

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**AVALIAÇÃO HEPÁTICA EM MAÇARICO-RASTEIRINHO
(*Calidris pusilla*, LINNAEUS, 1766) DURANTE O PERÍODO
DE INVERNADA NO NORDESTE BRASILEIRO**

**Edijanio Galdino da Silva
Médico Veterinário**

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**AVALIAÇÃO HEPÁTICA EM MAÇARICO-RASTEIRINHO
(*Calidris pusilla*, LINNAEUS, 1766) DURANTE O PERÍODO
DE INVERNADA NO NORDESTE BRASILEIRO**

Edijanio Galdino da Silva

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Danila Barreiro Campos
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Barbosa de
Lucena**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

S586a Silva, Edijanio Galdino da.
Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*,
Linnaeus, 1766) durante o período de invernada no nordeste
brasileiro / Edijanio Galdino da Silva.- João Pessoa, 2016.
34f. : il.
Orientadora: Danila Barreiro Campos
Coorientador: Ricardo Barbosa de Lucena
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA
1. Aves - migração. 2. Estado fisiológico. 3. Histopatologia.
4. Avaliação hepática. 5. Granuloma.

UFPB/BC

CDU: 636.61:574.91(043)

EDIJANIO GALDINO DA SILVA

AVALIAÇÃO HEPÁTICA EM MAÇARICO-RASTEIRINHO
(Calidris Pusilla, LINNAEUS, 1766) DURANTE O
PERÍODO DE INVERNADA NO NORDESTE BRASILEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal do brejo paraibano.

APROVADA EM 23/06/2016

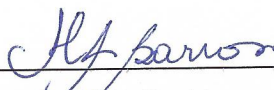
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Danila Barreiro Campos
DCV/CCA/UFPB
Orientador



Prof. Dr. Helder Farias Pereira de Araújo
DCB/CCA/UFPB
Examinador



Profa. Dra. Mércia Rodrigues Barros
DMV/UFRPE
Examinador

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

EDIJANIO GALDINO DA SILVA – Nascido em Sumé, estado da Paraíba, em 23 de março de 1988. Possui nível médio técnico, com habilitação em Agropecuária (2009), e graduação em Medicina Veterinária (2014) pela Universidade Federal da Paraíba. No mesmo ano ingressou no Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, sob orientação da professora Dr^a. Danila Barreiro Campos e desenvolveu sua pesquisa na área de Morfofisiologia.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, por sempre me dar forças e me guiar pelos caminhos do bem. A meus pais, Sebastião Luciano Galdino da Silva (*in memoriam*) e Minervina Regina da Silva e aos meus irmãos. A minha esposa Maria das Graças da Silva Bernardino, por ser esta pessoa maravilhosa que sempre está ao meu lado. A todos os meus familiares e amigos por todo amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me amparar em todos os momentos da minha vida, fazendo superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e sempre me dar forças e guiar pelos caminhos do bem.

Aos meus pais, Sebastião Luciano Galdino da Silva (*in memoriam*) e Minervina Regina da Silva, agradeço por todos os ensinamentos, proteção e força.

Aos meus irmãos, Edmilson Galdino da Silva e Edilson Galdino da Silva, por estarem do meu lado me dando forças e me apoiando.

Ao Dr. Fernando Mendes de Freitas (*in memoriam*), Elza Macedo de Freitas e família, que foram fundamentais para eu estar aqui hoje.

A minha esposa Maria das Graças da Silva Bernardino, por estar sempre ao meu lado dando apoio.

A minha orientadora Danila Barreiro Campos, meus sinceros agradecimentos pela confiança, orientação, paciência, dedicação, carinho e amizade.

Um obrigado especial ao professor Ricardo Barbosa de Lucena, pela sua contribuição como coorientador.

Aos professores Ricardo Romão Guerra, Oliveiro Caetano de Freitas Neto e Fabiana Satake, que muito contribuíram para a realização dessa pesquisa. Muito obrigado pelo apoio, disponibilidade e amizade.

Um obrigado mais que especial a Roberta Costa Rodrigues, por abrir as portas da pesquisa com aves migratórias.

A todos os docentes do Departamento de Ciências Veterinárias que contribuíram para a ampliação dos meus conhecimentos.

Ao técnico do Laboratório de Anatomia Animal, Osmário Dantas Wanderley, pelo seu incentivo e colaboração.

Aos técnicos do Hospital Veterinário, em especial aos técnicos do Laboratório de Histopatologia, Temístocles e Ana Luzia, pela amizade, apoio e colaboração.

Ao técnico do Laboratório de Histologia, Deydeby Illan dos Santos Pereira, pelo seu apoio e colaboração.

Aos alunos de graduação Eudes Fernando Alves de Silva e Nailson Júnior, pelo apoio e colaboração.

Ao Centro de Ciências Agrárias e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal que possibilitaram a minha formação profissional em Medicina Veterinária e Mestre em Ciência Animal, além de todo o aprendizado de vida.

A todos que diretamente ou indiretamente contribuíram com a minha formação.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO GERAL.....	iv
ABSTRACT.....	v
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Capítulo I - Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (<i>Calidris pusilla</i>, Linnaeus, 1766) durante o período de invernada no Nordeste brasileiro.....	5
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	19
REFERÊNCIAS.....	20

LISTA DE QUADROS

Capítulo I - Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766) durante o período de internada no Nordeste brasileiro

	Página
Quadro 1	
Valores médios/mediana seguidos do desvio-padrão/desvio interquartilico dos parâmetros bioquímicos de <i>Calidris pusilla</i> no período de chegada e no meio do período de internada.....	15
Quadro 2	
Valores médios seguidos do desvio-padrão (em gramas) da massa corporal de <i>Calidris pusilla</i> no período de chegada e no meio do período de internada.....	15
Quadro 3	
Valores médios seguidos do desvio-padrão (em gramas) dos parâmetros da composição do fígado de <i>Calidris pusilla</i> no período de chegada e no meio do período de internada.....	15
Quadro 4	
Valores médios seguidos do desvio-padrão da deposição de glicogênio hepático de <i>Calidris pusilla</i> no período de chegada e no meio do período de internada.....	15
Quadro 5	
Valores médios seguidos do desvio-padrão das alterações histopatológicas observadas no fígado de <i>Calidris pusilla</i> no período de chegada e no meio do período de internada.....	16
Quadro 6.	
Prevalência dos achados histopatológicos no fígado de <i>Calidris pusilla</i> no período de chegada e no meio do período de internada.....	16

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I - Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766) durante o período de invernada no Nordeste brasileiro

Página

Figura 1

Fotomicrografias de parênquima hepático corado com ácido periódico-Schiff (PAS) de *Calidris pusilla* capturados no período de chegada (A) e no meio do período de invernada (B) no estado da Paraíba. Observar em: A – Pouquíssima presença de glicogênio hepático, B – Pouca presença de glicogênio hepático e C – Controle positivo, observar a intensidade da coloração púrpura das células caliciformes (pontas de seta) presentes no intestino de Codornas Japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Barras: A, B e C – 50 μm 17

Figura 2

Fotomicrografias de achados histopatológicos presentes no parênquima hepático de *Calidris pusilla* capturados no estado da Paraíba. A – Necrose no parênquima hepático (ponta de seta); B, C – presença de granulomas (pontas de seta); C – infiltrado periportal (seta); D – necrose e inflamação subcapsular (ponta de seta); E - hemossiderina, (pontas de seta); F - hemossiderina em meio a inflamação. Barras: A – 50 μm ; B e C– 100 μm ; D – 500 μm ; e E, F– 20 μm . Coloração: hematoxilina e eosina..... 18

**Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766)
durante o período de invernada no Nordeste brasileiro**

RESUMO GERAL - As aves migratórias sofrem grandes exigências físicas e energéticas, havendo a utilização massiva das reservas energéticas corporais. As longas distâncias percorridas podem levar as aves migratórias à desidratação e ao esgotamento das reservas de gorduras. Além disso, é comumente observada a redução do peso corporal, da musculatura, da gordura peritoneal e de diversos órgãos. Alguns estudos já constataram que o fígado e intestino também sofrem variação de peso. O fígado é um importante órgão para a avaliação do estado geral das aves migratórias, fornecendo informações valiosas sobre o seu estado fisiológico, uma vez que possui funções importantes como o metabolismo de substâncias, armazenamento de glicogênio, desintoxicação e síntese de proteínas, carboidratos e lipídeos. Objetivou-se com este estudo verificar se há diferenças significativas na avaliação do fígado do maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*) em aves recém-chegadas no sítio de invernada e de aves no meio do período de invernada no Nordeste brasileiro, enfatizando a avaliação dos parâmetros bioquímicos da função hepática, a avaliação da composição do fígado, avaliação da deposição de glicogênio hepático e a análise histopatológica do tecido hepático. Os dados revelaram que há diferenças significativas na composição, na deposição de glicogênio e nos achados histopatológicos do fígado, bem como nos valores médios de albumina sérica entre as aves recém-chegadas e as aves no meio do período de invernada. A maioria dos achados foram benéficos e mostraram que os sítios de invernada são áreas importantes de conservação da espécie. Além disso, foi constatado a negatividade para *Pasteurella* spp., *Mycobacterium* spp. e *Salmonella* spp. como agentes causadores de granulomas hepáticos observados nas aves durante os dois períodos analisados. Vale ressaltar que este é o primeiro estudo de avaliação hepática em *Calidris pusilla* em sítios de invernada no Nordeste brasileiro e espera-se que estes resultados sirvam como subsídios para a realização de estudos futuros relacionados à fisiopatologia e investigação de potenciais agentes etiológicos causadores das lesões hepáticas observadas.

