et al. (2014), Appleby et al. (1995), Oryan et al. (2014), Senties – Cué et al. (2011), Phalen (2005), Andrade et al. (2011b), Huchzermeyer (2005), Bartmann e Amato (2009), Churria et al. (2011), Silveira et al. (2006), Work et al. (2004).

### 2.2.1 – *Cheilospirura hamulosa*

*Cheilospirura hamulosa* é um parasito de grande importância veterinária (Alicata, 1947). Menezes et al. (2003) relataram lesões microscópicas na mucosa do ventrículo associadas a presença de *C. hamulosa* no Brasil em faisões *Phasianus colchicus* (L.,1758) e galinhas *G. gallus domesticus* (L.,1758), e também intensidade de infecção e prevalência por *C. hamulosa* em aves criadas no quintal de casas no estado do Rio de Janeiro. Espécies de *C. hamulosa* foram encontradas dentro da cutícula do ventrículo provocando lesões na parede desse órgão, principalmente na região saco cego caudal. Lesões microscópicas no ventrículo de faisões parasitados foram ulcerativas e com espaçamento da mucosa nos sítios onde nematoides estavam aderidos. Enquanto que na moela de galinhas, nódulos amarelados isolados e de leve consistência, com 1,5 a 3,6 cm de diâmetros foram localizados no músculo caudoventral. A mucosa do ventrículo estava espessada, ulcerada e hemorrágica nos sítios de localização dos nematoides.

Faisões parasitados apresentaram lesões microscópicas com ventriculites mononucleares difusas, com discreta infiltração granulocítica, granulomas de células epitelióides ao redor de cortes de nematoides na serosa e necrose na camada muscular. Também foi relatado uma barreira de células gigantes multinucleadas ao redor dos sítios de necrose. As moela de galinha parasitada apresentaram um processo inflamatório difuso crônico na mucosa caracterizado por um infiltrado mononuclear, com algumas áreas ulcerativas. O processo inflamatório se estende na mucosa, muscular e serosa, concomitante com infiltrado eosinofílico e múltiplos granulomas ao redor, animais com baixa carga parasitária, que não apresentaram sinais clínicos, porém, com lesões severas como: hemorragias, úlceras, espessamento da cutícula, granulomas e nódulos amarelados.

Relatos demonstraram que cheilosperurose, apesar dos animais não apresentarem sinais clínicos, é possível observar graves lesões, micro e macroscopicamente, que podem acarretar peritonite por perfurações no ventrículo (moela), levando o animal à morte e/ou a rejeição das vísceras com impactos econômicos.

Brener (2006) relatou o primeiro caso de cheilosperurose em perus no Brasil e descreveu lesões severas no ventrículo destas aves. Embora as aves não

apresentassem sinais clínicos, as lesões foram caracterizadas por intensos processos inflamatórios e difusos, com infiltrados mistos de granulócitos, estendendo-se à mucosa e camadas musculares, perfurações com destruição das camadas musculares.

### **2.2.2 – *Sicarius uncinipenis***

*Sicarius uncinipenis* (Nematoda, Habronematidae) é o nematoide mais comum das emas (*Rhea*) e está localizado na submucosa do ventrículo (Freitas e Lent, 1947; Zettermann et al., 2005). Em pesquisa de helmintos em emas de vida livre e emas de cativeiro, Zettermann (2005) descreveu pelo menos sete espécies de nematoides, sendo *Sicarius uncinipenis* com mais prevalência em ventrículos de emas, provocando alta mortalidade em aves jovens mantidas em cativeiro. Um estudo feito por Avelar et al. (2014) demonstrou características histopatológicas e parasitológicas em duas fêmeas de *Rhea americana* infectadas por *S. uncinipenis* (causando ventriculite parasitária) e *Delectocephalus cesarpintoii* (parasita de intestino grosso) no estado de Minas Gerais, Brasil.

A camada coilínea no ventrículo ulcerada é facilmente destacável, bem como, numerosos parasitos estavam inseridos entre a camada coilínea e a camada submucosa. A superfície da mucosa do ventrículo exibia muitas sufusões e parasitos foram observados na transição entre o proventrículo e ventrículo e na porção inicial do duodeno. Cortes histológicos no ventrículo demonstram destacamento da camada coilínea e suave infiltrado inflamatório de linfócitos, histócitos e heterófilos na submucosa. Vários cortes transversais e longitudinais de parasitas adultos inseridos na camada coilínea e mucosa foram observados. A migração do parasita não pode ser excluída no post-mortem (Avelar et al., 2014).

Em análise macroscópica do ventrículo de *Rhea americana*, naturalmente infectadas por *S. uncinipenis* Ederli et al. (2014) descreveram macrolesões e presença de úlceras na superfície, na camada coilínea do ventrículo em áreas com grande número de parasitos. Lesões foram observadas na superfície interna, e na mucosa pequenos pontos hemorrágicos que correspondem ao sitio de localização dos nematoides encontrados. Descreveram ainda sinais clínicos de animal apresentando avançado estágio de caquexia, com atrofia muscular generalizada que

foi confirmado por ausência de gordura abdominal, impactação do conteúdo do ventrículo e nematoides penetrando nas glândulas do proventrículo.

### **2.2.3 –*Hadjelia truncata***

*Hadjelia truncata* é um nematoide encontrado no sistema digestivo de várias espécies de aves (Appleby et al., 1995). Em primeiro relato de achados de *Hadjelia truncata* em ventrículos de pombos no Iran, Razmi et al. (2007), descreveram animais de um criadouro de pombos que foram encaminhados para hospital veterinário apresentando perda de peso, diarreia e fraqueza. Em análise post-mortem, revelaram distorção no ventrículo de todas as carcaças, demonstrando ser muito patogênica a infestação por *Hadjelia truncata*, demonstrando em cortes histológicos: necrose, infiltrados de células inflamatórias na lâmina própria e camada muscular.

Senties-Cué et al. (2011) relataram severa ventriculite parasítica em pombos (*Columbia livia*) no sul e centro da Califórnia. Análises histológicas de secções de ventrículo que revelaram camada coilínea com coloração desigual e numerosos espaços claros. Em algumas das secções foi observado número moderado de agregados bacterianos dentro da camada coilínea. Entre as secções da camada coilínea e epitélio glandular havia presença desse nematoide. O epitélio do ventrículo demonstrou extensa hiperplasia glandular, com acúmulo de material protéico e eosinofílico homogêneas nas glândulas epiteliais dilatadas. Nas lâminas havia infiltrações linfocíticas e heterofílicas moderadas, com predominantes infiltrações eosinofílicas.

Em estudo realizado na província de Fars no sul do Irã, Oryan et al. (2014) investigaram alterações histopatológicas no trato superior de pombos infectados com *Hadjelia truncata*. As aves foram avaliadas post-mortem e apresentaram sinais clínicos como: diarreia crônica, fraqueza e perda de peso. Os nematoides foram identificados de acordo com a morfologia previamente descrita para o gênero *Hadjelia* em aves (Tadros e Iskander, 1975; Appleby et al., 1995). Os cortes histológicos demonstraram necrose em células da mucosa próximo ao nematoide, infiltrado inflamatório linfocitário, macrófagos, heterófilos e eosinófilos na lâmina própria e na muscular da mucosa.

