



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LILIAN RAYANNE DE CASTRO ELOY

DERMATITE CLOSTRIDIAL E SURTO DE BOUBA AVIÁRIA EM EMAS
(*Rhea americana*) NO NORDESTE DO BRASIL

AREIA

2024

LILIAN RAYANNE DE CASTRO ELOY

DERMATITE CLOSTRIDIAL E SURTO DE BOUBA AVIÁRIA EM EMAS (*Rhea americana*) NO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Augusto de Oliveira Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Nayadjala Távita Alves dos Santos

AREIA

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

E48d Eloy, Lilian Rayanne de Castro.
Dermatite Clostridial e Surto de Bouda Aviária em
Emas (Rhea americana) no Nordeste do Brasil / Lilian
Rayanne de Castro Eloy. - Areia:UFPB/CCA, 2024.
58 f. : il.

Orientação: Ricardo Barbosa de Lucena.
Coorientação: Carlos Augusto de Oliveira Júnior,
Nayadjala Távita Alves dos Santos.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Ciência Animal. 2. Ratitas. 3. Dermatite
clostridial. 4. Bouda aviária. 5. Histopatologia. I.
Lucena, Ricardo Barbosa de. II. Oliveira Júnior, Carlos
Augusto de. III. Santos, Nayadjala Távita Alves dos.
IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(043.3)



**Ministério da Educação
Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

LILIAN RAYANNE DE CASTRO ELOY

DERMATITE CLOSTRIDIAL E SURTO DE BOUBA AVIÁRIA EM EMAS (RHEA AMERICANA) NO NORDESTE DO BRASIL.

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 no Brejo Paraibano.

APROVADA EM 18/09/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. RICARDO BARBOSA DE LUCENA

UFPB

Orientador

Dr.^a MÔNICA SHINNEIDER DE SOUSA

UFPB

Examinadora

Prof.^a. Dr.^a. TELMA DE SOUSA LIMA

UECE

Examinadora

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LILIAN RAYANNE DE CASTRO ELOY – Nascida em Campina Grande - PB, em 07 de março de 1992. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em julho de 2021. Participou de projetos de extensão, pesquisa e monitoria durante a graduação e pós-graduação. Tem experiência nas áreas de histopatologia animal, clínica e cirurgia de animais silvestres e exóticos. É mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPB – Campus II – Areia e é pós-graduanda em Clínica e Cirurgia de Animais Silvestres no Instituto Ates – Pós-Graduação UNIFIP – João Pessoa.

À minha família, por todo o
suporte.

Πότνα Ῥέα, [...]
Senhora Rhea,

[...] μήτηρ μέν τε θεῶν ἡδὲ θνητῶν ἀνθρώπων·
Mãe tanto dos deuses quanto dos homens mortais

ἐκ σοῦ γὰρ καὶ γαῖα καὶ οὐρανὸς εὐρύς ὑπερθεν [...]
A terra e o vasto céu devem a ti seus gloriosos nascimentos

(adaptado de Hino Órfico à Rhea, tradução livre)

RESUMO

As emas (*Rhea americana*) são as maiores aves do Brasil. Esta espécie, apesar de pouco explorada de forma comercial no Brasil atualmente, é parte importante do ecossistema e sofre com o desmatamento dos biomas que habitam, com a caça ilegal, predação e com o comércio ilegal de espécies nativas. São classificadas como “Quase ameaçadas” na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN). Existem poucos relatos sobre as doenças que afetam a espécie no Brasil. Este trabalho teve como objetivo fazer uma revisão de literatura sobre as principais doenças infecciosas que acometem a espécie e relatar (i) um caso de dermatite clostridial em uma ema adulta e (ii) um surto de boubia aviária em emas juvenis no Nordeste do Brasil. As doenças infecciosas encontradas foram separadas em doenças virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias. As doenças não-infecciosas encontradas na revisão de literatura foram compiladas em uma única seção. O capítulo um aborda o primeiro relato de dermatite clostridial causada por uma associação de *Clostridium perfringens* tipo A, *C. chauvoei* e *C. septicum* em uma ema adulta no Brasil e caracteriza os aspectos clínicos, histopatológicos e microbiológicos desta infecção. A dermatite clostridial é frequentemente diagnosticada em aves de produção e raramente em aves silvestres. Neste relato, a ave apresentou apatia, inapetência e foi encontrada morta na manhã seguinte à chegada na propriedade. Macroscopicamente, havia uma lesão aptérica extensa, enegrecida, na região dorsal pélvica da pele, além de enfisema e marcada inflamação do tecido subcutâneo. Microscopicamente na pele, foi identificada necrose coagulativa associada com um infiltrado heterofílico intenso que atingiu o subcutâneo e a musculatura subjacentes. Fragmentos foram enviados para crescimento microbiológico e identificação molecular, sendo identificadas as espécies de *Clostridium* citadas anteriormente. As lesões causadas pelas toxinas levaram à morte da ave por toxemia. O segundo capítulo relata um surto de boubia aviária em emas no nordeste brasileiro, evidenciando aspectos clínicos e histopatológicos. Treze emas apresentaram lesões crostosas esbranquiçadas, arredondadas, multifocais a coalescentes, além de sinais respiratórios. Nove das emas morreram pouco após desenvolverem sinais clínicos. Um dos cadáveres foi encaminhado para a necropsia e apresentou microscopicamente, na pele, hiperqueratose, lesões acantolíticas e a presença de corpúsculos de inclusão no citoplasma de queratinócitos. Outras alterações incluíram a atrofia da gordura cardíaca e ventricular. Após 30 dias, outra ema morreu e foi encaminhada para a necropsia. Esta última não se recuperou das lesões como as demais e, macroscopicamente, foi encontrado um corpo estranho ventricular perfurando a mucosa. As lesões de pele desta ema eram mais graves que a anterior, também foram identificados corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos. Ambas as doenças nunca haviam sido relatadas em emas no Brasil. A investigação da *causa mortis* de aves silvestres é primordial para a conservação das espécies. O estudo necroscópico nos possibilita detectar patógenos e tomar medidas profiláticas para evitar a diminuição de populações silvestres.

Palavras-Chave: ratitas; dermatite clostridial; boubia aviária; histopatologia.