Palavras-chave: Aves marinhas, bioquímica, histopatologia, fígado, granuloma.

**Liver evaluation in Semipalmated Sandpiper (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766)
during the wintering period in Northeast Brazil**

ABSTRACT - Migratory birds suffer great physical and energy requirements, with the massive use of body energy reserves. Long distances can take migratory birds to dehydration and depletion of fat reserves. Furthermore, it is commonly observed decrease in weight of body, musculature, peritoneal fat and various organs. Some studies have found that liver and intestine also suffer from weight variation. Liver is an important organ for the assessment of the general state of migratory birds, providing valuable information about their physiological state, as it has important functions like metabolism of substances, glycogen storage, detoxification and synthesis of proteins, carbohydrates and lipids. The aim of this study was to determine whether there are significant differences in the assessment of Semipalmated Sandpiper (*Calidris pusilla*) liver in newly arrived birds in wintering site and birds in the middle of the wintering period in Northeast Brazil, emphasizing the evaluation of parameters of biochemical liver function, evaluation of liver composition, evaluation of deposition of hepatic glycogen and histopathologic analysis of liver tissue. The data revealed that there are significant differences in the liver composition, liver deposition of glycogen and liver histopathology findings, as well as the average values of serum albumin between the newly arrived birds and birds among the wintering period. Most of the findings were beneficial and showed that wintering sites are important areas for conservation of the species. Also, the negativity was found to *Pasteurella* spp., *Mycobacterium* spp. and *Salmonella* spp. as agents of hepatic granulomas observed in birds during the two periods analyzed. It is noteworthy that this is the first liver evaluation study in *Calidris pusilla* in wintering sites in Northeastern Brazil and it is expected that these results serve as subsidies for future studies related to the pathophysiology and investigation of potential etiological agents of liver injury observed.

Keywords: Shorebirds, biochemistry, histopathology, liver, granuloma.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

No mundo existem cerca de 10.000 espécies de aves (Birdlife International, 2015), sendo encontradas atualmente 1.901 destas espécies no Brasil (CBRO, 2014). Algumas dessas espécies apresentam comportamento migratório, o que pode favorecer a disseminação de patógenos em longas distâncias, colocando em risco as populações de outras espécies de aves de vida livre ou cativo, mamíferos e até humanos (TAKEKAWA *et al.*, 2010).

Entre as espécies de aves migratórias encontradas no Brasil, destaca-se a ordem dos Charadriiformes, que é formada por três subordens: Charadrii, Larii e Scolopacidae (THOMAS; WILLS; SZÉKELY, 2004). Os maçaricos são aves limícolas pertencentes à subordem Scolopacidae (NASCIMENTO, 1999). Geralmente utilizam uma variedade de alimentos desde musgos, algas, pequenos ovos de insetos, peixes, crustáceos e moluscos (MICHAUD; FERRON, 1990; SERRANO, 2010). São encontradas habitando áreas úmidas e a grande maioria possui a capacidade de migrar transequatorialmente (SILVA; RODRIGUES, 2015).

Periodicamente, os Charadriiformes migram para a costa sul-americana durante o inverno. Chegando a realizando trajetos entre 12.000 a 25.000 km entre os sítios reprodutivos e os de invernada (MYERS *et al.*, 1987). Durante as migrações, os Charadriiformes passam a maior parte do tempo nos sítios de descanso, se alimentando e descansando, com a finalidade de acumular reservas para a próxima etapa de voo (MYERS *et al.*, 1987). Após se reproduzirem, as aves chegam dos locais de reprodução entre agosto e setembro, e permanecem nos sítios de invernada até abril (LARRAZÁBAL; AZEVEDO JÚNIOR; PENA, 2002).

As rotas migratórias dos Charadriiformes envolvem os dois hemisférios: Norte e Sul. Em escala global, são conhecidas oito rotas migratórias: Atlântico oeste, Atlântico leste, Interior Americano, Pacífico leste e oeste, África, Mediterrâneo, Índia e Ásia-Austrália (BOERE; STROUD, 2006). No Brasil, são conhecidas cinco rotas migratórias que são muito importantes para conservação e manutenção destas espécies migratórias: Atlântico, variação do interior do Nordeste, Brasil central, Amazônia central e Pantanal e a oeste Amazônico (ANTAS, 1983). Além disso, existem vários sítios de descanso no Brasil: desde o Amapá até o Rio Grande do Sul, como a Ilha de Campechá localizada no Maranhão, a Lagoa do Peixe no Rio Grande

do Sul, a Coroa do Avião no Pernambuco (TELINO; AZEVEDO; NEVES, 2003) e a Ilha da restinga na Paraíba (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Calidris pusilla, conhecido popularmente como maçarico-rasteirinho, é uma das espécies encontradas no Nordeste brasileiro. Essas aves se reproduzem nas tundras no sul do Canadá e do Alasca, e em seguida migram para as zonas costeiras da América do Sul entre setembro e outubro, onde utilizam estes sítios para descanso e alimentação, após o período reprodutivo, que ocorre entre junho a julho (SICK 1997), passando por rotas migratórias no Brasil, incluindo a parada em sítios de invernada localizados no Nordeste brasileiro (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Durante o período de migração, as aves migratórias sofrem grandes exigências físicas e energéticas, havendo a utilização massiva das reservas energéticas corporais (WIKELSKI *et al.*, 2003). Segundo Johnston (1968), as longas distâncias percorridas podem levar as aves migratórias à desidratação e ao esgotamento das reservas de gorduras. Além disso, é comumente observado a redução do peso corporal (LANDYS *et al.*, 2005), da musculatura, da gordura peritoneal e de diversos órgãos (PIERCE; MCWILLIAMS, 2004). Alguns estudos já constataram que o fígado e intestino também sofrem variação de peso (KARASOV; PINSHOW, 1998; LANDYS-CIANNELLI; PIERSMA; JUKEMA, 2003).

Essas variações observadas no peso do fígado e intestino ocorrem porque as aves migratórias apresentam uma alta flexibilidade fenotípica dos órgãos digestórios frente às diversas condições ambientais (BAUCHINGER; MCWILLIAMS, 2010; MCWILLIAMS; KARASOV, 2001). Todavia, a maioria dos estudos já realizados foram em condições experimentais, havendo assim uma escassez de estudos realizados com aves capturadas em condições naturais.

Os parâmetros bioquímicos também podem sofrer alterações em consequência da exigência física da migração. Swanson (2010) observou evidências de possíveis variações sazonais nos parâmetros bioquímicos devido as migrações. No estudo realizado por Landys *et al.* (2005) foi observado que ocorrem alterações nos ácidos graxos, glicerol, triglicerídeos, ácido úrico e butirato. Jenni-Eiermann *et al.* (2002), em outro estudo, observaram que os níveis de triglicerídeos e beta-hidroxibutirato foram menores durante o voo, enquanto os níveis de glicose não se alteraram. De acordo com Guglielmo *et al.* (2002), podem haver variações nos níveis de triglicerídeos de acordo com os sítios de descanso.

Vale ressaltar também que o fígado é um órgão importante para a avaliação do

estado geral das aves migratórias, fornecendo informações valiosas sobre o seu estado fisiológico, uma vez que possui funções importantes como o metabolismo de substâncias, armazenamento de glicogênio, desintoxicação e síntese de proteínas, carboidratos e lipídeos (HOCHLEITHNER; HOCHLEITHNER; HARRISON, 2005).

Na literatura, são encontrados inúmeros trabalhos fundamentados na ecologia dos Charadriiformes e no acompanhamento populacional (ALMEIDA; BARBIERI, 2008; STROUD *et al.*, 2006), todavia ainda há uma escassez de estudos relacionados a avaliação sanitária. Uma vez que as aves migratórias continentais, podem ser vetores de doenças infecciosas, devido ao seu potencial de disseminação de patógenos através de grandes distâncias geográficas (DHAMA; MAHENDRAN; TOMAR, 2008; HUBÁLEK, 2004; NEWMAN *et al.*, 2012; SERRANO, 2010). Nesse sentido, a avaliação histopatológica do fígado pode fornecer informações sobre o status sanitário dos espécimes, uma vez que esse órgão pode ser acometido por inúmeros agentes infecciosos (HOCHLEITHNER; HOCHLEITHNER; HARRISON, 2005). Esses agentes podem promover diversas lesões micro e macroscópicas, podendo evoluir até para a morte do hospedeiro (SUPARTIKA; TOUSSAINT; GRUYS, 2006).

O fígado pode ser afetado por qualquer enfermidade sistêmica, entre afecções causadas por patógenos, tóxicas, circulatórias, neoplásicas e agressões metabólicas (MITCHELL *et al.*, 2006). Todavia, doenças em estágios iniciais podem ser mascaradas porque o fígado possui a capacidade de se regenerar. Dessa forma, os sinais clínicos só aparecem quando as lesões afetam a maior parte do fígado, podendo variar desde inapetência, disfunção aguda, hemorragia e até morte (HOCHLEITHNER; HOCHLEITHNER; HARRISON, 2005).