#### **2.2.4 – *Dispharynx nasuta***

Segundo Bartmann e Amato (2009) *Dispharynx nasuta* é um nematoide parasito das glândulas do proventrículo das aves, onde a região anterior fica ancorada na glândula e a posterior livre no lúmen do órgão. O nematoide tem ampla distribuição geográfica. Foi registrado no Brasil em aves de importância econômica (Galliformes) devido às lesões que provoca no órgão, com descrições em Columbiformes, Strigiformes, Falconiformes, Charadriiformes e Passeriformes. *Dispharynx nasuta* tem como hospedeiros intermediários isópodos terrestres, ortópteros, coleópteros e diplópodos (Goble e Kunz, 1945).

Churria et al. (2011) relataram lesões no proventrículo de três psittaciformes causadas por *D. nasuta*. Análises macroscópicas revelaram atrofia da musculatura peitoral, distensão do proventrículo e todas as aves apresentaram o espessamento da parede do proventrículo com conteúdo viscoso e esbranquiçado cobrindo a superfície da mucosa. Em análise microscópicas, os proventrículo das aves apresentaram hiperplasia da mucosa com proliferação de papilas. Uma resposta inflamatória mínima de células mononucleares foi encontrada na lâmina própria. Algumas glândulas do proventrículo estavam aparentemente distendidas. Um exudato eosinofílico foi notado no lúmen glandular. A histopatologia forneceu o diagnóstico de proventriculite proliferativa causada pela infecção por *D. nasuta*.

#### **2.2.5 - *Echinuria uncinata***

*Echinuria uncinata* (Rudolphi, 1819) Soloviev, 1912, é um parasito cosmopolita de aves aquáticas da família Anatidae (Silveira et al., 2006), podendo ser extremamente patogênico (Austin e Welch, 1972). Em relato de *E. uncinata* em anatídeos na América do Sul, Silveira et al. (2006) descreveram a formação de granulomas na base do esôfago, na junção com o proventrículo, de onde os nematoides foram retirados.

Work et al. (2004) descreveram a mortalidade de *Anas laysanensis* por emagrecimento e complicações por *Echinuria uncinata*, nas quais aves emagrecidas apresentaram nas amostras de sangue anemia, heterofilia e eosinofilia. As análises de proventrículos mostraram danos na parede desse órgão como espessamento, muco abundante e nódulos no trato gastrintestinal; a histopatologia revelou a



presença de granulomas associados com nematoides no proventrículo e intestino delgado. A arquitetura do proventrículo estava desfeita, a superfície das glândulas da mucosa foi coberta por grossa camada de material mucoide, com proliferação de papilas na mucosa e ulceração multifocal.

Alguns nematoides continham ovos embrionados e foram vistos no lúmen da submucosa das glândulas do proventrículo, lâmina própria e parede do músculo. Inflamação granulocítica ao redor de nematoides dentro da parede do músculo do proventrículo e também focos de inflamação subaguda com presença de células gigantes na mucosa. Foram observados nódulos no intestino e proventrículo, consistindo de debris de núcleo necrótico e infiltrados inflamatórios acompanhados de grumos de bactérias. Uma inflamação linfocítica moderada estava presente na lâmina própria das glândulas da submucosa do proventrículo.

#### **2.2.6 – Gênero *Libyostongylus***

Os nematoides do gênero *Libyostongylus*, pertencem à família Trichostrongylidae que são importantes patógenos de aves, sendo atualmente o gênero mais estudado. Esses parasitos causam a doença conhecida como estômago podre ou “vrootmag”. Infecções por esses nematoides hematófagos podem causar anemia, perda de peso, anorexia, proventriculites (Reinecke, 1983). Segundo Huchezermeyer et al. (1993), os sintomas podem ser comparados aos da megabacteriose que é uma doença ocasionada por um fungo ascomiceto anamórfico chamado de *Macrorhabdus ornithogaster* que coloniza a junção (istmo) entre o proventrículo e ventrículo de aves (Phalen, 2005).

Três espécies de *Libyostongylus* foram descritas: *Libyostongylus douglassii* (Cobbold, 1882), *L. magnus* (Gilbert, 1937), e *L. dentatus* (Hoberg et al., 1995). *L. douglassii* tem sido descrito em aves na África (Cobbold, 1882), Austrália (Barton e Seward, 1993), Europa (Ponce Gordo et al., 2002), no Sul (Bonadiman et al., 2006; Ederli et al., 2008) e no Norte (Hoberg et al., 1995) da América e recentemente na Colômbia (González-Mariño et al., 2017). *L. dentatus* foi descrito apenas no continente Americano (Hoberg et al., 1995; Bonadiman et al., 2006; Ederli et al., 2008a; Ederli et al., 2008b; Ederli e Oliveira, 2009; Andrade et al., 2011a, Lelis et al., 2014) e *L. magnus* apenas na África (Hoberg et al., 1995). O diagnóstico desta

parasitose inclui, além das manifestações clínicas previamente descritas, a análise de nematoide adulto obtido via necropsia e/ou diferenciação entre as espécies de *Libyostrongylus* a partir da larva infectante após cultura fecal (Ederli, 2008 a).

Ederli e Oliveira (2009) descreveram diferentes localizações de *Libyostrongylus* spp. nas infecções mistas com *L. douglassii* achado sob a camada coilínea e *L. dentatus* inserido nessa camada.

Os sinais clínicos causados por *Libyostrongylus* spp. são anorexia, perda de peso, e anemia (Huchzermeyer, 2005). Segundo Andrade et al. (2011b) análises histopatológicas de proventrículos com infecção mista demonstraram infiltrados de células inflamatórias próximos aos nematoides, compostos principalmente de granulócitos, alguns degranulados e poucas células mononucleares; os grânulos dos granulócitos são peroxidase-negativa indicando-os como heterófilos (Bonadiman et al., 2009). Em tecidos corados com hematoxilina e eosina, infiltrados moderados de células inflamatórias estavam associados com os nematoides. A amplificação dos infiltrados inflamatórios, revelam células com núcleo bilobulado ou trilobulado com proeminentes grânulos eosinofílicos. Células degranuladas e poucos leucócitos foram observados. Os dados relatados neste trabalho relacionaram resposta inflamatória heterofílica induzida pela infecção mista por *Libyostrongylus*, sugerindo que infiltrado heterofílico faz parte da resposta imunológica das aves contra esse nematoide. Também foi relatada extensa necrose e proventriculite ao infiltrado inflamatório heterofílico em animais altamente infectados.

### **III- Objetivos**

#### **3.1 - Geral**

- Avaliar modificações anatomopatológicas em proventrículo e ventrículo de avestruzes sob alta e baixa infecção por *Libyostrongylus* spp., na infecção experimental.

#### **3.2 - Específicos**

- Analisar a presença de lesões microscópicas e a caracterização do tipo de leucócito presente nos possíveis infiltrados inflamatórios das diferentes regiões dos proventrículos e ventrículos de avestruzes infectados experimentalmente por *L. dentatus* e *L. douglassii*.

- Analisar modificações no pH da camada coilínea ao longo dos proventrículos e ventrículos de avestruzes.
- Verificar a distribuição e localização de *Libyostrongylus* nas regiões anterior, média e distal do proventrículo e ventrículo de avestruzes, sob alta ou baixa infecção experimental.