ABSTRACT

Greater Rheas (*Rhea americana*) are Brazil's largest birds. This species, though slightly exploited commercially in Brazil, is an important part of the ecosystem and suffer with deforestation of its biomes, illegal hunt, predation and trafficking of native species. They are currently classified as "Near Threatened" at the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of Endangered Species. Greater Rheas diseases are poorly documented in Brazil. This work aimed to do a literature review regarding the main infectious illnesses that affect the species and to report (i) a case of gangrenous dermatitis and cellulitis in an adult female Greater Rhea and (ii) an outbreak of Avian Pox in Greater Rheas in Northeastern Brazil. The infectious diseases which were found were divided into viral, bacterial, fungal and parasitic diseases. The non-infectious diseases were compiled into one section. Chapter one reports the first case of clostridial dermatitis caused by an association of *Clostridium perfringens* type A, *C. chauvoei* and *C. septicum* in an adult Rhea in Brazil and the clinical, histopathological and microbiological aspects of the infection. Clostridial dermatitis is frequently diagnosed in poultry and seldomly, if ever, in wild birds. In our report, the bird had shown apathy, inappetence and was found dead the following day after its arrival. Macroscopically, there was na extensive, blackened, apteric lesion on its dorsal pelvic region, in addition to the presence of gas in the subcutaneous tissue and inflammation. Microscopically, there was coagulative necrosis of the skin associated to an intense heterophilic infiltrate that reached its underlying subcutaneous and muscular tissues. Fragments from tissue were collected and cultured for bacterial growth and molecular identification of pathogens. The bird died suddenly due to toxemia. The second chapter regards an outbreak of avian pox in juvenile rheas in Northeastern Brazil and its clinical and histopathological findings. Thirteen rheas developed crostous whiteish, rounded, multifocal to coalescent skin lesions and respiratory signs such as nasal discharge and shortness of breath. Nine of the rheas died shortly after presenting clinical signs. Necropsy was performed in on the cadavers and microscopical lesions included hyperkeratosis, acantholytic lesions and the presence of inclusion bodies known as Bollinger bodies in its keratinocytes' cytoplasm. Macroscopic findings included severe atrophy of the heart and ventricular fat. After 30 days, another rhea died, and necropsy was also performed. This rhea did not recover from pox lesions as the others and a metallic object was found piercing through its ventricle. The last rhea's lesions were more severe than the previous necropsied one, and inclusion bodies were also found in its keratinocytes. Both diseases, clostridial dermatitis and avian pox, were never reported in rheas in Brazil before. The investigation of the *causa mortis* of wild native birds is essential to the preservation of species. The necroscopic examination allows us to detect pathogens and take prophylactic measures to avoid decreasings numbers of wild populations.

Keywords: ratites; clostridial dermatitis; avian pox; histopathology.

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	AS EMAS (<i>Rhea americana</i>)	12
2.1.1	Classificação e distribuição	13
2.1.2	Características biológicas	15
2.1.3	Potencial zootécnico	15
2.1.4	Importância ecológica	16
2.2	AMEAÇA DE EXTINÇÃO	16
2.3	DOENÇAS DAS EMAS (<i>Rhea americana</i>)	17
2.3.1	Doenças infecciosas	17
2.3.1.1	Doenças virais	17
2.3.1.1.1	<i>Doença de Newcastle</i>	17
2.3.1.1.2	<i>Influenza aviária</i>	18
2.3.1.1.3	<i>Bouba aviária</i>	19
2.3.1.1.4	<i>Encefalomielite Equina do Oeste</i>	20
2.3.1.1.5	<i>Picobirnavirose</i>	20
2.3.1.1.6	<i>Outras arboviroses</i>	21
2.3.1.2	Doenças bacterianas	21
2.3.1.2.1	<i>Rinite/sinusite bacteriana</i>	22
2.3.1.2.2	<i>Colibacilose</i>	22
2.3.1.2.3	<i>Manheimiose</i>	22
2.3.1.2.4	<i>Tuberculose aviária</i>	23
2.3.1.2.5	<i>Brachyspirose</i>	23
2.3.1.2.6	<i>Clamidiose</i>	23
2.3.1.2.7	<i>Campilobacteriose</i>	24
2.3.1.2.8	<i>Micoplasmose</i>	24
2.3.1.2.9	<i>Salmonelose</i>	24
2.3.1.3	Doenças fúngicas	24
2.3.1.3.1	<i>Aspergilose</i>	24

2.3.1.3.2	<i>Candidíase</i>	25
2.3.1.3.3	<i>Macrorabidiose</i>	25
2.3.1.4	Doenças parasitárias	25
2.3.1.4.1	<i>Filoftalmíase</i>	25
2.3.1.4.2	<i>Fasciolíase</i>	26
2.3.1.4.3	<i>Parasitoses gastrintestinais</i>	26
2.3.2	Doenças não-infecciosas	27
3	CAPÍTULO I – GANGRENOUS DERMATITIS AND CELLULITIS	
	IN GREATER RHEA (<i>Rhea americana</i>): RELATO DE CASO	29
3.1	ABSTRACT	29
3.2	INTRODUCTION	29
3.3	CASE DESCRIPTION	30
3.4	DISCUSSION	32
	REFERENCES	35
4	CAPÍTULO II – AN OUTBREAK OF AVIAN POX IN GREATER	
	RHEAS (<i>Rhea americana</i>) IN NORTHEASTERN BRAZIL	38
4.1	ABSTRACT.....	38
4.2	INTRODUCTION.....	39
4.3	MATERIALS AND METHODS	40
4.4	RESULTS	41
4.5	DISCUSSION	44
4.6	CONCLUSIONS	45
	REFERENCES	47
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
	REFERÊNCIAS	50
	ANEXO A – SISBIO	57

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Na natureza, as emas são fundamentais para o ambiente onde vivem. São responsáveis por manter pastagens através da dispersão de sementes, além de controlarem parasitas que porventura poderiam afetar os pastos. Do ponto de vista comercial, possuem uma carne de excelente qualidade e seus outros subprodutos são apreciados como adornos culturais, peças de moda e até para fabricação de medicamentos.

As emas fazem parte de um grupo não- taxonômico de aves chamado “ratitas”, em referência às espécies que não possuem esternos com quilhas para a fixação dos músculos peitorais. Da Classe Ave, Infraclasse *Palaeognathae*, Ordem *Rheiformes*, Família *Rheidae* e Gênero *Rhea*, a ema (*Rhea americana*) é a maior ave da América do Sul. Existem registros fósseis que registram a presença de ancestrais das emas no Brasil há mais de 50 milhões de anos (SICK, 2001). Em outras regiões da América do Sul, a ema é chamada de ñandú ou ñandú guazú (guarani), surí (quéchua), choiqué (muitas vezes utilizado para designar a ema-de-Darwin, na Patagônia) e avestruz americano (Argentina) (AGNOLIN et al., 2016), o que demonstra a extensa distribuição da espécie no continente (Figura 1).

Figura 1: Distribuição geográfica da ema (*Rhea americana*) na América do Sul



(Fonte: PARQUE ECOLÓGICO KLABIN, [s.d.].)

Alguns dos estudos mais recentes sobre doenças de emas descrevem um surto de intoxicação por monensina, outro surto agudo de aflatoxicose, e a exposição da espécie aos vírus USUV e WNV na França (CONSTANT et al., 2020; PIVA et al., 2024; SOUSA JÚNIOR et al., 2022).

Estudos que abordam as doenças que acometem espécies silvestres são fundamentais para a conservação visto que estas enfermidades podem ter um impacto significativo em populações locais e nos ecossistemas que elas habitam. A ema desempenha um papel fundamental nos biomas em que vive, principalmente como dispersora de sementes da vegetação local. A espécie é considerada, inclusive, como bandeira do estado de conservação do Pampa. Identificar precocemente surtos de doenças ajuda na prevenção da propagação destas doenças infecciosas, principalmente em espécies silvestres que são criadas próximas à espécies domésticas. Além disso, por serem aves de interesse zootécnico, pesquisar e relatar as doenças que acometem as emas auxilia em melhores condições de criação. Deste modo, este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica acerca das doenças de emas relatadas na literatura, relatar um caso de dermatite gangrenosa em uma ema adulta e um surto de boubá aviária em emas jovens no Nordeste do Brasil, duas doenças que não foram ainda relatadas na espécie em território brasileiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As emas (*Rhea americana*) são as maiores aves terrestres da América do Sul e fazem parte da família Rheidae, que também inclui as Emas-de-Darwin (*Pterocnemia pennata*). Ambas as espécies apresentam um número decrescente de indivíduos em vida livre, principalmente devido à perda de seus habitats naturais por causa do desmatamento, monocultura, caça ilegal e predação (KUMMROW, 2015).