Neste sentido, várias espécies de parasitas, bactérias, fungos e vírus são implicados como responsáveis pelo aparecimento de lesões no fígado das aves (MITCHELL *et al.*, 2006), incluindo o Reovírus, as micobactérias, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Eubacterium tortuosum*, Aspergiloses, Coccidioses, *Ascaris* (SUPARTIKA; TOUSSAINT; GRUYS, 2006), *Samonella spp.* (BEYAZ *et al.*, 2010) e *Capillaria hepatica* (SANTOS *et al.*, 2008). Estes agentes podem causar diferentes tipos de lesões e sinais clínicos, além disso possuem a capacidade de causar lesões granulomatosas no fígado (SUPARTIKA; TOUSSAINT; GRUYS, 2006).

Assim diante do exposto e considerando a escassez de estudos em

Charadriiformes em condições naturais no Nordeste brasileiro, O presente estudo teve como objetivo avaliar o fígado de aves (*Calidris pusilla*) recém-chegadas no sítio de invernada e no meio do período de invernada no Nordeste brasileiro. O estudo enfatizando a avaliação dos parâmetros bioquímicos da função hepática, a avaliação da composição do fígado, avaliação da deposição de glicogênio hepático e a análise histopatológica do tecido hepático.

Capítulo I

**Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766)
durante o período de invernada no Nordeste brasileiro¹**

¹Pesquisa Veterinária Brasileira



Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766) durante o período de internada no Nordeste brasileiro

Journal:	Pesquisa Veterinária Brasileira
Manuscript:	ID PVB-4826
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	16-Jun-2016
Complete List of Authors:	Silva, Edijanio; Universidade Federal da Paraíba, Rodrigues, Roberta; Universidade Federal da Paraíba, Ciências Veterinárias Bernardino, Maria; Universidade Federal da Paraíba, Ciências Veterinárias Guerra, Ricardo; Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciência Veterinárias Satake, Fabiana; Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Veterinárias Freitas Neto, Oliveira; Universidade Federal da Paraíba, Ciências Veterinárias Lucena, Ricardo; UFPB, Campos, Danila; Universidade Federal da Paraíba, Ciências Veterinárias
Keyword:	Shorebirds, biochemistry, histopathology, liver, granuloma

Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766) durante o período de internada no Nordeste brasileiro¹

Edijanio G. Silva², Roberta C. Rodrigues², Maria G. S. Bernardino², Ricardo R. Guerra³, Fabiana Satake³,
Oliveiro C. Freitas Neto³, Ricardo B. Lucena³, Danila B. Campos³

ABSTRACT.- Edijanio G. Silva, Roberta C. Rodrigues, Maria G. S. Bernardino, Ricardo R. Guerra, Fabiana Satake, Oliveiro C. Freitas Neto, Ricardo B. Lucena & Danila B. Campos 2016. [**Liver evaluation in Semipalmated Sandpiper (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766) during the wintering period in Northeast Brazil.**] Avaliação hepática em maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*, Linnaeus, 1766) em dois períodos diferentes de internada no Nordeste brasileiro. Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0):00-00. Laboratório de Anatomia Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, CCA/UFPB, s/n., Cidade Universitária, Areia, PB, 58.397-000, Brasil. E-mail: edijanio@veterinario.med.br

Migratory birds go through periods of fasting and suffer great physical demand during migration. In wintering sites, they are fed back and prepare for a new flight. These different conditions promote changes in corporal mass of birds and in some organs, especially from the digestive system. The objective of this study was to verify if there are significant differences in liver evaluation of Semipalmated Sandpiper (*Calidris pusilla*) liver in newly arrived birds in wintering site and birds in the middle of the wintering period in Northeast Brazil, emphasizing the evaluation of parameters of biochemical liver function, evaluation of liver composition, evaluation of deposition of hepatic glycogen and histopathologic analysis of liver tissue. Data revealed that there are significant differences in composition, deposition of liver glycogen and histopathological findings of the liver as well as in the mean values of serum albumin between newly arrived birds and birds in the middle of the wintering period. Most of the findings were beneficial and showed that wintering sites are important areas for conservation of the species. In addition, samples were negative for *Pasteurella* spp., *Mycobacterium* spp. and *Salmonella* spp. as agents of hepatic granulomas observed in birds during the two analyzed periods. It is noteworthy that this is the first liver evaluation study in *Calidris pusilla* in wintering sites in Northeastern Brazil and it is expected that these results serve as subsidies for future studies related to the physiopathology and investigation of potential etiological agents of the liver injuries here observed.

INDEX TERMS: Shorebirds, biochemistry, histopathology, liver, granuloma.

RESUMO.- As aves migratórias passam por períodos de jejum migratório e sofrem uma grande exigência física durante a migração. Nos sítios de internada, se alimentam e preparam-se para o retorno as suas áreas de reprodução. Essas diferentes condições promovem mudanças na massa corporal das aves e em alguns órgãos, principalmente os do sistema digestório e musculos relacionados ao exercício. Objetivou-se com este estudo verificar se há diferenças significativas na avaliação do fígado do maçarico-rasteirinho (*Calidris pusilla*) em aves recém-chegadas no sítio de internada e de aves no meio do período de internada no Nordeste brasileiro, enfatizando a avaliação dos parâmetros bioquímicos da função hepática, a avaliação da composição do fígado, avaliação da deposição de glicogênio hepático e a análise histopatológica do tecido hepático. Os dados revelaram que há diferenças significativas na composição, na deposição de glicogênio e nos achados histopatológicos do fígado, bem como nos valores médios de albumina sérica entre as aves recém-chegadas e as aves no meio do período de internada. A maioria dos achados foram benéficos e mostraram que os sítios de internada estudados são áreas importantes de conservação da espécie. Além disso, foi constatado a negatividade para *Pasteurella* spp., *Mycobacterium* spp. e *Salmonella* spp. como agentes causadores de granulomas hepáticos observados nas aves durante os dois períodos analisados. Vale ressaltar que este é o primeiro estudo de avaliação hepática em *Calidris pusilla* em sítios de internada no Nordeste brasileiro e espera-se que estes resultados sirvam como subsídios para a realização de estudos futuros relacionados à fisiopatologia e investigação de potenciais agentes etiológicos causadores das lesões hepáticas observadas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Aves marinhas, bioquímica, histopatologia, fígado, granuloma.

INTRODUÇÃO

As aves migratórias sofrem grande exigência física durante o período de migração, havendo a mobilização de reservas energéticas corporais para que consigam chegar ao local de destino (Wikelski et al.

2003). *Calidris pusilla* (Linnaeus, 1766), conhecido popularmente como maçarico-rasteirinho, é uma ave limícola pertencente à ordem Charadriiformes e à família Scolopacidae, que possui a habilidade de realizar migrações de longas distâncias. Anualmente, os maçaricos-rasteirinho se reproduzem nas tundras no sul do Canadá e do Alasca, entre os meses de junho a julho, e em seguida migram para as áreas de descanso localizadas nas zonas costeiras da América do Sul (Sick 1997). As aves chegam aos sítios de invernada entre agosto e setembro permanecendo até o mês de abril, depois migram novamente para os locais de reprodução (Larrazábal et al. 2002).

O processo de migração é um comportamento biológico que ocorre sazonalmente, em diversos grupos animais, em geral associados a condições alimentares e reprodutivas, essenciais ao seu ciclo de vida (Alerstam et al. 2003). Durante o período de migração, as aves sofrem alterações anatômicas e fisiológicas, podendo ocorrer redução no teor de gordura e na massa magra (Lindström & Piersma 1993, Battley et al. 2000), atrofia ou hipertrofia de determinados órgãos e músculos (Piersma 1998, Piersma et al. 1999, McWilliams & Karasov 2001; Bauchinger & McWilliams 2010).

O fígado é um órgão envolvido no metabolismo de substâncias, armazenamento de glicogênio, desintoxicação e síntese de proteínas, carboidratos e lipídeos (Hochleithner 2005; Piñeiro & Bert 2010). Dessa forma, por possuir funções metabólicas importantes, o fígado é um órgão chave para a avaliação do estado geral dos animais migratórios, fornecendo informações valiosas sobre o seu estado fisiológico. Durante a migração foi descrita a diminuição do tamanho do fígado em *Calidris tenuirostris* após o período migratório (Battley et al. 2000), além disso, as exigências fisiológicas do processo de migração podem alterar os parâmetros bioquímicos (Landys et al. 2005).

Além do estado fisiológico, a avaliação do fígado pode fornecer informações sobre o status sanitário dos espécimes, uma vez que esse órgão pode ser acometido por inúmeros agentes infecciosos (Hochleithner 2005). Durante o período de migração e descanso nos sítios de invernada as aves podem estar expostas a patógenos ausentes em seu local de origem. Animais infectados durante o processo de migração podem contribuir para a rápida disseminação do agente infeccioso, tornando-se reservatórios de várias das infecções que acometem humanos e animais (Hubalek 2004; Dhama et al., 2008). Além disso, esses agentes infecciosos podem promover lesões graves, podendo evoluir até para a morte do hospedeiro (Supartika et al. 2006).