#### **IV - Material e Métodos**

Este trabalho está em conformidade com os princípios éticos para experimentação animal adotados pela Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório/ Colégio Brasileiro de Experimentação Animal lei federal nº 11.794/2008 e foi aprovado e autorizado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UENF (CEUA/UENF), protocolo número 247.

##### **4.1 – Obtenção de larvas infectantes**

As larvas infectantes para infecção experimental dos animais foram obtidas por coproculturas de fezes contaminadas com infecção mista de *Libyostrongylus*. Quatro gramas de amostras fecais, por coprocultura, foram colocadas em copos plásticos com capacidade para 60 ml previamente identificados. Os copos plásticos foram incubados durante sete dias a temperatura ambiente (23 - 27°C) em vasilhames de plástico contendo 100 ml de água destilada e cobertas com filme plástico para prevenir a perda de umidade. Após a incubação, cada copo plástico foi preenchido com água destilada e em seguida colocado na borda do copo uma placa de Petri e logo após feita a inversão do copo. Na placa de Petri foi adicionado 10 ml de água destilada. Após 4 h foi feita a recuperação das L<sub>3</sub> de *Libyostrongylus* que foram acondicionadas em garrafas de culturas e mantidas sob-refrigeração até a momento da infecção experimental.

##### **4.2 - Infecção experimental**

Doze avestruzes recém-nascidos compradas em uma propriedade na cidade de Sete Lagoas em Minas Gerais, foram mantidas em baias convencionais (3,5 x 1,5 m) a 25°C na “Unidade de Experimentação para Animais de Médio Porte” localizado

no hospital veterinário da UENF. Os animais foram alimentados com alfafa e dieta comercial disponível para esta espécie.

Após 28 dias de aclimatação, as aves foram divididas em grupos experimentais para a realização da infecção experimental: grupo (4 animais) infectado com 1.000 larvas mista (30% *L. dentatus* e 70% *L. douglassii*) grupo (4 animais) com 10.000 larvas mistas (30% *L. dentatus* e 70% *L. douglassii*), por via oral através de sondas e grupo não infectado (controle). Os animais foram monitorados com avaliação do OPG, alimentação e rotação de baias, após dois meses de infecção as aves foram eutanasiadas com injeção intravenosa de pentobarbital de sódio em uma dose de 120mg/kg e submetidos a necropsia e os proventrículos e ventrículos foram removidos para análise anatomopatológica.

### **4.3 – Análise histopatológica**

As amostras de tecidos do proventrículo e ventrículo foram coletadas no terço anterior, médio e distal do proventrículo e ventrículo e fixadas em formol tamponado neutro a 10%. De um total de dez amostras de cada região, cinco destas dez amostras de tecidos foram preparadas para o processamento histológico de rotina e coloração especial (Alcian Blue-PAS e Tricromio de Masson). Após processamento, as lâminas foram analisadas em microscópio de luz, a fim de identificar infiltrados inflamatórios e localização dos nematoides nos tecidos sob infecção com 1.000 larvas e 10.000 larvas mistas. As Amostras foram fixadas, coradas com H&E, Tricrômio de Masson, método recomendado para tecido conjuntivo ( EasyPeth, 2017) e Alcian Blue PAS, método para demonstrar mucinas ácidas em cortes histológicos ( EasyPeth, 2017).

### **4.4 - Especiação de nematoides adultos**

De um total de dez amostras de cada região, cinco foram utilizadas para a coleta dos parasitos, os tecidos com aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> das regiões anterior, média e posterior dos proventrículos e ventrículos foram separadas no momento da necropsia e fixadas em formaldeído 10% tamponado. Posteriormente, as amostras de tecidos foram transferidas para tubos Falcon contendo solução salina tampão fosfato e analisados com auxílio do microscópio estereoscópio. Os nematoides

foram coletados um a um com auxílio com agulha histológica sob microscópio estereoscópio em placas de Petri e foram quantificados.

## **V – Resultados**

### **5.1 Análise anatomopatológica de proventrículo e ventrículo de avestruzes infectadas por *Libyostrongylus* spp.**

Animais submetidos à infecção experimental com 1.000 ou 10.000 larvas *Libyostrongylus* spp. não apresentaram lesões macro ou microscópicas. A arquitetura do tecido glandular bem como os demais aspectos teciduais estavam íntegros na histomorfologia.

Essas duas quantidades de larvas usadas na infecção experimental desses dois grupos não foram suficientes para provocar danos na arquitetura dos tecidos (Fig. 2, A-C). O proventrículo glandular de animais infectados experimentalmente com 1000 larvas mistas, apresentaram aspectos normais, sem alterações no epitélio e ausência de cortes de nematoides no lúmen do ducto (Fig. 3, B, D) ou nematoides imersos na camada queratinóide (Fig. 3, A, C). Os ductos dos adenômeros em animais controle apresentaram atividade contínua de secreção, abertura e fechamento dos ductos podendo ser observada pela heterogeinidade da abertura do lúmem. (Fig. 4). A camada queratinóide corada com Alcian Blue/PAS, demonstrou que a região anterior do proventrículo revelou maior acidez (Fig. 5 A) e próximo à constrição que divide as duas regiões, revelou a neutralidade (Fig. 5 B), já no ventrículo a coloração magenta identificou a neutralização desta camada (Fig. 5 C).

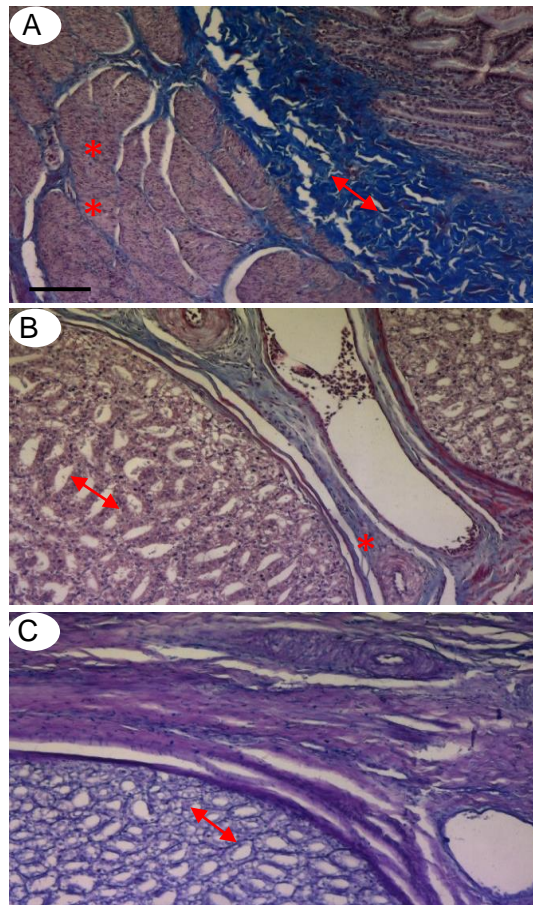


Figura 2- Fotomicrografia do proventrículo de avestruz infectados experimentalmente por *Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii*. (A) Região anterior do proventrículo com área muscular (\*\*) e tecido conjuntivo (seta dupla). Coloração de Tricrômio de Masson. (B-C) Região glandular do proventrículo. (B) Adenômeros tubuloalveolares (seta dupla), tecido estromal (\*) com fibras de tecido conjuntivo ricos em vasos sanguíneos. Coloração de Tricrômio de Masson. (C) Adenômeros (seta dupla) ao redor de tecidos de conexão entre o lóbulo (\*). Coloração de Alcian Blue- PAS. Barra=100µm.