Chamada em outros países de Ñandú, um termo que viria do guarani e tem como significado “aranha”, ou suri, que teria origem quéchua, esta espécie teve inegável importância alimentar e cultural para os povos sul-americanos. As emas estão presentes em pinturas rupestres, lendas populares das civilizações antes das colonizações e, atualmente, quase foi eleita a Ave Pátria da Argentina (AGNOLIN et al., 2016; GIANOTTI et al., 2023; VALENZUELA et al., 2015). No folclore Uruguaio, passado de geração a geração através da tradição oral, o Ñandú é um grande pássaro majestoso que atravessa o céu todas as noites, seguindo um caminho iluminado pelas estrelas. Esta tradição inicia-se com a observação da banda central da Via Láctea (Figura 1) por diversos povos nativos do Uruguai, que a viam como a silhueta da majestosa ave Ñandú. Inclusive, a constelação do Cruzeiro do Sul seria uma representação dessa grande ave folclórica (GIANOTTI et al., 2023).

Rhea é considerada uma das divindades pré-helênicas mais importantes da Antiguidade, considerada a Mãe-Terra, mãe de deuses e homens, a Grande-Mãe, representava o potencial da natureza. Na mitologia grega, foi a esposa de Cronos e mãe dos principais deuses gregos, como Zeus, que Rhea escondeu para que o pai não o devorasse, como havia feito com os filhos anteriores (ALEJANDRO MOUCHARD, 2019).

Como todas as espécies denominadas ratitas, as emas não possuem quilha no esterno e suas asas são utilizadas principalmente para manter o equilíbrio durante corridas e comportamentos exibitórios durante o acasalamento. Os membros pélvicos são longos e possuem musculatura bastante desenvolvida. Indivíduos adultos podem chegar a ter 1,70 metros de altura e pesar até 45 quilos. Vivem em bando e principalmente em regiões abertas da América do Sul (LOVATO; SANTOS, 2014; SMITH, 2018).

2.1 AS EMAS (*Rhea americana*)

As emas têm sido criadas em cativeiro na América do Sul e do Norte por causa da sua carne de ótima qualidade, couro, ovos e penas (DANI et al., 1993). Além disso, a gordura das emas também é tradicionalmente utilizada em certas regiões da América do Sul para a

fabricação de produtos medicinais (AGNOLIN et al., 2016). Embora ocorram naturalmente em países da América do Sul, nos Estados Unidos existem criatórios de emas com até 15 mil aves. Também existem fazendas na Alemanha, Portugal e Reino Unido, onde a carne da ema é considerada uma iguaria (KENNY COOGAN, 2021). No Brasil, criadores de ratitas se popularizaram nos anos 2000, porém os criadores não receberam suporte técnico suficiente para manter suas criações e lidar com a espécie. Por ser uma espécie silvestre, a criação de emas é regulada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama). O manejo correto em criatórios comerciais, voltado à pesquisa ou ornamentais, é essencial para manter a saúde da espécie.

Figura 2: O Ñandú na Via Láctea.



Fonte: Fefo Bouvier, delineamento por Alfonso Rosso, in NASA, 2023.

2.1.1 Classificação e distribuição

As emas são aves que estão atualmente inseridas, como outras ratitas, na Infraclasse *Palaeognathae*, cujos membros incluem avestruzes (*Struthio camelus*), emus (*Dromaius novaehollandiae*), casuares (*Casuarius casuarius*) e kiwis (*Apteryx australis*). As emas estão inseridas na Ordem *Rheiformes*, família *Rheidae* e gênero *Rhea*, juntamente ao Nandu-de- Darwin (*Rhea pennata*), sendo ambas as espécies sul-americanas (AGNOLIN et al., 2016). Estas aves diferenciam-se

das *Neognathae* devido à ausência do esterno com quilha e conformações de ossos no crânio. Fatores que influenciam a capacidade de voo das emas incluem: ausência de quilha no esterno para a inserção de musculatura peitoral, asas pouco desenvolvidas e modificações na cintura torácica, como clavículas vestigiais ou rudimentares em comparação às aves voadoras (SMITH, 2018).

As emas (*R. americana*) apresentam 5 subespécies (tabela 1) (GILL; DONSKER; RASMUSSEN, 2024). No Brasil, são observadas predominantemente nos biomas cerrado, caatinga e pampa.

Tabela 1: Distribuição das subespécies de ema (*Rhea americana*) na América do Sul.

Subespécies	Distribuição
<i>Rhea americana americana</i> (Linnaeus, 1758)	Pará, Maranhão, Piauí, Tocantins Paraíba, Pernambuco, Bahia
<i>Rhea americana albescens</i> (Lynch & Holmberg, 1878)	Argentina Planícies e Patagônia
<i>Rhea americana araneipes</i> (Brodkorb, 1938)	Brasil: Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás Leste da Bolívia e Oeste do Paraguai
<i>Rhea americana intermedia</i> (Rothschild & Chubb, 1914)	Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná Uruguai
<i>Rhea americana nobilis</i> (Brodkorb, 1939)	Leste do Paraguai

Fonte: de autoria própria.

Figura 2: Distribuição da ema (*Rhea americana*) no território brasileiro através de observação e registro na página WikiAves.



Fonte: WikiAves, 2024.

2.1.2 Características biológicas

As emas são grandes aves terrestres com cabeças pequenas recobertas por penas finas e pontiagudas, um longo pescoço com penas curtas e um bico achatado, largo na base e arredondado na ponta. O corpo é volumoso com a plumagem de coloração acinzentada, o que permite a camuflagem com o ambiente. Possuem três dígitos plantares, com unhas bem desenvolvidas. Possuem a visão e a audição aguçadas. Como os outros ratitas, não voam, mas podem atingir velocidades de até 60 km/h ao correrem. Para fugir de predadores, corre de maneira errática, em “zigue-zague”, utilizando as asas para mudar rapidamente de direção. Podem chegar a 1,70 metros e pesar 45 quilos. São aves de hábitos diurnos e costumam seguir a mesma rotina diariamente, vivem em bando na natureza, em áreas abertas providas de pastos e arbustos, como o cerrado e a caatinga. Suas asas também são utilizadas para corte reprodutiva e termorregulação (AGNOLIN et al., 2016).

Em relação ao dimorfismo sexual, geralmente os machos são maiores e possuem penas mais escuras na base do pescoço. Os filhotes apresentam coloração cinza-amarronzada até o primeiro ano de vida. A reprodução das emas é polígama, poligínica e poliândrica, ou seja, no período reprodutivo, o macho dominante acasala com mais de uma fêmea, corteja, realiza a construção do ninho, faz a incubação dos ovos e depois segue a criação dos filhotes. As fêmeas, por sua vez, após realizarem a postura, seguem ao cortejo por um outro macho (DANI et al., 1993). Alimentam-se majoritariamente de gramíneas e leguminosas, bem como sementes, frutos, insetos e pequenos animais, sendo consideradas onívoras. Auxiliam inclusive no controle de pragas nas plantações ao alimentarem-se de insetos e lagartos (AGNOLIN et al., 2016).