Diante dessas informações e considerando a escassez de estudos em Charadriiformes durante o período de invernada no Brasil, tornam-se necessários a realização de estudos relacionados à fisiologia e achados patológicos nessas aves. O presente estudo teve como objetivo avaliar o fígado de aves (*Calidris pusilla*) recém-chegadas no sítio de invernada e no meio do período de invernada no Nordeste brasileiro. O estudo enfatizou a avaliação dos parâmetros bioquímicos da função hepática, a avaliação da composição do fígado, avaliação da deposição de glicogênio hepático e a análise histopatológica do tecido hepático.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais na Federal Universidade da Paraíba e registrada sob o protocolo n° 172/2015.

A autorização para a realização do estudo foi concedida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), arquivados sob os protocolos 47023-1 e 47023-2.

Área em estudo e captura das aves:

O estudo foi realizado na Coroa dos Ovos, situada na Área de Proteção Ambiental das Reentrâncias Maranhenses, Maranhão, Brasil (1°27'S e 45°09'W) e na Ilha da Restinga, localizada no município de Cabedelo, estado da Paraíba, Brasil (6°59'6''S e 34°51'52''W).

Na Coroa dos Ovos, as aves recém-chegadas foram capturadas em setembro de 2010 (n=17) e as aves no meio do período de invernada foram capturadas em janeiro de 2012 (n=12). Na Ilha da Restinga, as aves recém-chegadas foram capturadas em setembro de 2015 (n=20) e as aves no meio do período de invernada foram capturadas em janeiro de 2016 (n=11).

As aves foram capturadas com a utilização de redes de neblina, sendo avaliadas, no total, 60 aves.

Análise bioquímica:

Para a análise bioquímica, foram colhidas amostras sanguíneas sem anticoagulante por punção da veia jugular direita. Em seguida, as amostras de soro obtidas foram congeladas até o momento das análises.

No total, foram analisadas 12 amostras, sendo 6 pertencentes as aves capturadas no período de chegada e 6 amostras de aves capturadas no meio do período de invernada.

No soro foram dosadas as concentrações das proteínas totais, albumina, aspartato amino

transferase (AST) e colesterol total em espectrofotômetro automático da Mindray (BS-120) utilizando kits reagentes comerciais da marca Labtest Diagnóstica SA®. A concentração das globulinas foi obtida pela diferença entre os valores das proteínas totais e albumina. O índice albumina:globulina (A:G) foi calculado dividindo-se o valor da fração albumina pelo valor total da fração globulina de cada amostra analisada.

Avaliação da massa corporal:

Foram obtidos o peso da massa corporal de 32 aves no período de chegada e de 23 aves no meio do período de internada. Todas as aves foram pesadas em balança de precisão em seguida foi feita a comparação dos dados de massa corporal entre os dois períodos.

Composição do Fígado:

O fígado de cada ave foi coletado após a eutanásia por deslocamento cervical. Os fígados foram coletados, dissecados e pesados em balança analítica de precisão (0,0001g) para a obtenção do peso total. Em seguida, os fígados foram secos ao frio com liofilizador durante um período de 48 horas e pesadas novamente para a obtenção da massa seca. O teor de umidade foi estimado pela diferença entre o peso total e o peso da massa seca.

Posteriormente, os fígados foram moídos e as amostras foram embaladas individualmente em papel filtro e levadas a unidade de extração de Soxhlet, utilizando éter etílico como solvente, para a retirada da gordura. Em seguida, as amostras foram pesadas e foi estimado o teor de gordura do fígado pela diferença entre o peso da amostra colocada no extrator e o peso da massa seca.

A massa seca livre de gordura (MSLG) foi obtida pela diferença entre a massa seca e gordura do órgão.

Avaliação do glicogênio hepático:

A fim de se realizar a análise do índice de estoque de glicogênio hepático nas aves estudadas, foi realizada a coloração do ácido periódico-Schiff (PAS) em lâminas com cortes histológicos de fígados de 28 aves (sendo 17 pertencentes as aves capturadas no período de chegada e 11 amostras de aves capturadas no meio do período de internada), processados com a técnica padrão de histologia.

Para cada ave, foram realizadas 4 fotomicrografias de campos aleatórios em objetiva de 40X. As fotomicrografias foram analisadas pelo mesmo histologista, sem o prévio conhecimento do grupo experimental ao qual a ave pertencia. O depósito de glicogênio foi estimado pela positividade à coloração de PAS e foi classificado como: Grau + (pouquíssimo depósito de glicogênio hepático), Grau ++ (pouco depósito de glicogênio hepático), Grau +++ (moderado depósito de glicogênio hepático) e Grau ++++ (muito depósito de glicogênio hepático), de acordo com o método modificado de Ishak (Ishak et al., 1995).

Avaliação histopatológica do fígado:

Para a avaliação histopatológica, foram coletados fragmentos de 31 fígados, sendo 20 amostras correspondentes ao período de chegada e 11 amostras ao período do meio da internada. Essas amostras foram conservadas em formol tamponado a 10%, processadas segundo o protocolo de rotina utilizado em laboratórios de histopatologia, embebidas em parafina, cortadas a 5 µm e coradas com a técnica padrão de hematoxilina-eosina (Tolosa et al., 2003). Após as colorações, as lâminas foram montadas com lamínulas utilizando-se Entelan® (Merck). As lâminas foram analisadas por um patologista e foram atribuídos graus às lesões (- [Ausente]; + [Leve]; ++ [Moderada]; +++ [Acentuada]) observadas. Além disso, as lâminas foram fotomicrografadas (Microscopio Zeiss®, acoplado a câmera Moticam® 2500) com auxílio do software Motic Images Plus 2.0®.

Tentativa de isolamento de *Pasteurella* spp. e *Salmonella* spp.

Baseado na presença de lesões histopatológicas encontradas no fígado, aventou-se a possibilidade de infecção por *Mycobacterium* spp, *Salmonella* spp. e *Pasteurella* spp. Para tentativa de isolamento dos dois últimos patógenos, um pool de fragmentos de três fígados com lesões granulomatosas evidentes foi assepticamente coletado em tubo Falcon contendo 20 mL de caldo infusão cérebro coração (BHI) os quais foram, em seguida, macerados com auxílio de um pistilo estéril. A amostra foi incubada a 37 °C overnight e então semeada nos meios MacConkey e verde brilhante, com intuito de isolamento de colônias sugestivas de pertencerem ao gênero *Salmonella*, e nos meios ágar sangue e triptona de soja para tentativa de isolamento de *Pasteurella* spp. Colônias sugestivas de pertencerem ao gênero *Salmonella* foram submetidas aos testes bioquímicos e sorologia conforme descrito por Berchieri Junior & Freitas Neto (2009). Enquanto que as colônias sugestivas de pertencerem ao gênero *Pasteurella* foram submetidas aos testes bioquímicos seguindo o descrito por Muhairwa et al. (2000).

Pesquisa por bacilos álcool-ácido resistentes no fígado

Para a realização do diagnóstico diferencial para *Mycobacterium* spp. foram selecionadas três amostras de fígado com lesões granulomatosas evidentes e, em seguida, essas amostras foram submetidas à coloração de Ziehl-Neelsen já padronizada (Luna 1968). As amostras foram examinadas em microscopia óptica para constatar a presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR).

Diagnóstico molecular para *Salmonella* spp.

Além da tentativa de isolamento, o diagnóstico de *Salmonella* spp. foi realizado pela técnica de PCR. As sequências dos pares de iniciadores utilizados para a amplificação do gene *invA*, o qual é específico para *Salmonella* spp. foram 5'-CTCACCAGGAGATTACAACATGG-3' e 5'-AGCTCAGACCAAAGTGACCAT-3', previamente utilizado por Malorny et al (2004). A extração do DNA nas três amostras de fígado com lesões granulomatosas foi realizada utilizando o kit G-spin™ Total DNA extraction kit®, seguindo as especificações do fabricante. A amplificação da PCR foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C durante 3', 35 ciclos de 94°C durante 15'', 57°C durante 15'', 72°C durante 15'', alongamento final a 72°C durante 5', utilizando o Thermocycler Tpersonal (Biometra, Germany). Como controle positivo foram utilizadas amostras de *Salmonella* spp. e como controle negativo foram utilizadas amostras de *Staphylococcus aureus*, ambas provenientes de meios de cultura.

Análise estatística dos resultados:

Para a análise estatística do índice de depósito de glicogênio hepático e achados histopatológicos no fígado as cruzes foram transformadas em números correspondentes, organizando os dados em escores (Ishak et al. 1995).

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade e a comparação dos grupos foi realizada pelo teste t ou teste U de Mann-Whitney a 5% de significância, utilizando o programa estatístico Bioestat 5.0 (Ayres et al. 2007).

RESULTADOS

Na avaliação dos parâmetros bioquímicos hepáticos revelou que há um aumento significativo nos valores médios de albumina e na relação albumina/globulina em aves no meio do período de internada em relação às aves recém-chegadas (Quadro 1).

Os dados do Quadro 2 mostram que a massa corporal das aves não apresentou diferenças significativas entre os dois períodos ($p > 0,05$).