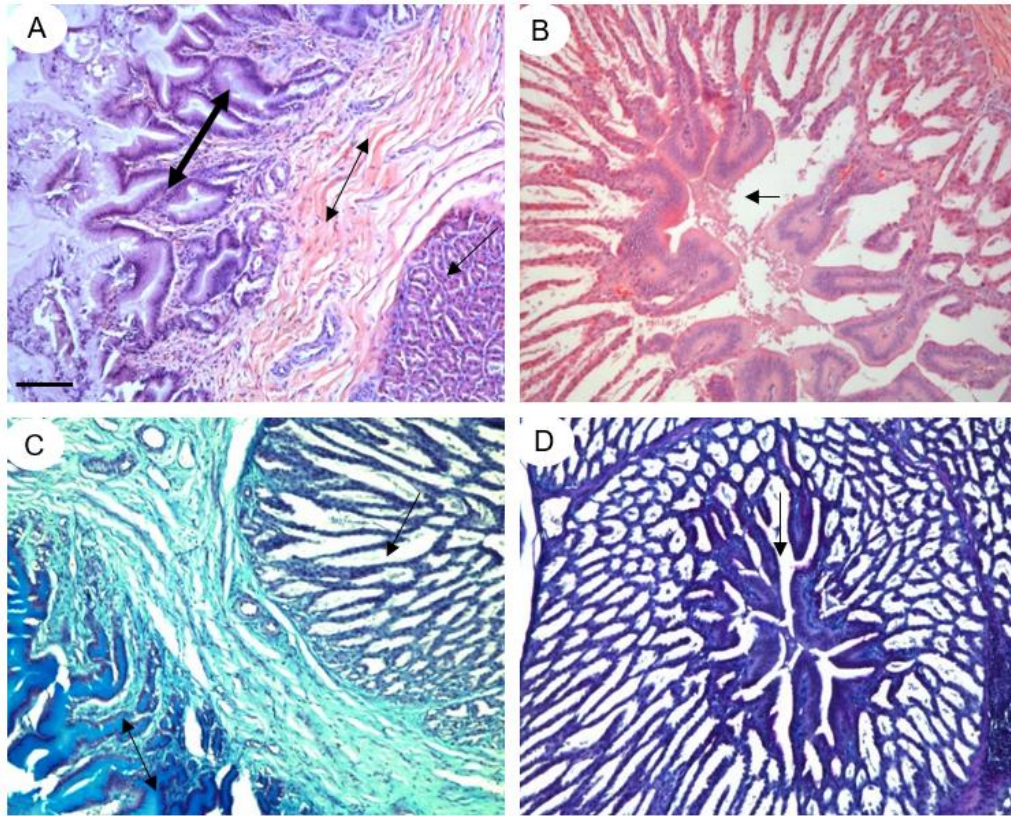


Figura 3- Fotomicrografia de proventrículo glandular com aspecto normal de avestruz infectado experimentalmente com 1000 larvas mistas de *Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii*. (A) Região glandular normal (seta), transição entre região glandular e camada coilínea (seta fina dupla), início de secreção e deposição de células para formação de camada coilínea (seta dupla grossa). Coloração hematoxilina e eosina. (B) Ducto central com epitélio normal (seta), ausência de nematoides. Coloração de hematoxilina e eosina. (C) Região glandular (seta) secreção na camada coilínea (seta dupla), mucinas ácidas em tons de azul. Coloração de Alcian Blue-PAS. (D) Lúmen do ducto normal, ausência de nematoides (seta). Coloração de Alcian Blue-PAS. Barra = 100  $\mu$ m.

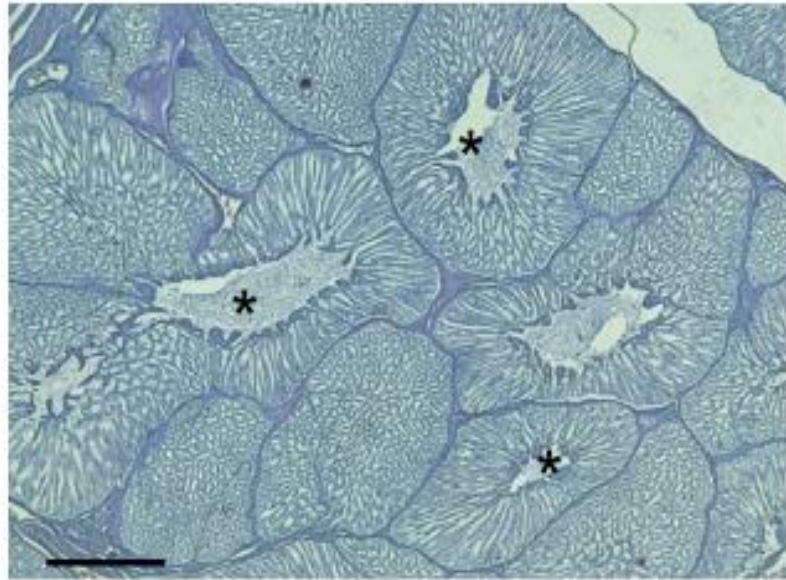


Figura 4. Fotomicrografia de adenômeros da região glandular de proventrículo de avestruz do grupo não infectado (controle). Adenômeros apresentando ductos secretores sem alterações (asteriscos); corados com Alcian Blue- PAS. Barra = 200  $\mu\text{m}$ .



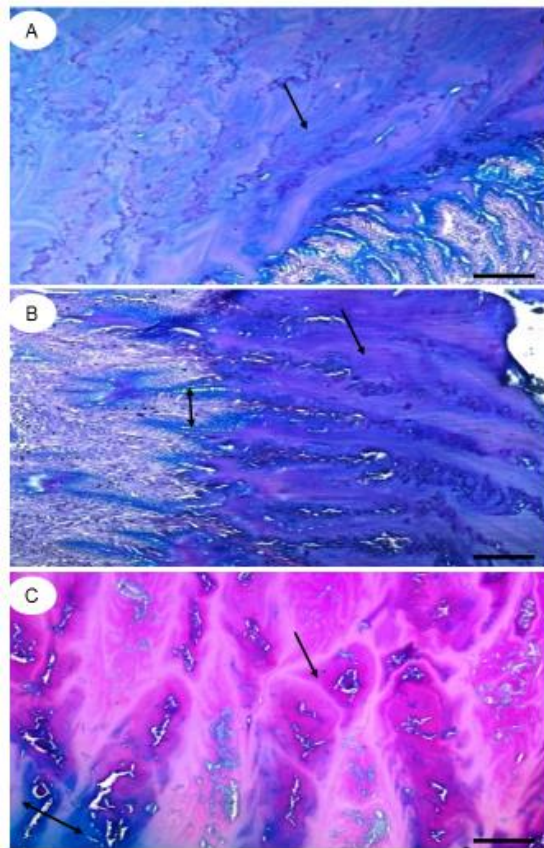


Figura 5. Fotomicrografia de camada coilínea do estômago de avestruz infectadas experimentalmente com *Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii*. (A) Camada coilínea da região anterior do proventrículo evidenciando cor azul em maior quantidade (seta) revelando secreções ácidas. (B) Camada coilínea da região posterior do proventrículo, na base das glândulas observa-se secreção ácida marcada em azul (seta dupla). A cor rosa se mistura à cor azul indicando neutralização do pH desta camada (seta). (C) Camada coilínea da região anterior do ventrículo, composição ácida na base indicada pela coloração azul (seta dupla), cor rosa indicando a neutralização da composição desta camada (seta). Coloração de Alcian Blue-PAS. Barra = 100  $\mu\text{m}$ .