2.1.3 Potencial zootécnico

Esta espécie constituiu um importante item na alimentação de diversos povos originários da América do Sul e suas penas estão presentes também como adornos em várias etnias. Existem relatos da exportação de 11 mil quilos de penas da Argentina para a Espanha em 1796 (AGNOLIN et al., 2016).

A criação comercial da espécie envolve principalmente animais para implementar uma nova genética em outras criações ou para formar novos plantéis. Como subprodutos, há grande potencial na carne, couro, penas, cascas de ovos vazias, gordura e membros completos (com pele, dígitos e unhas). A carne da ema é vermelha, possui pouco percentual de gordura e com uma alta proporção de ácidos graxos poliinsaturados, como ômega-3 e 6. Os ovos também são indicados para consumo e cada ovo chega a 600 gramas. As peles de ema têm alto valor no

mercado devido ao fato de serem resistentes, flexíveis e macias. A gordura proveniente da espécie é bastante utilizada para cosméticos e produtos medicinais (AGNOLIN et al., 2016).

2.1.4 Importância ecológica

As emas atuam como importantes dispersores de sementes que auxiliam a manter a vegetação da qual se alimentam. Na patagônia, além de auxiliarem na manutenção dos pastos, são consideradas essenciais para o ecossistema também como parte da cadeia alimentar e para o controle das espécies de insetos que podem prejudicar os campos (TOMPKINS CONSERVATION CHILE, 2021). No Brasil, atuam como espécie bandeira do Pampa, ou seja, é uma espécie de importância para a conservação deste bioma brasileiro (LUZA et al., 2023).

2.2 AMEAÇA DE EXTINÇÃO

No Brasil, as emas de vida livre são majoritariamente avistadas no Cerrado, em municípios com número reduzido de habitantes. A megafauna brasileira tem um importante papel ecológico e são muito importantes para o ecossistema (TUBELIS, 2023). Emas são afetadas pela conversão do seu habitat natural em áreas de pasto e pecuária, pois esse tipo de exploração do habitat destrói seus ninhos e diminui a quantidade e qualidade da vegetação que as emas utilizam (B.P. DE MIRANDA, 2021).

A convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites) regula o comércio de espécies como forma de prevenir a extinção, principalmente quando uma das ameaças é o comércio internacional. Existem quase 6 mil espécies animais protegidas pela Cites a fim de evitar o excesso de exploração. As emas estão incluídas no Apêndice II, ou seja, é uma espécie que tem risco de chegar à situação de perigo de extinção devido ao desmatamento da área que ela ocupa e ao comércio internacional exacerbado (IBAMA, 2022).

Em 2022, do total de desmatamento por biomas no Brasil, o Pampa teve um aumento de 27,2% de área desmatada em relação ao ano anterior, e o Cerrado teve 659.670 hectares desmatados. A Caatinga apresentou 18,4% de alertas sobre eventos de desmatamento e 140.637 hectares desmatados. A agropecuária representou 95,7% do total de área desmatada no Brasil em 2022, ou seja, é o maior supressor de vegetação nativa (MAPBIOMAS, 2023). Tratores frequentemente destroem ninhos de emas ao passarem por regiões onde a espécie se reproduz (TUBELIS, 2023).

2.3 DOENÇAS DAS EMAS (*Rhea americana*)

As emas estão susceptíveis a diversas doenças, tanto infecciosas quando não-infecciosas. O manejo sanitário em cativeiro é um fator importante para a manutenção da saúde da espécie, bem como a nutrição, já que a exploração comercial pode aumentar o risco de doenças infecciosas devido a maior densidade animal. A exposição a agentes como vírus, bactérias, fungos e parasitas afeta a saúde tanto dos animais de vida livre quando de animais em zoológicos ou em condições de produção (AGNOLIN et al., 2016). Existem também relatos em ratitas de doenças relacionadas à infecção umbilical, ingestão de corpos estranhos e rotação tibiotarsal (LOVATO; SANTOS, 2014).

2.3.1 Doenças infecciosas

2.3.1.1 Doenças virais

2.3.1.1.1. Doença de Newcastle

A Doença de Newcastle é causada por cepas virulentas do paramixovírus aviário tipo 1, um vírus RNA, fita simples, polaridade negativa, envelopado, pleomórficos, da família *Paramyxoviridae*, altamente contagioso e letal (OIE, 2013). O vírus já foi isolado em mais de 200 espécies aviárias. A transmissão é feita por contato direto e indireto, aerossóis ou fômites (FLORES, 2007). Tanto as aves silvestres quanto as mantidas em cativeiro estão expostas e são susceptíveis, mas a exposição dos animais em cativeiro pode ser maior devido à densidade animal, e isto ocasiona alta morbidade e mortalidade, dependendo da cepa do vírus envolvida na infecção (AGNOLIN et al., 2016).

A virulência é determinada pela presença de proteases com diversos aminoácidos básicos capazes de clivar a glicoproteína F. Quanto maior a quantidade de tecidos nos quais a glicoproteína F pode ser clivada, maior a virulência da cepa viral. Vírus com cepas menos virulentas são clivadas apenas por um aminoácido, desta forma se tornam restritos a tecidos como os do trato respiratório (FLORES, 2007).

Estas cepas são classificadas em lentogênicas, mesogênicas e velogênicas. A infecção por cepas lentogênicas é geralmente mais branda, com sinais clínicos respiratórios leves ou subclínicos. Os sinais apresentados por infecções por cepas mesogênicas também são respiratórios e, por vezes, neurológicos, porém com baixa taxa de mortalidade. Já cepas velogênicas apresentam efeitos mais deletérios para as aves, sendo altamente patogênicas. Em

animais infectados por cepas velogênicas viscerotrópicas, observam-se lesões hemorrágicas intestinais. Já a cepa velogênica neurotrópica, além de alta mortalidade, leva a sinais clínicos neurológicos e respiratórios (OIE, 2013). Algumas aves, quando infectadas, não apresentam sinais clínicos graves, se recuperam e tornam-se portadoras do vírus. Os sinais neurológicos podem ser gradativos, bem como os respiratórios, até o óbito (LOVATO; SANTOS, 2014). Os sinais clínicos também podem ser digestórios ou respiratórios (OIE, 2013).

Em emas, houve relato da doença no Brasil em 1975, em um surto que envolveu aves jovens das quais 25% morreram após apresentarem sinais neurológicos e respiratórios. As aves apresentaram anorexia, diarreia, secreção nasal, espirros, incoordenação, dificuldade de locomoção, preensão do alimento, entre outros. Macroscopicamente, 66% das aves encaminhadas para necropsia apresentaram hemorragia no proventrículo e ventrículo, fígado amarelado e friável, onfalite e retenção da gema, além de enterite hemorrágica. As lesões eram congestivas, hemorrágicas, degenerativas e infiltrativas (NUNES et al., 1975).