A análise de composição do fígado revelou que há um aumento significativo nos valores médios de peso total, massa seca, umidade e massa seca livre de gordura (MSLG) em aves no meio do período de internada quando comparadas com as aves recém-chegadas (Quadro 3). Houve um aumento de 26% no peso total do fígado, 31% na massa seca, 23% na umidade e 33% na MSLG. Não foi constatado diferenças significativas nos valores médios de gordura hepática entre os dois períodos ($p > 0,05$).

Na avaliação do glicogênio hepático foi possível constatar diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dois períodos. As aves no meio do período de internada apresentaram mais deposição de glicogênio no fígado quando comparado com aves no período de chegada (Quadro 4). Aves no meio do período de internada apresentaram um aumento de 18,87% na deposição de glicogênio quando comparadas com aves recém-chegadas (Figura 1). O grau máximo de deposição de glicogênio hepático nas aves em ambos os períodos foi ++, representando pouco depósito de glicogênio hepático.

Macroscopicamente, não foram observadas lesões patológicas no fígado. No entanto, após o exame microscópico, foram observadas lesões histopatológicas no fígado das aves capturadas nos dois períodos (Figura 2). Observou-se proliferação de ductos biliares, na inflamação periportal mista (macrófagos, linfócitos e heterófilos), presença de granulomas hepáticos aleatórios, fibrose, hemossiderose, heterófilos livres nos sinusóides hepáticos nas aves recém-chegadas e aves no meio do período de internada. A análise estatística constatou diferenças significativas nas proliferações de ductos, inflamação periportal e granulomas hepáticos entre os dois grupos de aves (Quadro 5). O quadro 6 mostra que as aves recém-chegadas apresentaram um aumento de 45% na presença de proliferação de ductos biliares quando comparadas com aves no meio do período de internada. Constatou-se também que as aves no meio do período apresentaram um aumento de 30% na inflamação periportal e aumento de 34% na presença de granulomas. Além disso, todos granulomas observados em aves recém-chegadas apresentaram grau leve, já em aves no meio do período de internada os granulomas foram classificados como de graus leve a severo.

Na avaliação histopatológica do fígado, não foi observado a presença de células gigantes, larvas e ovos de parasitas em meio a inflamação e granulomas. Os esfregaços de fígado não apresentaram bacilos

sugestivos de *Mycobacterium* spp. na coloração de Ziehl-Neelsen e não houve aparecimento de colônias sugestivas de *Pasteurella* spp. e *Salmonella* spp. nos meios utilizados. Além disso os resultados foram negativos para *Salmonella* spp. pela técnica de PCR.

DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo de avaliação hepática em *Calidris pusilla* em condições ambientais naturais no Nordeste brasileiro. Os dados demonstrados permitem análises relacionadas aos custos de energia pós período de migração e à avaliação do status geral de recuperação das aves após alguns meses de permanência nos sítios de invernada.

Nos sítios de invernada as aves descansam, se alimentam e se preparam para um novo voo migratório (McWilliams & Karasov 2001), isso explica o aumento do peso do fígado e nos valores médios de albumina sérica observados em aves capturadas meses após a chegada no sítio de repouso. Esses dados mostram que os sítios de invernada estudados fornecem condições para que as aves se recuperem do desgaste decorrente do voo migratório e, subsequentemente, se preparem para um novo voo. Esses dados reafirmam a importância desses sítios de invernada como áreas de conservação de *Calidris pusilla* e também de outras espécies de aves limícolas migratórias (Oliveira et al. 2016).

Piersma et al. (1999) também observaram o aumento no peso do fígado em *Calidris canutus islandica* no meio do período de invernada. O menor valor de albumina sérica observado no início do período de invernada em *Calidris pusilla* pode ser decorrente ao catabolismo proteico como fonte energética no período migratório. Além disso, o aumento da relação albumina/globulina observado nas aves no meio do período de invernada foi devido ao aumento da albumina sérica.

Nesse estudo não foi constatado diferenças significativas na massa corporal em aves capturadas no período de chegada e no meio do período de invernada. Este dado se correlaciona com os achados de Rodrigues et al. (2009) realizado com *Arenaria interpres* de vida livre, no qual foi evidenciado que o aumento de peso corporal só é observado no período final de invernada, bem próximo ao período de migração para os sítios reprodutivos.

Os órgãos do sistema digestório possuem a capacidade de sofrer mudanças rápidas e reversíveis frente às diferentes condições alimentares (Piersma & Lindstrom 1997; Piersma 1998; Kasarov et al. 2004; McWilliams & Karasov 2005). Durante o período de migração, a maioria das aves não forrageiam, havendo assim a mobilização das reservas energéticas, entre lipídeos, carboidratos e proteínas. Essa mobilização excessiva tem influência direta nas reservas de gordura, na musculatura e nos órgãos digestivos, incluindo o fígado. Isso pode explicar a diminuição da massa do fígado observada em aves migratórias recém-chegadas no sítio de invernada. A diminuição do peso do fígado também foi observada em aves da espécie *Sylvia atricapilla* submetidas a períodos de jejum em um estudo experimental realizado por Karasov & Pinshow (1998).

Os resultados da composição do fígado observados neste estudo se correlacionam com os resultados de Pierce & McWilliams (2004), cujo estudo experimental com *Zonotrichia albicollis*, que também é uma ave migratória, constatou que há a diminuição da massa magra do fígado e de outros órgãos do sistema digestório quando estas são submetidas a períodos de jejum e, após um período de re-alimentação, nota-se um aumento acentuado no peso desses órgãos. Battley et al. (2000), também observaram a redução no teor de gordura e na massa magra do fígado em *Calidris tenuirostris* após o período migratório.

Constatou-se que os meses de descanso compreendidos entre a chegada e o meio do período de invernada não foram suficientes para que ocorresse um aumento na deposição de gordura hepática, que é uma importante reserva de energia corporal. Dados semelhantes foram observados por Aamidor et al. (2011), cujo experimento constatou que há a recuperação das reservas proteicas antes do reabastecimento das reservas de gordura em aves re-alimentadas. Segundo Lindström & Piersma (1993), o acúmulo de gordura ocorre apenas pouco antes do voo migratório. Vale ressaltar que as aves deste estudo foram analisadas nos meses de setembro e janeiro. Assim, em virtude de as aves permanecerem nesses sítios de invernada até meados de abril, supõe-se que poderá haver um aumento na deposição de gordura hepática nos meses seguintes até o período de saída do sítio de invernada.

Os resultados da avaliação do depósito de glicogênio hepático mostraram que a partir do meio do período de invernada as aves apresentaram uma tendência de acumular glicogênio. Esses dados sugerem que o depósito de glicogênio no fígado é a primeira forma de reserva de energia corporal antes da migração.

O aumento dos valores médios de proliferação de ductos biliares observados em aves recém-chegadas no sítio de invernada pode ser devido a ação de patógenos (Chen et al. 2004) ou pode estar relacionado ao acúmulo de bile por maior período de tempo decorrente do jejum alimentar, uma vez que durante o voo migratório há uma diminuição radical na alimentação desses animais.

Clinicamente, as aves apresentaram-se saudáveis, todavia no exame histopatológico foi constatado um aumento na presença de granulomas hepáticos e na inflamação periportal após alguns meses de permanência nos sítios de invernada. A hipótese da presença dos granulomas sem a associação de patógenos ou outros agentes causativos foi descartada diante das características histopatológicas observadas na lesão.

No presente estudo foi realizada a tentativa de diagnóstico para *Mycobacterium* spp., *Salmonella* spp. e *Pasteurella* spp., uma vez que esses agentes possuem potencial zoonótico e são capazes de promover o aparecimento de granulomas hepáticos em aves (Saraiva et al. 1973; Supartika e al. 2006 Beyaz et al. 2010). Embora as aves migratórias sejam comumente citadas como carreadoras de agentes patogênicos, os espécimes estudados foram negativos para os três patógenos (*Mycobacterium* spp., *Salmonella* spp. *Pasteurella* spp). A negatividade para *Salmonella* spp. se correlaciona com os achados de Hernandez et al. (2003), cujo estudo sugere que a ocorrência natural por bactérias do gênero *Salmonella* em aves selvagens durante o período de migração é baixa. Ademais, devido à ausência de alterações macroscópicas do fígado e pelas características dos granulomas no exame histopatológico foi descartado infecção por *Escherichia coli*, visto que, as lesões promovidas por esse agente incluem a presença de coligranulomas macroscópicos e no exame histopatológico é observado a presença de coligranuloma típico com centro necrótico eosinofílico, além da presença de células gigantes e heterófilos nas margens (Da Silva et al., 1989; Rahimi M & Haghghi 2014). Vale observar que existem outros patógenos, além dos aqui investigados, que também poderiam levar ao aparecimento de granulomas hepáticos em aves (Swayne et al., 2013).

CONCLUSÃO

Concluimos que ocorrem variações significativas na composição do fígado, na deposição de glicogênio hepático, nos valores de albumina sérica e nos achados histopatológicos do fígado de *Calidris pusilla* capturados no período de chegada e no meio do período de invernada no Nordeste brasileiro. A maioria dos achados observados nas aves no meio do período de invernada são benéficos e estão relacionadas à restauração do metabolismo pós-migração. Todavia, foi observado um aumento na presença de granulomas hepáticos em aves no meio do período de invernada.