## **5.2 – Quantificação de nematoides no proventrículo e ventrículo de avestruzes com distintos níveis de infecção.**

O número total de nematoides adultos de *Libyostrongylus* spp. no proventrículo e ventrículo de animais infectados experimentalmente com 1.000 L<sub>3</sub> (OPG de 0 a 800) foi de 41 e 47, respectivamente (Tabela 2). Nematoides foram observados em todas as regiões do proventrículo (Tabela 2). O número médio de nematoides da região glandular e posterior do proventrículo foi de 2,7 e 0, respectivamente (Tabela 2). No ventrículo não foram encontrados nematoides na região média e o número médio de adultos das regiões anterior e posterior foi 0,2 e 2,9, respectivamente (Tabela 2). Animais sob infecção experimental com 10.000 L<sub>3</sub> (OPG entre 150 a 4000) apresentaram nematoides em regiões variáveis do proventrículo e ventrículo (Tabela 2). O número total de nematoides adultos de *Libyostrongylus* no proventrículo foi de 788 enquanto que o número total no ventrículo foi de 230 (Tabela 2). Nas regiões anterior, glandular e posterior do proventrículo foi encontrado um número médio de 171, 17,4 e 0,5, respectivamente de nematoides adultos e no ventrículo na região anterior, média e posterior o número médio foi de 2,3; 0 e 13,7 respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2- Número de *Libyostrongylus* em cinco amostras teciduais de três diferentes regiões do proventrículo e ventrículo de avestruzes experimentalmente infectados. Animais infectados com 1.000 (1, 2, 3) e 10.000 (4, 5, 6) larvas infectantes.

Animal	amostra	Proventrículo				Ventrículo			
		anterior	glandular	posterior	Total	anterior	mediana	posterior	Total
1	1	0	0	0	0	2	0	6	6
	2	0	0	0	0	1	0	9	10
	3	0	0	0	0	0	0	11	11
	4	0	0	0	0	0	0	8	8
	5	0	1	0	1	0	0	10	10
	Total	0	1	0	1	3	0	44	47
	M±DP	0	0.2±0.5	0	0.2±0.5	0.6±0.9	0	8.8±1.9	9±2
2	1	0	18	0	18	0	0	0	0
	2	1	5	0	6	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	4	0	4	0	0	0	0
	5	0	12	0	12	0	0	0	0
	Total	1	39	0	40	0	0	0	0
	M±DP	0.2±0.5	7.8±7.2	0	8±7.1	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0
	M±DP	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	0	69	3	72	1	0	0	1
	2	1	34	0	35	0	0	0	0
	3	2	37	1	40	0	0	0	0
	4	0	63	0	63	0	0	0	0
	5	6	55	2	63	0	0	0	0
	Total	9	258	6	273	1	0	0	1
	M±DP	1.8±2.5	51.6±15.5	1.2±1.3	54.6±16	0.2±0.4	0	0	0.2±0.4
5	1	0	0	0	0	0	0	23	23
	2	0	1	0	1	13	0	1	14
	3	0	0	0	0	16	0	53	59
	4	0	0	1	1	0	0	93	93
	5	0	1	0	1	4	0	31	35
	Total	0	2	1	3	33	0	201	224
	M±DP	0	0.4±0.5	0.2±0.4	0.6±0.5	6.6±7.5	0	40.2±34.9	44.8±31.8
6	1	151	1	0	152	0	0	0	0
	2	293	0	0	293	0	0	0	0
	3	7	0	0	7	1	0	2	3
	4	6	0	0	6	0	0	2	2
	5	54	0	0	54	0	0	0	0
	Total	511	1	0	512	1	0	4	5
	M±DP	102±122	0.2±0.4	0	102±122	0.2±0.4	0	0.8±1.1	1±1.4

## VI- Discussão

Aves são susceptíveis a diversas parasitoses, sendo nematoides muito patogênicos, tanto para aves silvestres, de vida livre, como aves de produção. Neste estudo, com infecção experimental mista não foi possível verificar danos em cortes histológicos, indicando que o número de larvas administradas aos animais não foi suficiente para causar lesões celulares ou teciduais nos proventrículos e ventrículos.

Dados prévios de infecção natural (Souza, 2013) mostram que quando o parasitismo é nos adenômeros a destruição tecidual pode ser grande ocasionando perda estrutural e alteração funcional. É possível que a ação mecânica traumática e espoliadora do nematoíde, induza esse tipo de alteração morfológica dessas estruturas. Conforme Huchzermeyer (2005) a ação mecânica obstrutiva ocasionada por formas imaturas do nematoíde no interior das glândulas do proventrículo leva a inflamações severas que resultam em necrose, ocasionando mortalidade nas aves. A lesão provocada pela libiostrongilose pode ser porta de entrada para infecções secundárias.

Os infiltrados inflamatórios do tipo heterófilico estão associados à infecção por *Libyostrongylus* spp. (Andrade et al., 2011b). Neste estudo não foram encontrados infiltrados inflamatórios relacionados à infecção por nematoides. Contudo, em estudos anteriores (Souza, 2013), verificamos a presença de heterófilos agrupados em maior número próximos aos nematoides em animais de alta infecção natural e dispersos em animais de baixa infecção natural. Essa distribuição diferenciada do infiltrado inflamatório dependente da carga parasitária, sugere que em infecções naturais existam condições para maior atração de heterófilos. A presença desses infiltrados heterofílicos nos tecidos de animais muito e pouco infectados naturalmente demonstram que heterofilos e infiltrados mononucleares participam ativamente da resposta imunológica desta (Andrade et al., 2011b) e de outras aves contra infecções por nematoides (Menezes et al., 2003; Work et al., 2004; Brener et al., 2006; Senties-Cués et al., 2011; Avelar et al., 2014).

As amostras teciduais analisadas aqui foram de animais com infecção mista. Portanto, não foi possível afirmar o tipo de lesão relacionada à espécie de nematoíde, pois, além da infecção ser mista, em baixa carga parasitária, na infecção não foi possível observar lesões relacionadas à infecção por *Libyostrongylus* spp. Em animais de alta infecção natural analisados em estudo prévio do grupo (Souza, 2013), foi possível observar lesões como hiperemia moderada confirmadas por análise microscópicas sendo do tipo erosivas/ulcerativas provocada por agressão mecânica por influência do parasitismo por *Libyostrongylus* spp. (Bastinello et al., 2005).