O diagnóstico definitivo da doença de Newcastle é realizado através do isolamento e identificação do vírus visto que outras doenças, como Influenza aviária, Bronquite infecciosa, Laringotraqueíte Infecciosa Aviária, doença de Gumboro e outras, são diagnósticos diferenciais e apresentam sinais clínicos semelhantes. Qualquer caso suspeito de doença de Newcastle é de notificação obrigatória ao sistema de vigilância brasileiro (DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL, 2020). O controle e a profilaxia da doença são feitos através de vacinação com vacinas atenuadas e inativadas, medidas de biossegurança, monitoramento sistemático e contínuo da sanidade das espécies aviárias em condições de risco, como as de plantéis avícolas.

2.3.1.1.2 Influenza aviária

Influenzavirus A é um vírus RNA da família Orthomyxoviridae, de fita simples segmentada, polaridade negativa, e envelopado, encontrado mundialmente, no entanto, não existem relatos de influenza aviária em emas no Brasil. No exterior do envelope deste vírus estão as glicoproteínas hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA) (FLORES, 2007). A função da hemaglutinina na infecção é aderir em células-alvo e aglutinar hemácias. Além disso, esta glicoproteína, assim como a neuraminidase, possui antígenos que variam constantemente, dificultando a resposta imunológica (IBIAPINA; COSTA; FARIA, 2005). Os rearranjos provenientes da infecção e multiplicação de diferentes variedades deste vírus em células hospedeiras gera novas variedades genéticas que são potencialmente letais (FLORES, 2007). Os subtipos mais patogênicos estão associados às proteínas virais hemaglutinina H5 ou H7, no entanto, muitos isolados possuem antígenos de baixa patogenicidade. A Influenza Aviária de

Alta Patogenicidade apresenta-se com altas taxas de mortalidade e mortes súbitas, sem sinais clínicos prévios. As aves acometidas podem apresentar cianose, depressão, sinais respiratórios e neurológicos. Na necropsia, verifica-se edema, congestão, hemorragia e necrose em diversos órgãos. Já a Influenza de Baixa Patogenicidade é mantida de forma subclínica em aves silvestres (MAPA, 2023).

Os subtipos H5N2 e H7N1 foram isolados em emas no Texas e na Carolina do Norte. Todas as aves tinham histórico de afecção respiratória. Além disso, foram encontrados anticorpos para todos os subtipos de hemaglutinina, exceto H10, H13 e H14, e para os nove subtipos de neuraminidase em emas e emus nos Estados Unidos da América. As emas encaminhadas para a necropsia apresentaram previamente tosse e apatia. Lesões macroscópicas incluíram sinusite com exsudato caseoso, hiperemia da mucosa traqueal, pneumopatia e aerossaculite fibrinocaseosa (PANIGRAHY; SENNE; PEARSON, 1995).

Os sinais clínicos da influenza aviária podem ser inespecíficos, como apatia e fezes esverdeadas, mas as aves afetadas podem apresentar fezes hemorrágicas, conjuntivite purulenta, secreção nasal e estão relacionados geralmente com infecções secundárias concomitantes, condições de manejo e a virulência (AGNOLIN et al., 2016; LOVATO; SANTOS, 2014). O vírus já foi isolado de diversas espécies domésticas e silvestres. As aves aquáticas são importantes reservatórios do vírus. Em emas, vírus de baixa patogenicidade produziram sinusite, bronquite e pneumonia com necrose do epitélio respiratório (Swayne et al., 2020).

Como medidas em casos de investigação de casos suspeitos estão a colheita e encaminhamento de amostras para o Laboratório de Defesa Agropecuária de Campinas, interdição da unidade investigada, investigação da epidemiologia e até mesmo o abate do lote suspeito, caso seja avaliado e aprovado pelo Serviço Veterinário Oficial. Em casos de focos identificados de influenza aviária, são eliminados todos os animais susceptíveis na unidade, destruição de carcaças, produtos e subprodutos, resíduos. É preconizado o vazio sanitário, aplicação de medidas de biossegurança e comprovação de ausência do vírus na propriedade. É uma doença de notificação imediata em qualquer caso suspeito (MAPA, 2023).

2.3.1.1.3 Boubas aviárias

Os vírus do gênero *Avipoxvirus* apresentam DNA grande e são os mais complexos da família *Poxviridae*. Causam doenças em mais de 200 espécies de aves. A infecção causada por estes vírus do gênero *Avipoxvirus* em aves é chamado de boubas ou difteria aviária. Esta doença está presente em todo o mundo, em aves domésticas, pet e selvagens (DELHON, 2022).

Transmitida por mosquitos, ectoparasitas ou contato direto, pode ocorrer em ratitas principalmente se houver proximidade com a criação de espécies comerciais (LOVATO; SANTOS, 2014). Na Argentina, foi feito um estudo sorológico em busca de anticorpos contra a boubá aviária em 22 emas adultas de vida livre, mas o vírus não foi identificado (Uhart et al., 2006). A doença foi reportada em emas na Espanha (VOGELSANG, 1938). No Brasil, não existem relatos de boubá aviária em emas.

A doença tem duas apresentações: a cutânea, com lesões nodulares na epiderme, e a diftérica, cujas lesões inflamatórias são encontradas na mucosa oral, formando placas fibrinosas. Nas lesões microscópicas, são observados hiperplasia da epiderme e degeneração de queratinócitos com corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos (Bollinger) (DELHON, 2022). A prevenção consiste no controle de ectoparasitas e mosquitos. Não existem vacinas para emas contra a boubá aviária aprovadas pelo Governo Brasileiro. É importante evitar que as criações de emas tenham proximidade com criações de galinhas e perus (LOVATO; SANTOS, 2014).

2.3.1.1.4 Encefalomielite Equina do Oeste

A Encefalomielite Equina do Oeste é causada por um vírus do gênero *Alphavirus*, da família *Togaviridae*, considerado predominantemente uma arbovirose, é transmitida através de mosquitos do gênero *Culex*. Em aves, a doença é caracterizada pela ocorrência de encefalite com paralisia de membros, torcicolo e tremores. Estima-se que aves selvagens, apesar de apresentarem raramente sinais clínicos da doença, agem como reservatórios vertebrados para o vírus (CHASE, 2022). Existe um relato de surto de Encefalomielite Equina do Oeste em emas nos Estados Unidos da América em 1995, mas não há relatos no Brasil. O diagnóstico foi feito baseado na soroconversão e resposta à vacinação. Os sinais clínicos foram em sua maioria inespecíficos, incluindo anorexia, sonolência, apatia, ataxia, hiperventilação e fezes amolecidas. 22 aves de um total de 90 morreram e pelo menos 30 apresentaram sinais mais leves e se recuperaram. Os achados macroscópicos incluíram uma discreta hepato e esplenomegalia. Microscopicamente, foi identificada pericolangite subaguda multifocal leve, leucocitose difusa em sinusoides hepáticos e plasmocitose e histiocitose moderadas difusas no baço (Smith, 2018).