Agradecimentos. - Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de bolsas, Ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (Procad/CNPq) pelo auxílio financeiro para publicação (88881.068412/2014-01) e aos colaboradores: Carol Oliveira, Luiza Monteiro de Almeida, Magda Fernandes e Mauro de Mesquita Souza Saraiva que contribuíram para realização dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Aamidor S.E., Bauchinger U., Mizrahy O., McWilliams S.R. & Pinshow B. 2011. During Stopover, Migrating Blackcaps Adjust Behavior and Intake of Food Depending on the Content of Protein in Their Diets. *Integr. Comp. Biol.* 51(3):385-393.
- Alerstam T., Hedenström A. & Åkesson S. 2003. Long distance migration: evolution and determinants. *Oikos* 103: 247-260.
- Ayres M., Ayres Júnior M., Ayres D.L. & Santos A.A. 2007. BIOESTAT - Aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Bio-Médicas. Belém: Mamirauá, 364p.
- Bauchinger U. & McWilliams S.R. 2010. Extent of phenotypic flexibility during long-distance flight is determined by tissue-specific turnover rates: a new hypothesis. *J. Avian Biol.* 41:1-7.
- Beyaz L., Atasever A., Aydin F., Gümüşsoy K.S. & Abay S. 2010. Pathological and clinical findings and tissue distribution of *Salmonella Gallinarum* infection in turkey poults. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 34(2): 101-10.
- Berchieri J.R.A. & Freitas Neto O.C. 2009. Salmoneloses aviárias, p. 435-51. In: Berchieri Jr. A., Silva E.N., Fabio J., Sesti L., Zuanaze M.A.F. Doença das aves. 2nd ed. Campinas: Facta.
- Battley P.F., Piersma T., Dietz M.W., Tang S., Dekinga A. & Hulsman K. 2000. Empirical evidence for differential organ reductions during trans-oceanic bird flight. *Proceedings. The Royal Society.* 267:191-95.
- Chen Z., Zhu Y., Li C. & Liu G. 2004. Outbreak-associated Novel Duck Reovirus, China, 2011. *Emerging Infectious Diseases.* 18(7): 1209-1211.
- Da Silva P.L., Coelho H.E., Ribeiro S.C.A., & Oliveira P.R. 1989. Occurrence of Coligranulomatosis in Coturnix Quail in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Avian Diseases* 33: 590-593.

- Dhama K., Mahendran M. & Tomar S. 2008. Pathogens Transmitted by Migratory Birds: Threat Perceptions to Poultry Health and Production. *International Journal of Poultry Science*. 7(6):516-25.
- Hochleithner M., Hochleithner C. & Harrison L.D. 2005. Evaluating and Treating the Liver, p. 441-9. In: Harrison G.J. & Lightfoot T. *Clinical Avian Medicine*. Palm Beach: Spix Publishing.
- Hernandez J., Bonnedahl J., Waldenström J., Palmgren H. & Olsen B. 2003. Salmonella in Birds Migrating through Sweden. *Emerging Infectious Diseases*. 9(6):753-5.
- Hubalek Z. 2004. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *Journal of Wildlife Diseases*. 40(4):639-659.
- Ishak K., Baptista A., Bianchi L., Callea F., De Groote J., Gudat F., Denk H.; Desmet V., Korb G., Macsween R.N.M., Phillips M.J., Portmann B.G., Poulsen H., Scheuer P.J., Schmid M. & Thaler H. 1995. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology*. 22(6):696-9.
- Karasov W.H., Pinshow, B., 1998. Changes in lean mass and in organs of nutrient assimilation in a long-distance migrant at a springtime stopover site. *Physiol. Zool*. 71: 435-48.
- Kasarov W.H., Pinshow B., Starck J.M. & Afik D. 2004. Anatomical and Histological Changes in the Alimentary Tract of Migration Blackcaps (*Sylvia atricapilla*): A Comparison among Fed, Fasted, Food-Restricted, and Refed Birds. *Physiol Biochem Zool*. 77:149-60.
- Landys M.M., Piersma T., Guglielmo C.G., Jukema J., Ramenofsky M. & Wingfield J.C. 2005. Metabolic profile of long-distance migratory flight and stopover in a shorebird. *Proc. Biol. Sci*. 272:295-302.
- Larrazábal M.E., Azevedo Júnior S.M. & Pena O. 2002. Monitoramento de aves limícolas na Salina Diamante Branco, Galinhos, Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*. 19(4):1081-9.
- Lindström A. & Piersma T. 1993. Mass changes in migrating birds: the evidence for protein storage re-examined. *Ibis* 135:70-78.
- Luna L.G. 1968. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. Sydney: McGraw-Hill, 258p.
- Malorny B., Paccassoni E, Fach P., Bunge C., Martin A. & Helmuth R. 2004. Diagnostic real-time PCR for detection of Salmonella in food. *Appl Environ Microbiol*. 70(12):7046-7052.
- McWilliams S.R. & Karasov W.H. 2001. Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 128:579-93.
- McWilliams S.R. & Karasov W.H. 2005. Migration takes guts: digestive physiology of migratory birds and its ecological significance, p. 67-78. In: Mara P. & Greenberg R., eds. *Birds of Two Worlds*. Washington: Smithsonian Institution Press.
- Muhairwa A.P., Christensen J.P. & Bisgaard M. 2000. Investigations on the carrier rate of *Pasteurella multocida* in healthy commercial poultry flocks and flocks affected by fowl cholera. *Avian Pathol*. 29: 133-142.
- Oliveira A.C., Barbosa A.E.A., Sousa A.E.B.A., Lugarini C., Lima D. M., Nascimento J.L.X., Souza M.A., Somenzari M., Souza N.A., Serafini P.P., Amaral P.P., Rossato R.M. & Medeiros R.C.S. 2016. Relatório anual de rotas e áreas de concentração de aves migratórias no Brasil. Cabedelo, PB: CEMAVE/ ICMBio. 63p.
- Pierce B. & McWilliams S. R. 2004. Diet quality and food limitation affect the dynamics of body composition and digestive organs in a migratory songbird (*Zonotrichia albicollis*). *Physiological and Biochemical Zoology*. 77:471-483.
- Piersma T. & Lindstrom A., 1997. Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptive behavior. *Trends Ecol. Evol*. 12, 134-138.
- Piersma T. 1998. Phenotypic flexibility during migration: optimization of organ size contingent on risk and rewards of fueling and flight? *J. Avian. Biol*. 29, 511- 520.
- Piersma T, Gudmundsson G.A. & Lilliendahl K. 1999. Rapid changes in the size of different functional organ and muscle groups during refuelling in a long-distance migrating shorebird. *Physiological and Biochemical Zoology*. 72:405-415.
- Piñeiro S.J.C. & Bert E. 2010. Valoración de las afectaciones hepáticas en aves ornamentales. *Revista electrónica de Veterinaria*. 11(11):1-16.
- Rahimi M & Haghghi Z.M.S. 2014. An outbreak of visceral coligranuloma in a backyard chicken flock. *Comparative Clinical Pathology*. 23:381-384.
- Rodrigues R.C., Azevedo-Júnior S.M., Larrazábal M.E.L. & Araujo H.F.P. 2009. Temporal variations of body mass and plumage in *Arenaria interpres* (Aves: Scolopacidae) along the Brazilian coast. *Zoologia* 26(3): 386-390.
- Saraiva D., Barros S.S., Santos M.N., Barros C.S.L., Lieberknecht C.G. & Goulart G.F. 1973. Isolamento de *Mycobacterium avium* de surto em galinhas, no Rio Grande do Sul. *Ver. Centro de Ciências Rurais*. 3(1-4):57-60.
- Sick H. 1997. *Ornitologia brasileira*. 1nd ed. Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 862p.

- Supartika I.K.E., Toussaint M.J.M. & Gruys E. 2006. Avian hepatic granuloma. A review. *Veterinary Quarterly*. 28(3):82-89.
- Swayne D.E., Glisson J.R. & McDougald L.R. 2013. *Diseases of poultry*. 13th ed. Ames, USA: Wiley-Blackwell, 1400p.
- Tolosa E.M.C., Rodrigues C.J., Behmer O. & Freitas Neto A.G. 2003. *Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica*. 2nd ed. São Paulo: Manole, 331 p.
- Wikelski M., Tarlow E.M., Raim A., Diehl R.H., Larkin R.P. & Visser G.H. 2003. Costs of migration in free-flying songbirds. *Nature*. 423(12):704.

Quadros

Quadro 1. Valores médios/mediana seguidos do desvio-padrão/desvio-interquartilico dos parâmetros bioquímicos de *Calidris pusilla* no período de chegada e no meio do período de invernada.

	Período		P
	Chegada (n=6)	Meio (n=6)	
Proteínas totais (g/L)	29,25 ± 6,90	31,90 ± 5,50	0,1312
Albumina (g/L)	8,97 ^b ± 1,00	10,40 ^a ± 1,49	0,0406
Globulina (g/L)	20,07 ± 5,25	21,55 ± 2,82	0,3445
A/G (g/L)	0,41 ^b ± 0,04	0,49 ^a ± 0,05	0,0463
AST (nkat/L)	8.882,33 ± 6.048,02	14.255,63 ± 9.475,02	0,1344
Colesterol (mmol/L)	4,51 ± 0,67	4,89 ± 0,98	0,2187

n: número de animais analisados. AST: aspartato amino transferase. A/G: Relação albumina/globulina. Valores médios ou mediana com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo Teste t ou U Mann-Whitney a 5% de significância.