Analisando a camada queratinoide dos proventrículos e ventrículos submetidos a infecção experimental mista não foram observados ovos de nematoides ovipositados. Em infecção natural, em estudos prévios (Souza, 2013), mesmo quando foi possível observar maior número de nematoides no proventrículo, ovos de nematoides foram observados somente na camada queratinóide do ventrículo. Isto nos leva supor que o nematoide após atingir o estágio para oviposição siga o fluxo do peristaltismo gástrico para que os ovos sejam liberados em porções posteriores garantindo sua presença de forma mais rápida nas fezes dando continuidade ao ciclo. Durante a necropsia em estudos anteriores (Souza, 2013), observou-se a facilidade que essa camada se destaca em ventrículos quando a infecção está estabelecida em nível elevado, além de ser mais espessa do que a camada queratinóide encontrada no proventrículo, supondo também que os ovos fiquem mais protegidos nesta região até o momento de sua liberação.

Com a finalidade de observar possíveis alterações nas secreções contidas na camada coilínea e danos, os tecidos de animais infectados experimentalmente foram submetidos a coloração de Tricromio de Masson e Alcian Blue-PAS. No entanto, não observou-se danos graves nos tecidos do proventrículo ou ventrículo. Isso sugere que é necessária uma infecção experimental mais alta, acima de 10.000 larvas infectantes, que resulte em alteração histopatológica.

Com relação ao tipo de secreção que faz parte da composição da camada coilínea, foi possível observar que na região anterior do proventrículo ocorre a predominância de secreções de mucinas ácidas secretadas junto à camada coilínea, que é formada por deposição de células que entram em processo de morte formando uma camada de proteção contra injúrias na mucosa. Sendo este o órgão de armazenamento de alimentos em avestruzes (homólogo ao papo das aves que as têm) é de grande importância que este tecido não sirva como porta de entrada à infecções secundárias, pois estes tipos de infecções podem contribuir para a impactação proventricular severa e levar o animal à óbito.

O proventrículo em baixa e/ou alta infecção natural (Souza, 2013) e/ou experimental (conforme avaliado neste estudo) é o sítio alvo da infecção por *libiostrongilose*, isto pode ser observado quando são feitas as análises macroscópicas. Como estes nematoides são encontrados em grande parte no lúmen

das glândulas do proventrículo secretoras de muco (Souza, 2013), ou aderidos na parede do proventrículo, entre as pregas posteriores à região glandular e não em glândulas submucosas compostas, que além de secretarem muco também secretam ácido clorídrico e pepsinogênio, poderíamos supor que, o ambiente ácido não compromete a fisiologia do nematoide, e o muco serve de proteção ao nematoide adulto jovem.

Em lâminas de animais infectados experimentalmente, os tecidos estavam íntegros e viáveis. As secreções ocorreram naturalmente, sendo observadas junto à constituição da camada coilínea, mais ácidas no proventrículo e mais neutras no ventrículo. Mais uma vez indicando que a carga parasitária utilizada nesse estudo foi baixa em relação ao que acontece naturalmente. Esta observação demonstra que *Libyostrongylus* spp. no início da fase parasitária pode estar em grande atividade no proventrículo, maturando e copulando em um ambiente mais ácido e preferencialmente ovipositando na camada coilínea do ventrículo em ambiente mais neutro e próximos ao início do intestino.

Portanto, técnicas de manejo, como correta alimentação e limpeza do local aonde os animais foram mantidos, pode ter influenciado para que os animais não desenvolvessem infecção danosa.

Além disto, neste estudo demonstrou-se a distribuição dos parasitos ao longo do ventrículo e proventrículo em animais experimentalmente infectados com duas taxas de parasitos sugerindo tropismo pela região do proventrículo. Com relação à localização de *Libyostrongylus* spp. podemos afirmar que o parasitismo ocorre de forma mais intensa no proventrículo. Estes dados, foram comparados com o número total de nematoides quantificados nos proventrículos e ventrículos e comparados aos cortes histológicos com dados de estudos prévios (Souza, 2013), que demonstram danos mais intensos nesta região em animais sob infecção natural. Uma resposta mais definitiva relacionando as lesões causadas por *Libyostrongylus* spp. só será obtida em experimentos com infecções experimentais monoespecíficas, comparando com as infecções mistas naturais.

Informações pertinentes à libyostrongylose são de grande importância, pois, a estrutocultura tem grande potencial econômico e as infecções parasitárias têm enorme importância neste contexto. Sendo assim, é necessário estabelecer uma

infecção experimental monoespecífica, para avaliar todos os impactos provocados em avestruzes ligados à infecção por *Libyostrongylus* spp. O que nos permitirá investigar mais detalhadamente aspectos do ciclo biológico destes parasitos e estabelecer relações à manifestações clínicas e anatomopatológicas.

## VII- Conclusão

Avestruzes infectados experimentalmente por *L. douglassi* e *L. dentatus* com carga parasitária de 1000 (baixa infecção) ou 10.000 (alta infecção) larvas, não demonstram lesões histopatológicas em ventrículo e proventrículo e portanto, não foram observados infiltrados inflamatórios. A coloração especial (Alcian Blue- PAS) revelou atividade mais ácidas no proventrículo e neutra no ventrículo. Estes parasitos embora parasitem proventrículo e ventrículo possuem preferência pelo proventrículo.

## VIII- Referências Bibliográficas.

Alicata, J.E.(1947). Parasites and parasitic diseases of domestic animals in the Hawaiian Islands. *Pacific Science*.1,69-84.

Alkhalif. A., Alhaj M., I-homidan, I.(2010). Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 17, 219–225.

Andrade, J. G., Carvalho, E. C., Santos, C. P., DaMatta, R. A., (2011b). Mixed infection with *Libyostrongylus dentatus* and *Libyostrongylus douglassii* induces a heterophilic inflammatory infiltrate in the proventriculus of ostriches. *Avian Pathology*. 40, 367-370.

Andrade, J. G., Lelis, R. T., DaMatta, R. A., Santos, C. P., (2011a). Occurrence of nematodes and anthelmintic management of ostrich farms from diferente Brazilian states: *Libyostrongylus douglassii* dominates mixed infections. *Veterinary Parasitology*. 178, 129-133.

Appleby E. C, Gibbons L. M, Georgiou K. (1995), Distortion of gizzard in Cyprus pigeons (*Columba livia*) associated with *Hadjelia truncata* infestation. *Veterinary Record*. 136,561-564.

Ativos agricultura (2015). Evolução da Avicultura no Brasil. Ed.nº1. Disponível em: < [http://www.canaldoprodutor.com.br/sites/default/files/Ativos-Avicultura-n1\\_0.pdf](http://www.canaldoprodutor.com.br/sites/default/files/Ativos-Avicultura-n1_0.pdf) > acesso em: 15 mar 2017.

Atkinson, C.T.; Thomas, N.J.; Hunter, D.B (2008). Parasitic diseases of wild birds. Blackwell Publishing. 592p.

Avelar O. I., Almeida R. L., Santos A. H., Lima S. W., Lara B. L. (2014). Ecco R. *Sicarius uncinipenis* Deletocephalus cesarpintoi in captive greater rheas of Minas Gerais State, Brasil. *Brazilian Journal Veterinary of Parasitology*, Jaboticabal. 23, 355-359.

Avicultura industrial (2011). Amazon Struthio em RO. Disponível em: <<http://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/amazon-struthio-em-ro/20110411-100741-X858>>. Acesso em: 07 mai. 2017.