2.3.1.1.5 Picobirnavirose

O picobirnavírus é um vírus RNA encontrado em diversas espécies, inclusive em humanos e outros vertebrados, em fezes normais e diarreicas. Inicialmente, pensava-se que este

vírus teria alguma relação com gastroenterite e diarreia, porém considera-se também a possibilidade de a infecção ser persistente, sem sinais clínicos (KENNEDY; REYNOLDS, 2022). A atividade viral pode ser influenciada por estados imunológicos, estresse contínuo, doenças concomitantes, idade e condições ambientais, ou seja, não se pode descartar que seja um patógeno oportunista (KENNEDY; REYNOLDS, 2022; MASACHESSI et al., 2012). Em Córdoba, na Argentina, foi realizado um estudo para determinar o modelo de infecção do picobirnavírus em uma criação de emas. Foram feitas análises de fezes que evidenciaram a infecção persistente nos hospedeiros, com períodos de atividade viral alta, baixa e silenciosa. Nenhuma das emas no experimento apresentou diarreia ou morreu durante o estudo. Aves assintomáticas infectadas com o vírus podem excretar o vírus de forma persistente, contribuindo com a permanência do vírus no ambiente (MASACHESSI et al., 2012).

2.3.1.1.6 Outras Arboviroses

As arboviroses são doenças virais transmitidas por artrópodes, como mosquitos e carrapatos. Algumas dessas doenças são emergentes, enquanto outras são endêmicas e estão bem estabelecidas em vários locais do mundo. Entre as arboviroses mais importantes, encontram-se as causadas por vírus da família *Flaviviridae*, como o vírus Usutu (USUV), que pertence ao serocomplexo de encefalite japonesa que apresenta patogenicidade em humanos e é similar ao vírus do Nilo Ocidental (WNV), o vírus tem como vetores mosquitos do gênero *Culex* e utiliza aves silvestres como espécies amplificadoras. Aves silvestres atuam como ponto central na epidemiologia dos flavivírus pois são hospedeiros que amplificam a infecção nos ambientes naturais. Em um estudo conduzido no zoológico de Montpellier, na França, 10/21 emas tiveram 46,7% de soroprevalência de anticorpos contra o vírus Usutu, porém sem uma infecção viral aguda confirmada através de RT-PCR. No estudo, foi teorizado esta alta soroprevalência devido à alta susceptibilidade ao flavivírus ou devido ao tamanho da ave e, consequentemente, uma maior taxa de repasto sanguíneo por vetores (CONSTANT et al., 2020).

2.3.1.2 Doenças bacterianas

As infecções bacterianas podem afetar as emas independentemente da idade, inclusive no período de incubação dos ovos. O estado imunológico dos animais, bem como as condições ambientais são fatores importantes para a susceptibilidade às infecções causadas por bactérias (AGNOLIN et al., 2016).

2.3.1.2.1 Rinite/sinusite bacteriana

A sinusite e a rinite em aves são comumente associadas a fatores nutricionais, como a hipovitaminose A, infecções bacterianas e fúngicas, baixa umidade no ambiente, agentes irritantes para a mucosa e infecções virais ou devido a protozoários. Uma ema apresentou aumento de volume no seio infraorbital direito e conjuntivite, após pouca resposta ao tratamento inicial, uma tomografia computadorizada do crânio foi realizada e observou-se uma massa extensiva com destruição de alguns ossos do crânio. Após remoção cirúrgica da massa, resultados microbiológicos evidenciaram a presença de *Escherichia coli* multirresistente, além disso, também *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter cloacae*. A ave passou por tratamento com Amicacina e obteve melhora clínica (MEYER; PHAIR; WEST, 2016).

2.3.1.2.2 Colibacilose

Escherichia coli foi encontrada em uma ema com histórico de emagrecimento progressivo. Na necropsia, foi evidenciado hidropericárdio e enterite necrohemorrágica fibrinosa no intestino delgado (LACERDA, 2022). Em outro estudo, 82 amostras de cloaca, orofaringe e fezes foram coletadas de emas no Sudeste e destas, 86 cepas de *E. coli* foram isoladas. 30,23% destas apresentaram resistência intermediária a antibióticos. As bactérias foram classificadas como enteropatogênicas atípicas após genotipagem através de PCR. Este estudo demonstrou que a espécie é capaz de albergar microrganismos patogênicos de interesse para a Saúde Única, visto que pode afetar tanto outras espécies animais quanto seres humanos, além de apresentarem resistência contra antimicrobianos (PINTO; CORRÊA; VIEIRA-DAMOTTA, 2015).

2.3.1.2.3 Mannheimiose

Em 2009, 30 emas foram encaminhadas para o Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido no Rio Grande do Norte. As aves apresentaram dispneia, diarreia, penas eriçadas, decúbito ventral prolongado e evoluíram para a morte. A bactéria *Mannheimia haemolytica*, um bacilo gram-negativo, hemolítico e oportunista, foi identificada após a necropsia. Os achados macroscópicos e histopatológicos foram similares aos de ruminantes afetados por este microrganismo, principalmente edema pulmonar, pneumonia com deposição de fibrina e hemorragia, entre outros achados (ANTUNES et al., 2016).

2.3.1.2.4 Tuberculose aviária

A tuberculose aviária está relacionada ao complexo *Mycobacterium avium*, que inclui: *Mycobacterium avium avium*, *M. silvaticum*, *M. homissuis*, *M. avium paratuberculosis*, *M. colombiense* e *M. intracellulare*. A doença está presente em animais silvestres, pets, aves selvagens em zoológicos e criações. Em ratitas, as infecções por micobactérias são raras e já foram descritas (locais) (CASTRO-RAMOS et al., 2014; CONVERSE, 2007; SANFORD; REHMTULLA; JOSEPHSON, 1994). No Canadá, duas emas de fazendas distintas apresentaram casos de tuberculose aviária. A primeira ema, apresentou letargia, anorexia e diminuição de escore corporal. Na necropsia, havia atrofia serosa do tecido adiposo e aumento do fígado com múltiplos granulomas necróticos amarelados. Nódulos também foram encontrados no baço e no pulmão. A segunda ema, apresentou caquexia, e granulomas bilaterais no tecido subcutâneo próximo à escápula. Também foram encontrados granulomas no fígado e no baço. Após coloração com Ziehl-Neelsen, foram visualizados diversos bacilos álcool-ácido resistentes (SANFORD; REHMTULLA; JOSEPHSON, 1994). De um abatedouro no Uruguai, 262 amostras de emas foram inspecionadas e foram encontradas lesões granulomatosas em 72 das amostras e, todavia, foi isolada micobactéria em 24 órgãos sem lesões aparentes. *M. avium avium* foi isolado em 77 amostras, *M. intracellulare* em 1 amostra e *M. vaccae*, uma cepa de rápido crescimento, em 1 tecido. Este estudo demonstra a importância de avaliar a saúde de aves em abatedouros (CASTRO-RAMOS et al., 2014).

2.3.1.2.5 Brachyspirose

Brachyspira spp. é uma espiroqueta anaeróbica conhecida por causar tiflocolite pseudomembranosa necrotizante em emas nos Estados Unidos. As lesões são caracterizadas pela presença do microrganismo no ceco e, ocasionalmente, no reto, que resulta em altas taxas de mortalidade em aves acometidas. A tiflite fibrinosa e necrótica causada por esta bactéria é frequentemente relatada como causa de morte de emas jovens (MCFADZEAN et al., 2021; SMITH, 2018).