Quadro 2. Valores médios seguidos do desvio-padrão (em gramas) da massa corporal de *Calidris pusilla* no período de chegada e no meio do período de invernada.

	Período				P
	Chegada (n=32)		Meio (n=23)		
	Média ± DP	Amplitude	Média ± DP	Amplitude	
Massa corporal (g)	21,40 ± 4,27	12,10 - 29,94	21,14 ± 2,06	17,42 - 26,58	0,38

n: número de animais analisados. DP: desvio-padrão. Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo Teste t a 5% de significância.

Quadro 3. Valores médios seguidos do desvio-padrão (em gramas) dos parâmetros da composição do fígado de *Calidris pusilla* no período de chegada e no meio do período de invernada.

	Período		P
	Chegada (n=17)	Meio (n=12)	
Peso total	2,74 ^b ± 0,63	3,69 ^a ± 0,40	0,0001
Massa seca	0,77 ^b ± 0,36	1,11 ^a ± 0,16	0,0017
Umidade	1,94 ^b ± 0,75	2,52 ^a ± 0,32	0,0045
Gordura	0,09 ± 0,04	0,09 ± 0,02	0,1766
MSLG	0,68 ^b ± 0,32	1,02 ^a ± 0,16	0,0024

Onde: MSLG – Massa seca livre de gordura. n: número de animais analisados.

Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo Teste t ou U Mann-Whitney a 5% de significância.

Quadro 4. Valores médios seguidos do desvio-padrão da deposição de glicogênio hepático de *Calidris pusilla* no período de chegada e no meio do período de invernada.

	Período		P
	Chegada (n=17)	Meio (n=11)	
	1,15 ± 0,36	1,36 ± 0,49	0,0268

Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo Teste de U Mann-Whitney a 5% de significância.

Quadro 5. Valores médios seguidos do desvio-padrão das alterações histopatológicas observadas no fígado de *Calidris pusilla* no período de chegada e no meio do período de invernada.

Alterações	Período		P
	Chegada (n=20)	Meio (n=11)	
Proliferação de ductos biliares	1,20 ^a ± 0,52	0,55 ^b ± 0,52	0,0074
Vacuolização por deposição de lipídeos	0,40 ± 0,50	0,55 ± 0,69	0,3399
Inflamação periportal	0,85 ^b ± 0,75	1,55 ^a ± 0,69	0,0110
Fibrose	0,30 ± 0,73	0,27 ± 0,47	0,3942
Necrose e inflamação subcapsular	0,00 ± 0,00	0,18 ± 0,41	0,2045
Hemossiderina*	1,10 ± 0,64	1,00 ± 0,00	0,4102
Heterófilos nos sinusóides	1,10 ± 0,45	1,36 ± 0,81	0,2747
Granulomas	0,30 ^b ± 0,47	1,00 ^a ± 1,00	0,0288

Onde: * Presença de pigmentos alaranjados (hemossiderina) em meio a inflamação. n: número de animais analisados.

Valores médios com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo Teste U Mann-Whitney a 5% de significância.

Quadro 6. Prevalência dos achados histopatológicos no fígado de *Calidris pusilla* no período de chegada e no meio do período de invernada.

Alterações	Chegada (n=20)				Meio (n=11)			
	N ^{aa}	Grau das Alterações (%)			N ^{aa}	Grau das Alterações (%)		
		Leve	Moderado	Severo		Leve	Moderado	Severo
Proliferação de ductos biliares	20	85	10	5	6	100	0	0
Vacuolização por deposição de lipídeos	8	100	0	0	5	80	20	0
Inflamação periportal	14	86	7	7	11	55	36	9
Fibrose	3	75	0	25	3	100	0	0
Necrose e inflamação subcapsular	0	0	0	0	2	100	0	0
Hemossiderina*	18	78	17	5	11	100	0	0
Heterófilos nos sinusóides	20	95	0	5	11	82	0	18
Granulomas	6	100	0	0	7	57	29	14

n: Número de animais analisados.

N^{aa}: Número de animais com alteração.

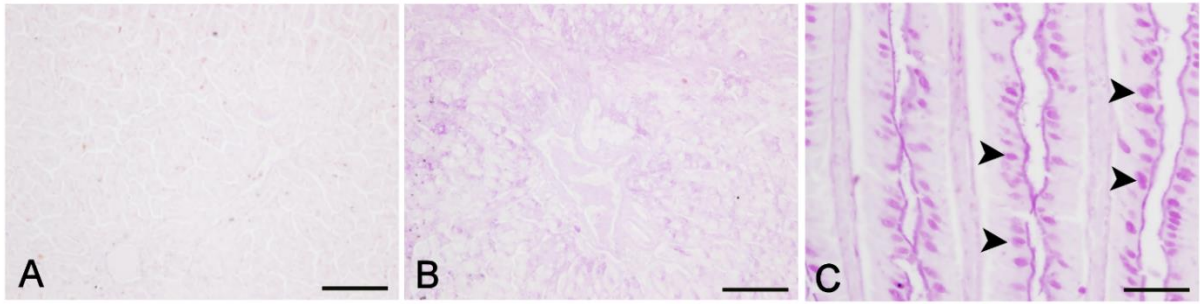
Figuras

Figura 1: Fotomicrografias de parênquima hepático corado com ácido periódico-Schiff (PAS) de *Calidris pusilla* capturados no período de chegada (A) e no meio do período de invernada (B) no estado da Paraíba. Observar em: A - Pouquíssima presença de glicogênio hepático, B - Pouca presença de glicogênio hepático e C - Controle positivo, observar a intensidade da coloração púrpura das células caliciformes (pontas de seta) presentes no intestino de Codornas Japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Barras: A, B e C - 50 μ m.