Avicultura industrial (2011). Estruticultura brasileira em busca de crescimento. Disponível em: <<http://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/estruticultura-brasileira-em-busca-de-crescimento/20110325-131658-J915>>. Acesso em: 07-05-2017.

Back, A. Manual de Doenças de Aves. 1ª edição. Cascavel: Back. 2002. pp. 190-191.

Barbosa A. C., Campelo R. H. E., Pereira C. M. e Michels L. I. (2007). Panorama da cadeia de estruticultura no Brasil. *XLV congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural*. Londrina PR.

Bartmann A., Amato B. S. (2009). *Dispharynx nasuta* (Nematoda: Acuariidae) em *Guira guira* e *Crotophaga ani* (Cuculiformes: Cuculidae) no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria. 39,1152-1158.

Barton, N. J., e Seward, D. A., (1993). Detection of *Libyostrongylus douglassii* in ostriches in Australia. *Aust. Vet. J.* 70, 31-32 .

Bastianello, S., McKenna, P.B., Hunter, J., Julian, A.F. (2005). Clinical and pathological aspects of *Libyostrongylus* infection in ostriches. *Surveillance*, 32, 3-6.

Betel Avestruz, 2017. < <http://www.betelavestruzes.com.br/site/quem-somos/> >. Acesso em:06-03-2017.



Bleher, B, Bohning-Gaese, K. (2001). Consequences of frugivore diversity for seed dispersal, seedling establishment and the spatial pattern of seedlings and trees. *Oecologia*. 129, 385-394.

Bonadiman S. F., Stratievsky G. C. , Machado J. A., Albernaz A. P, Rabelo G. R., DaMatta R. A. (2009). Leukocyte ultrastructure, hematological and serum biochemical profiles of ostriches (*Struthio camelus*). *Poultry Science* 88:2298–2306.

Bonadiman, S.F., Ederli N.B., Soares, A.K.P., Moraes Neto A.H.A., Santos C.P., DaMatta, R.A. (2006). Occurrence of *Libyostrongylus* sp. (Nematoda) in ostriches (*Struthiocamelus* Linnaeus, 1758) from the north region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 137, 175-179.

Brener B., Tortelly R., Pereira-Muniz C. L., Pinto M. P. (2006) *Cheilospirura hamulosa* (Diesing, 1851) (Nematoda, Acuarioidea) in turkeys in Brazil: occurrence and pathology. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 58, 287-290.

Cabral J. C., Granzinolli M. A. M., Motta-Junior J. C. (2006). Dieta do quiriquirei, *Falco sparverius* (Aves: Falconiformes), na Estação Ecológica de Itirapina, SP. *Revista Brasileira de Ornitologia*. 14,393-399.

Carrer C. C. e Kornfeld E. M. (1999). Aspectos de importância na produção racional de avestruzes (*Struthio camelus*). *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*. São Paulo, f.1, p.46-51.

Churria G. D. C., Spinsanti E., Origlia J., Marcantoni H., Píscopo M., Loyola H. M., Petruccelli M. (2011). *Disphanynx nasuta* (Nematoda: Acuariidae) Infection causing proventricular lesions and death in three captive rosellas (Psittaciformes: Psittacidae). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 42, 164-165.

EasyPathy (2017). Histokit – Alcian Blue pH 2,5 – P.A.S. Disponível em: <<http://www.easypath.com.br/upload/pdf/040520121156561233542985.pdf>>. Acesso em: 10 julh 2017.

EasyPathy (2017). Histokit – Tricrômio de Masson. Disponível em: <[http://www.easypath.com.br/saude\\_interna2.php?produto=268](http://www.easypath.com.br/saude_interna2.php?produto=268)>. Acesso em: 10 julh 2017.

Ederli N. B., Bonadiman S. F., Moraes Neto A. H. A., DaMatta, R. A., Santos, C. P. (2008a). Mixed infection by *Libyostrongylus douglassii* and *L. dentatus* (Nematoda: Trichostrongylidae) in *Struthiocamelus* (Ratites: Struthioniformes) from

Brazil with further morphological characterization of adultos. *Veterinary Parasitology*. 151, 227-232.

Ederli N. B., Oliveira R. C. F. (2014). Macroscopic Lesions of the Ventriculus of *Rhea americana*, Linnaeus, 1758 (Aves: Rheidae) Naturally Infected by *Sicarius uncinioensis* (Molin, 1860) (Nematoda: Habronematidae). *Journal of Parasitology*. 100,860-863.

Ederli N.B., Oliveira F.C.R., Lopes, C.W.G., DaMatta R.A., Santos C.P., Rodrigues M. L. A. (2008b). Morphological diagnosis of infective larvae of *Libyostrongylus douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and *L. dentatus* Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda: Trichostrongylidae) of Ostriches. *Veterinary Parasitology*. 155-323-327.

Ederli, N. B., Oliveira, R. C. F. (2014). Macroscopic Lesions of the Ventriculus of *Rhea americana*, Linnaeus, 1758 (Aves: Rheidae) Naturally Infected by *Sicarius uncinioensis* (Molin, 1860) (Nematoda: Habronematidae). *Journal of Parasitology*. 100,860-863.

Ederli, N.B. & Oliveira, F.C.R. (2009). Differential Localization of *Libyostrongylus douglassii* (Cobbold, 1882) Lane, 1923 and *L. dentatus* Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda, Trichostrongylidae) in Ostrich (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758) Proventriculi. *The Journal of Parasitology*, 95, 757- 759.

Fato Típico: revista do núcleo de persecução criminal da Procuradoria da República em Goiás. Caso avestruz master: o maior crime financeiro em Goiás. Goiânia: Ascom da PR/GO, v. 4, abr./jun. 2010. Disponível em: <[http://www.prgo.mpf.mp.br/fato\\_tipico/animacao/edicao004-2010/Edicao\\_004-19-04-2010.pdf](http://www.prgo.mpf.mp.br/fato_tipico/animacao/edicao004-2010/Edicao_004-19-04-2010.pdf)>. Acesso em: 16 mar. 2017.

Freitas J. F. T., Lent H., (1947). "Spiruroidea" parasitos de "Rheiformes" (Nematoda). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 45, 743-760.

Freitas, M. F., Oliveira, J. B., Cavalcanti M. D. B., Leite A. D., Magalhães V. S., Oliveira R. A., Sobrinho A. E. (2002). Parasitos gastrointestinais de aves silvestres en cativeiro en el estado do Pernambuco, Brasil. *Parasitología Latino americana*. 57, 50-54.

Gelis S. (2005). Evaluating and Treating the Gastrointestinal System, In: Clinical Avian Medicine - Volume I (chapter 14), Avian Medicine Online by Harrison's Bird Foods, [http://avianmedicine.net/publication\\_cat/clinical-avian-medicine/](http://avianmedicine.net/publication_cat/clinical-avian-medicine/)

Gilbert L.I. (1937). New nematode *Libyostrongylus magnus*, n. sp., papers on Helminthology, 30 years Jubilee (pp. 180-182). Moscow: *Lenin Academy of Agricultural Science*.

Goble, F.C., Kutz, H.L. (1945). The genus *Dispharynx* (Nematoda: Acuariidae) in Galliform and Passeriform birds. *Journal of Parasitology*. 31, 323-331, 1945.