2.3.1.2.6 Clamidiose

A *Chlamydia psittaci* é bastante disseminada entre espécies aviárias, causando a clamidiose aviária, psitacose, febre dos papagaios ou ornitose. É uma importante causa de doença sistêmica nas aves. A gravidade da clamidiose dependerá principalmente da estirpe envolvida na infecção e da espécie afetada, taxa de exposição, fatores de estresse, idade, presença ou ausência de tratamento e profilaxia (GANTA, 2022). A clamidiose pode ser assintomática, aguda, subaguda ou crônica. Foram encontrados anticorpos para espécies de

Chlamydia em emas de vida livre, porém com baixa titulação, o que sugere que as emas foram expostas ao patógeno, mas não foram infectadas (UHART et al., 2006). Houve relatos de sinais clínicos típicos da clamidiose em emas, como conjuntivite, esplenomegalia e morte súbita (HUCHZERMEYER, 2005; UHART et al., 2006), mas nenhum relato em território brasileiro.

2.3.1.2.7 *Campylobacteriose*

Campylobacter jejuni foi isolada de uma ema com 3 meses de idade no Texas, Estados Unidos. Após o exame de necropsia, foram constatadas lesões multifocais necrotizantes e granulomatosas no fígado (POST et al., 1992).

2.3.1.2.8 *Micoplasmose*

Em emas com sinais respiratórios crônicos sugestivos de micoplasmose, foi isolado o *Mycoplasma synoviae*. As emas, assim como os avestruzes, aparentam ser bastante sensíveis aos micoplasmas aviários, deste modo, sugere-se que seus criatórios não tenham galinhas como contactantes (HUCHZERMEYER, 2005; WISSMAN; PARSONS, 1996).

2.3.1.2.9 *Salmonelose*

Em um estudo visando avaliar a saúde de ratitas no Brasil, foram realizadas pesquisas de anticorpos em 80 amostras de soro de emas. As amostras foram testadas para a presença de anticorpos para o vírus da Doença de Newcastle, *Chlamydia psittaci*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* e *Salmonella Pullorum*. As 80 amostras de soro foram negativas para a maioria dos patógenos, porém 2 foram positivas para *Salmonella Pullorum*, o que pode indicar a presença da salmonelose em criações de emas (FREITAS NETO et al., 2009).

2.3.1.3 Doenças fúngicas

2.3.1.3.1 *Aspergilose*

A aspergilose já foi relatada em emas no Brasil e afetou 50 aves. As emas morreram subitamente e apenas uma foi encaminhada para o exame necroscópico. Nos pulmões, 95% do parênquima estava preenchido por nódulos brancacentos caseosos de 0.5 mm de diâmetro. Estes nódulos foram submetidos à análise histopatológica e micológica, nos quais foram identificadas

hifas fúngicas e *Aspergillus fumigatus* na cultura (COPETTI et al., 2004). Em um outro relato sobre pneumonia fúngica causada por *A. fumigatus* em ema, temos uma ave de 5 meses que apresentou letargia, perda de peso e fraqueza progressiva que culminou em sua morte. Esta ema também apresentou lesões nodulares granulomatosas nos pulmões (REISSIG et al., 2002).

2.3.1.3.2 Candidíase

Um estudo isolou espécies de *Candida* do trato gastrointestinal de emas criadas no Nordeste do Brasil e verificaram que alguns isolados foram resistentes ao fluconazol e ao itraconazol, demonstrando que emas clinicamente saudáveis podem carrear e disseminar no ambiente espécies patogênicas e resistentes de *Candida* (BRILHANTE et al., 2013).

2.3.1.3.3 Macrorabdirose

Causada pelo fungo oomiceto anamórfico *Macrorhabdus ornithogaster*, a megabacteriose, afeta principalmente o proventrículo e ventrículo de aves silvestres e domésticas. A mortalidade pode chegar a 100% e está associada a uma síndrome clínica de falha de crescimento e emaciação progressiva, apesar de apetite presente. As lesões macroscópicas incluem baixo escore corporal, dilatação de proventrículo, quantidade reduzida de alimento no trato gastrointestinal e, em alguns casos, úlceras na mucosa do proventrículo e ventrículo. A megabactéria pode ser visualizada nas fezes ou raspados do proventrículo ou ventrículo. É possível visualizar os microrganismos histologicamente na membrana coílina com infiltrado inflamatório leve a moderado associado (SMITH, 2018). Em emas, foi relatada no Rio Grande do Sul, quando oito filhotes de uma criação comercial que morreram após emagrecimento progressivo, fraqueza e atraso no crescimento. 4 delas apresentaram lesões orais e intestinais, como conteúdo alimentar não-digerido e úlceras na membrana coílina do ventrículo. Estes animais tiveram diagnóstico positivo para megabacteriose (SEGABINAZI et al., 2004).

2.3.1.4 Doenças parasitárias

2.3.1.4.1 Filofteralmíase

A filofteralmíase é uma doença ocular zoonótica que afeta principalmente aves domésticas e silvestres causada por um trematódeo, *Philophthalmus gralli*. O ciclo de vida destes parasitas começa quando ovos embrionados do trematódeo nos olhos do hospedeiro definitivo entra em contato com a água. Uma vez imersos na água, os miracídeos são ingeridos por caramujos, o

hospedeiro intermediário. As cercárias são liberadas por estes hospedeiros e se aderem à vegetação aquática, encistam e se tornam metacercárias. Quando a ave ingere esta vegetação, se torna infectada e as metacercárias migram do trato gastrointestinal para a superfície bulbar da terceira pálpebra (CHURCH et al., 2013).

Outra forma de infecção seria o contato direto com a água contaminada. Os parasitas adultos aderem à conjuntiva e nutrem-se de secreções lacrimais. Os trematódeos também vivem na órbita das aves, sendo encontrados por todo o mundo em habitats marinhos e de água doce. As infecções por *P. gralli* já foram relatadas em avestruzes e emas.

O diagnóstico é feito a partir dos sinais clínicos de conjuntivite, blefarospasmo e exame oftálmico com lâmpada de fenda. Nos EUA, um surto deste parasita foi identificado nos olhos de 4 emas adultas. Inicialmente, apenas uma das aves apresentou blefarospasmo e hiperemia conjuntival, mas em 2 meses, as outras estavam com os mesmos sinais clínicos (CHURCH et al., 2013).

O tratamento inclui a remoção mecânica dos parasitas e aplicação tópica de antiparasitários. Para evitar infecções e reinfecções, deve-se eliminar populações de caramujos ou realocar os animais para ambientes que não tenham fonte de água natural.

2.3.1.4.2 Fasciolíase

Ovos de *Fasciola hepatica* foram encontrados em emas abatidas para consumo humano. As lesões no fígado causadas pela migração das larvas eram similares às observadas em bovinos e ovinos. Quando se investigou a origem destes animais, observou-se que eram provenientes de uma área endêmica de fasciolose bovina no Brasil. Também foram encontrados ovos de *F. hepatica* em amostras fecais de emas de vida livre de outra área endêmica (SOARES et al., 2007).