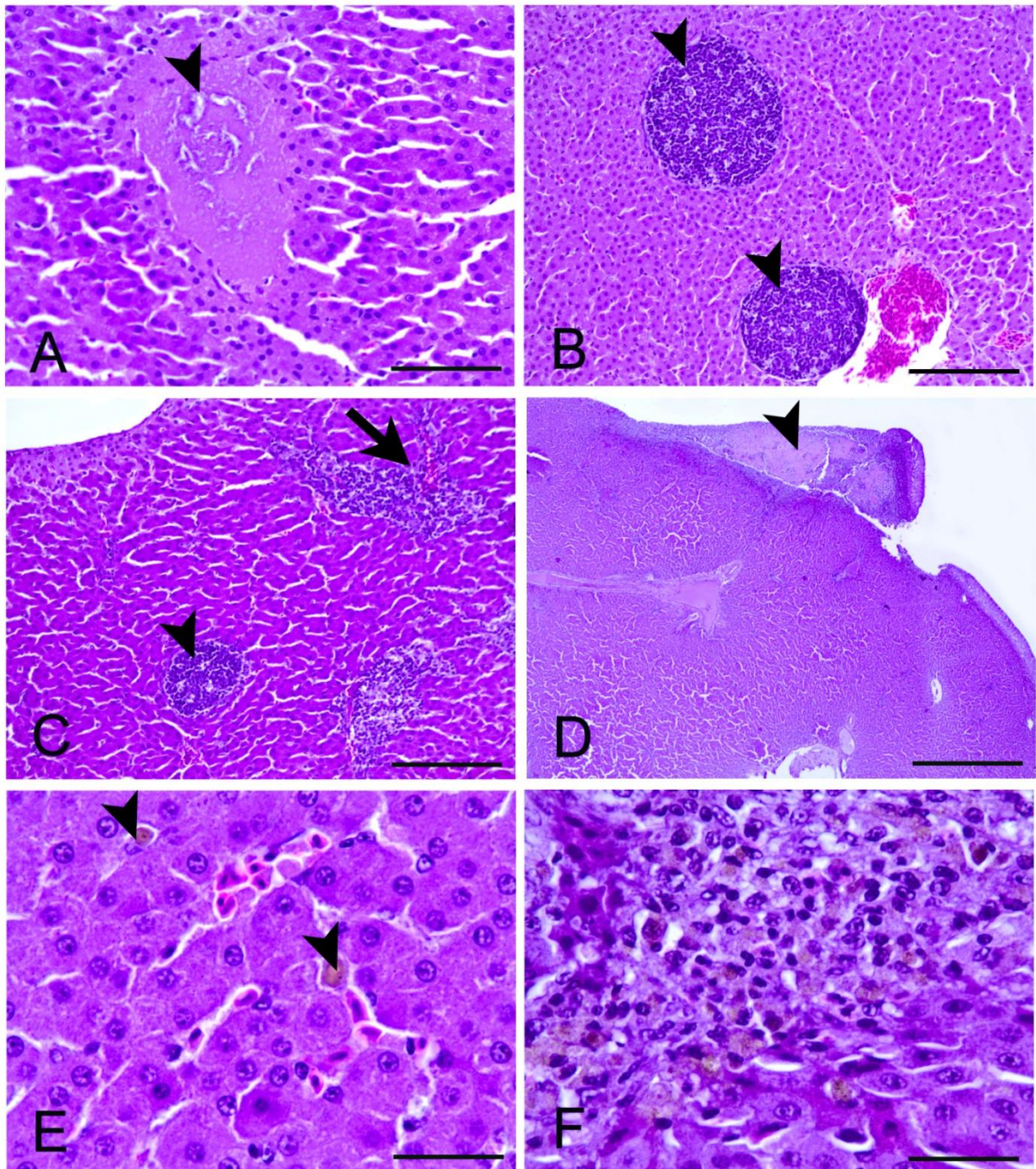


Figura 2: Fotomicrografias de achados histopatológicos presentes no parênquima hepático de *Calidris pusilla* capturados no estado da Paraíba. A - Necrose no parênquima hepático (ponta de seta); B, C - presença de granulomas (pontas de seta), infiltrado periportal (seta); D - necrose e inflamação subcapsular (ponta de seta); E - hemossiderina, (pontas de seta); F - hemossiderina em meio à inflamação mista. Barras: A - 50 μ m; B e C- 100 μ m; D - 500 μ m; e E, F- 20 μ m. Coloração: hematoxilina e eosina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostram que ocorrem variações significativas na composição do fígado, na deposição de glicogênio hepático, nos valores de albumina sérica e nos achados histopatológicos do fígado de *Calidris pusilla* capturados no período de chegada e no meio do período de invernada no Nordeste brasileiro. A maioria dos achados observados nas aves no meio do período de invernada são benéficos e estão relacionadas à restauração do metabolismo pós-migração. Todavia, foi observado um aumento na presença de granulomas hepáticos em aves no meio do período de invernada.

Diante dos resultados aqui obtidos por nossa equipe é sugerido que se realize mais estudos em aves migratórias, visto que fisiologicamente são pouco estudadas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, B. J. M.; BARBIERI, E. Biodiversidade das aves do manguezal da 13 de julho em Aracaju, Sergipe. Disponível em: <http://www.saocamilosp.br/pdf/mundo_saude/63/317-328pdf.pdf>. Acessado em: 3 abr. 2016.
- ANTAS, P. DE T. Z. Migration of Nearctic Shorebirds Charadriidae and, Scolopacidae in Brasil - Flyways and Their Different Seasonal Use. **Wader Study Group Bulletin**, v. 39, p. 52–56, 1983.
- BAUCHINGER, U.; MCWILLIAMS, S. R. Extent of phenotypic flexibility during long-distance flight is determined by tissue-specific turnover rates: a new hypothesis. **Journal of Avian Biology**, v. 41, n. 6, p. 603–608, 2010.
- BEYAZ, L. *et al.* Pathological and clinical findings and tissue distribution of *Salmonella Gallinarum* infection in turkey poults. **Turkish journal of veterinary and animal sciences**, v. 34, n. 2, p. 101–110, 2010.
- Birdlife International Data Zone. Disponível em: <<http://www.birdlife.org/datazone/info/spcdownload>>. Acessado em: 15 jan. 2016.
- BOERE, G. C.; STROUD, D. A. The flyway concept: what it is and what it isn't. In: Boere, G.C.; Galbraith, C. A.; Stroud, D. A. (Org.) **Waterbirds around the world**. 2006, p. 40–47.
- CBRO. **Listas das Aves do Brasil** (11, Ed.), 2014. Disponível em: <http://www.caiobrito.com/uploads/2/8/0/7/28072945/avesbrasil2014.pdf>. Acessado em: 2016-04-02.
- DHAMA, K.; MAHENDRAN, M.; TOMAR, S. Pathogens Transmitted by Migratory Birds: Threat Perceptions to Poultry Health and Production. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 6, p. 516–525, 2008.
- GUGLIELMO, C. G.; O'HARA, P. D.; WILLIAMS, T. D. Extrinsic and intrinsic sources of variation in plasma lipid metabolites of free-living western sandpipers (*Calidris mauri*). **The Auk**, v. 119, n. 2, p. 437, 2002.
- HOCHLEITHNER, M.; HOCHLEITHNER, C.; HARRISON, L. D. Evaluating and Treating the Liver. In: BEACH, P. (Org.). **Clinical Avian Medicine**. Palm Beach: Spix Publishing, 2005. p. 441–9.
- HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of wildlife diseases**, v. 40, n. 4, p. 639–59, 2004.
- KARASOV, W. H.; PINSHOW, B. Changes in lean mass and in organs of nutrient assimilation in a long-distance passerine migrant at a springtime stopover site. **Physiological zoology**, v. 71, n. 4, p. 435–48, 1998.
- LANDYS, M. M. *et al.* Metabolic profile of long-distance migratory flight and stopover in a shorebird. Proceedings. **Biological sciences / The Royal Society**, v. 272, n. 1560, p. 295–302, 2005.

LANDYS-CIANNELLI, M. M.; PIERSMA, T.; JUKEMA, J. Strategic size changes of internal organs and muscle tissue in the Bar-tailed Godwit during fat storage on a spring stopover site. **Functional Ecology**, v. 17, n. 2, p. 151–159, 2003.

LARRAZÁBAL, M. E. DE; AZEVEDO JÚNIOR, S. M. DE; PENA, O. Monitoramento de aves limícolas na Salina Diamante Branco, Galinhos, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, n. 4, p. 1081–1089, 2002.

JENNI-EIERMANN, S. et al. Fuel use and metabolic response to endurance exercise: a wind tunnel study of a long-distance migrant shorebird. **The Journal of Experimental Biology**, v. 205, n. 16, p. 2453–2460, 2002.

MCWILLIAMS, S. R.; KARASOV, W. H. Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 128, n. 3, p. 577–591, 2001.

MICHAUD, G.; FERRON, J. Sélection des proies par quatre espèces d'oiseaux limicoles (Charadrii) de passage dans l'estuaire du Saint-Laurent lors de la migration vers le sud. **Canadian Journal of Zoology**, v. 68, n. 6, p. 1154–1162, 1990.

MYERS, J. P. *et al.* Conservation strategy for migratory species. **American Scientist**, v. 75: 18-26, 1987.

NASCIMENTO, J. L. X. **Estudo da fauna bêmica na dieta de aves limícolas em barra de Cunhaú, Canguaretama, Rio Grande do Norte**. Dissertação (mestrado em Biologia Animal) - Universidade Federal de Pernambuco, 1999.

NEWMAN, S. H. *et al.* Eco-virological approach for assessing the role of wild birds in the spread of avian influenza H5N1 along the Central Asian Flyway. **PloS one**, v. 7, n. 2, p. 1-12. 2012.

OLIVEIRA, A. C. *et al.* **Relatório anual de rotas e áreas de concentração de aves migratórias no Brasil**. Cabedelo, 2016.

PIERCE, B. J.; MCWILLIAMS, S. R. Diet quality and food limitation affect the dynamics of body composition and digestive organs in a migratory songbird (*Zonotrichia albicollis*). **Physiological and biochemical zoology: PBZ**, v. 77, n. 3, p. 471–83, 2004.

MITCHELL, R. N. *et al.* **Cotran - Fundamentos de Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006, 829.

SANTOS, G. G. C. *et al.* Doenças de aves selvagens diagnosticadas na Universidade Federal do Paraná (2003-2007). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 11, p. 565–570, 2008.

SERRANO, I. L. **Distribuição e conservação de aves migratórias neárticas da ordem Charadriiformes (famílias Charadriidae e Scolopacidae) no Brasil**. Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade Federal do Pará, 2010.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. 1ª ed. Editora Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 1997, 862p.

SILVA, L. DE M. R.; RODRIGUES, A. A. F. Densidade e distribuição espacial de aves limícolas em habitats de forrageio na costa amazônica brasileira. **Ornithologia**, v. 8, n. 1, p. 17–21, 2015.

STROUD, D. A. *et al.* The conservation and population status of the world's waders at the turn of the millennium. In: Boere G. C., Galbraith C. A., Stroud D. A. (Org.). **Waterbirds around the world**. The Stationery Office, Edinburgh, p 643–648, 2006.

SUPARTIKA, I. K. E.; TOUSSAINT, M. J. M.; GRUYS, E. Avian hepatic granuloma. A review. **Veterinary Quarterly**, v. 28, n. 3, p. 82–9, 2006.

SWANSON, D. L. Seasonal Metabolic Variation in Birds: Functional and Mechanistic Correlates. In: THOMPSON, C. F. (Org.). **Current Ornithology**. New York, NY: Springer New York, 2010. p. 75–129.

TAKEKAWA, J. Y. *et al.* Field detection of avian influenza virus in wild birds: evaluation of a portable rRT-PCR system and freeze-dried reagents. **Journal of virological methods**, v. 166, n. 1-2, p. 92–7, 2010.

TELINO J, W. R.; AZEVEDO J, S. M.; NEVES, R.M. L. Censo de aves migratórias (Charadriidae, Scolopacidae e Laridae) na Coroa do Avião, Igarassu, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 451–456, 2003.

THOMAS, G. H.; WILLS, M. A.; SZÉKELY, T. A supertree approach to shorebird phylogeny. **BMC evolutionary biology**, v. 4, n. 1, p. 28, 2004.

WIKELSKI, M. *et al.* Avian metabolism: Costs of migration in free-flying songbirds. **Nature**, v. 423, n. 6941, p. 704, 2003.