González-Mariño A. G., Hernández-Ramírez A., Vecino-Cortés A. J. (2017). *Libyostrongylus douglassii* (Strongylida: Trichostrongylidae) in ostrich (*Struthio camelus*) farms from Colombia. *Veterinary Parasitology*. 235, 53-56.

Greiner, E.C., Ritchie, B.W. (1994). Parasites. In: Harrison, G.J.; Harrison, L.R.; Ritchie, B.W. (Ed.) Avian Medicine: principles and application. Lake Worth: Wingers publishing, pp. 1007 -1029.

Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda: Trichostrongylidae) of Ostriches. *Veterinary Parasitology*. 155, 323-327.

Hoberg, Lloyd and Omar, 1995 (Nematoda: Trichostrongylidae) of Ostriches. *Veterinary Parasitology*. 155, 323-327.

Huchzermeyer F. W., Henton M. M. Keffen R. H. (1993). High mortality associated with megabacteriosis of proventriculus and gizzard in ostrich chicks.

Huchzermeyer FW.(2005). Doenças de Avestruzes e outras ratitas. Jaboticabal: Funep.

IBGE 2013, Produção da pecuária municipal

Maxtruz, 2017. Disponível em: < <https://www.maxtruz.com.br/maxtruz> >. Acesso em: 06-03-2017.

Menezes C. R., Tortelly R., Gomes C. D. Pinto M. R. (2003). Pathology e frequência de *Cheilospirura hamulosa* (Nematoda, Acuarioidea) in Galliformes hosts from backyard flocks. *Avian Pathology*. 32,151-156.

Oryan A., Rakhshandehroo E., Kamali A. S., pour T. J. M. (2014). Histopathological changes in the upper digestive tract of pigeons infected with *Hadjelia truncata*. *Journal of Parasitic Diseases. Indian Society for Parasitology*. 40,881-884

Phalen D., DVM, PhD, DABVP-Avian. (2005). Diagnosis and Management of *Macrorhabdus ornithogaster* (Formerly *Megabacteria*). *Veterinary Clinics Exotic Animal Practice*. 8,299-306.

Piveta, 2017. < <http://www.piveta.com.br/> >. Acesso em :06 -03-2017.

Ponce Gordo F., Herrera S., Castro A.T., García Durán B., Martínez Díaz R.A.(2002). Parasites from farmed ostriches (*Struthio camelus*) and rheas (*Rhea americana*) in Europe. *Veterinary Parasitology*. n.107, p. 137-160.

Razmi G. R., Kalidari G. A., Maleki M. (2007). First report of the *Hadjelia Truncata* infestation in pigeons in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 19, 175-177.

Reinecke R. K. (1983). *Veterinary Helminthology*. Durban: Butterworth.

Rodrigues C. F. e Macedo O. L. (2014). Análise da Reestruturação da Estruturicultura Brasileira após a crise de 2005-2007: um exame da tendência à verticalização dos segmentos de abate e comercialização. *Informações Econômicas, SP*, n. 5, p. 37-49.

Santos C. P., Andrade J. G., DaMatta R. A., (2010). Na update on *Libyostrongylus*, a gastro- intestinal nematode of ostriches. In: Lamann, G. V. (Ed.), *Veterinary Parasitology*. Nova Science Publishers. 179-192 (Chapter 7).

Sentíes-Cué G. C., Charlton R. B., Anthenill L., Naem S., McDougald L., Bland M. (2011). Parasitic ventriculitis caused by *Hadjelia truncata* in California rock pigeons (*Columbia livia*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 23,1243-1246.

Seolin, F. Viabilidade econômico-financeira para a implantação da estruturicultura no município de Presidente Prudente - SP. 2004. 61 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Curso de Ciências Econômicas, Faculdades Integradas "Antônio Eufrásio de Toledo", Presidente Prudente, 2004. Disponível em: <<http://intertemas.unitoledo.br/revista/index.php/Juridica/article/viewFile/234/228>>.

Acesso em: 7 mai. 2017.

Silva O. C. G. e Guimarães V. B. A. M. (2008). Reprodução de avestruzes: uma revisão da fisiologia e do comportamento. *Revista Brasileira de Reprodução Animal. Belo Horizonte*. n.4, p. 251-255.

Silveira F. E., Amato R. F. J., Amato B. S. (2006). *Echinuria uncinata* (Rudolphi) Nematoda, Acuariidae) in *Netta peposaca* (Vieillot) (Aves, Anatidae) in South America. *Revista Brasileira de Zoologia*. 23,520-528.

Sotiraki S.T., Georgiades G., Antoniadou-Stiriadou K., Himonas C.A. (2001). Gastrointestinal parasites in ostriches (*Struthiocamelus*). *Veterinary Record*. 148, 84-86.

Souza J. D. da S. Criação de avestruz. Viçosa: Aprendendo Fácil, 2004. ISBN:85-7630-008-7

Souza L. P. (2013). Eficácia anti-helmíntica e anatomopatologia em proventrículo e ventrículo de avestruzes infectados por *Libyostrongylus dentatus* e *L. douglassii* (Nematoda Trichostrongylidae). Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, centro de Biociências e Biotecnologia e área de concentração: Biologia Celular – Campos dos Goytacazes RJ - 50 f.

Stewart J., Ratitas in: *Avian Medicine: Principles and Applications* (1994) (capítulo 48). *Avian Medicine Online by Harrison's Bird Foods*, [http://avianmedicine.net/publication\\_cat/avian-medicine/](http://avianmedicine.net/publication_cat/avian-medicine/)

Svihus B., (2014). Function of the digestive system. *Poultry Science Association*. 23, 1-9.

Tadros G, Iskander AR (1975) *Hadjelia truncata*, a new parasite of pigeons in Egypt and its pathogenicity. *Journal of the Egyptian Veterinary Medical Association*. 35,283–301.

Thomas, N.J.; Hunter, D.B.; Atkinson, C.T. (2007). *Infectious diseases of wild birds*. Blackwell Publishing. 496p.

Uniquímica. (2016). *Verminose: a enfermidade esquecida em aves*. <http://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/verminose-a-enfermidade-esquecida-em-aves/20090128-090309>

Van Bael, S.A., Brawn J.D., Robincon S.K. (2003). Birds defend trees from herbivores in a Neotropical forest canopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100,8304-8307.

*Veterinary Record*. 133, 143-144.

Wobeser. G.A. (2008) Parasitism: Costs and Effects. In: Atkinson, C.T.; Thomas, N.J.; Hunter, D.B (Ed.); Parasitic diseases of wild birds. Blackwell Publishing. pp.1-9.

World Ostrich Association (2013). South African avian influenza. Disponível em: < <http://world-ostrich.org/south-african-avian-influenza/>>. Acesso em: 07 mar 2017.

Work M. T., Meteyer U. C., Cole A. R. (2004). Mortality in Laysan Ducks (*Anas laysanensis*) by Emaciation Complicated by *Echinuria uncinata* on Laysan Island, Hawaii, (1993). *Journal of Wildlife Diseases*. 40,110-114.

Zettermann C. D., Nascimento J. A., Tebaldi J. A., Szabó P. J. M. (2005). Observations on helminth infections of free-living and captive rheas (*Rhea americana*) in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 129, 169-172.