2.3.1.4.3 Parasitoses intestinais

Nove espécies de helmintos e dois cestóides foram identificadas de emas de vida livre e mantidas em cativeiro: *Sicarius uncinipenis*, *Torquatooides crotophaga*, *Deletrocephalus dimidiatus*, *D. cesarpintoi*, *Paradeletrocephalus minor*, *Capillaria venteli*, *Dicheilonema rhaeae*, *Houttuynia struthionis* e *Chapmania tauricolis*, respectivamente. O parasita *S. uncinipenis* foi observado entre a membrana coílina e a mucosa do ventrículo, e o mais prevalente em aves de

cativeiro. Em aves de vida livre, este parasita foi menos comum. Os mais encontrados foram os da família Deletocephalidae: *P. minor* e *D. dimidiatus*, espécies consideradas de importância pois são hematófagas e podem levar à quadros de anemia quando em altas quantidades. Também se considerou a existência de contaminação cruzada com outras espécies de aves, já que *C. venteli* e *T. crotophaga* nunca haviam sido relatadas em emas (ZETTERMANN et al., 2005). Outros casos de ventriculite relatados em emas evidenciaram a presença de *Sicarius uncinipenis* e *Deletocephalus cesarpintoi* em Minas Gerais (AVELAR et al., 2014). Um protozoário ameboide, a *Histomonas meleagridis* causa tiflite necrótica severa, peritonite localizada e necrose focal no fígado. Em um caso relatado no Canadá, as emas apresentaram apatia, inapetência e diarreia amarelada e morreram em três a cinco dias após o início dos sinais clínicos. Macroscopicamente, a ave teve tiflite severa com grandes quantidades de necrose no lúmen cecal. Também houve ulceração transmural e peritonite localizada. Histologicamente, havia um infiltrado inflamatório heterofílico no ceco e áreas multifocais de necrose hepática com *Histomonas* próximas às periferias das lesões (MCMILLAN; ZELLEN, 1991; SMITH, 2018).

2.3.2 Doenças não-infecciosas

Emas podem ser acometidas por diversas desordens não-infecciosas. Um estudo avaliou 105 filhotes de ema nascidos em Brasília até os 90 dias de vida para avaliar quais as doenças mais prevalentes nas aves. O que mais afetou as aves foi: hipotermia, impactação gastrointestinal devido à corpo estranho, alterações em saco vitelino, impactação alimentar, desnutrição, deformidades congênitas, perfuração estomacal, predação e fraturas (SOBOLL, 2007).

Doenças nutricionais acontecem quando há deficiência de certos minerais e vitaminas na dieta das aves, principalmente filhotes e fêmeas em postura. O desenvolvimento do filhote depende muito do estado nutricional dos genitores. Uma má nutrição durante a fase reprodutiva e de postura pode resultar em mortalidade embrionária, baixa taxa de sucesso na eclosão e morte precoce de filhotes (LOVATO; SANTOS, 2014). O raquitismo já foi diagnosticado em emas nos Estados Unidos da América, no estado de Ohio. As aves apresentaram hipofosfatemia severa e leve hipocalcemia. Macroscopicamente, apresentaram ossos maleáveis com deformações em valgo e varo do fêmur e tibiotarso. Além disso, espessamento das placas metafisárias e fraturas frequentes. Na histopatologia, os ossos das aves raquíticas apresentaram retenção dos centros cartilagosos nas placas de crescimento. O alimento fornecido a estas aves contribuiu para o raquitismo, pois a relação entre cálcio e fósforo era (1.38/4.32) (GRÖNE; SWAYNE; NAGODE, 1995).

A intoxicação por monensina não é frequentemente relatada em aves. Um trabalho descreveu um surto de intoxicação que afetou diversas espécies de aves, inclusive duas emas que apresentaram falta de coordenação, incapacidade de se manterem em estação e prostração que evoluiu para a morte das duas entre 24-72 horas (PIVA et al., 2024). Em outro caso de intoxicação, um surto de aflatoxicose aguda afetou emas que haviam sido expostas à ração comercial contaminada com as aflatoxinas B1, B2 e G1. As emas tiveram diarreia, problemas respiratórios, palidez de mucosa oral, hiporexia e sinais neurológicos, bem como depressão, tremores musculares, incoordenação, ataxia e prostração. Os animais morreram em 48 horas após o início dos sinais clínicos (SOUSA JÚNIOR et al., 2022).

3 **CAPÍTULO I - GANGRENOUS DERMATITIS AND CELLULITIS IN GREATER RHEA (*Rhea americana*): a case report**

(Artigo submetido ao Periódico **Journal of Comparative Pathology**)

3.1 ABSTRACT

Clostridial dermatitis is often observed in commercial avian species, mostly associated with *Clostridium septicum* and *C. perfringens* type A, characterized by cutaneous lesions, inflammation and necrosis of adjacent subcutaneous tissue and muscle fibers, that leads to an increased mortality rate. However, this disease has not been described in ratites. The Greater Rhea (*Rhea americana*) is a South American ratite bird, and it is currently listed as Near Threatened in The IUCN Red List of Threatened Species. This article reports the pathological, microbiological, and molecular aspects of a case of gangrenous dermatitis in an adult female Greater Rhea caused by an association of *Clostridium perfringens* type A, *C. chauvoei* and *C. septicum*, which resulted in its death by extensive lesions and toxemia.

Keywords: clostridial dermatitis, ratites, *Clostridium* spp., toxemia.

3.2 INTRODUCTION

Clostridial dermatitis, or gangrenous dermatitis, in avian species, especially in broiler chickens, is often caused by *Clostridium septicum* and *C. perfringens* type A. It usually happens in the commercial industry when there are infectious and/or suppressive factors that impact the immune response of birds (GORNATTI-CHURRIA et al., 2018). Wounds infections, septicemia or contamination by other bacteria may also be present (BARNES; ABDUL-AZIZ; FLETCHER, 2016). In chickens and turkeys, affected animals become depressed, eat less, are progressively weaker, that is, when they do not succumb to death acutely (GORNATTI- CHURRIA et al., 2018; SWAYNE et al., 2020). Resulting lesions of the underlying muscles are called gangrenous myositis, and usually fibers closer to the affected skin are more severely damaged (BARNES; ABDUL-AZIZ; FLETCHER, 2016). In cattle and other mammals, clostridial myonecrosis is caused by at least five known species of *Clostridium* (*C. septicum*, *C. chauvoei*, *C. novyi* type A, *C. sordellii* and *C. perfringens* type A) and it is related to trauma, surgery and penetrating wounds that injure muscle fibers (THOMPSON; GOODRICH, 2018), causing necrotic myositis, systemic toxemia, malignant edema and enterotoxemia (DELAY et al., 2019; FIELD, 2022;

VALBERG, 2022).

Dermatitis caused by clostridial bacteria in avian species is acute and, as the damage spreads, a local infection evolves to a systemic one which can escalate to death by toxemia if not treated accordingly (BARNES; ABDUL-AZIZ; FLETCHER, 2016; BROOK, 2004; SWAYNE et al., 2020). Although in acute lesions there are minimal to absent inflammatory cells, microscopically, lesions present a large number of bacteria, severe congestion, hemorrhage, necrosis, edema and emphysema (SWAYNE et al., 2020). Clostridial bacteria are part of the microbiota and, due to the spore resistance, are also largely disseminated in the environment (GOHARI; PRESCOTT, 2022).

Greater Rheas are South America's largest wild birds, and they are listed as Near Threatened (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2022) mostly due to illegal trade, loss of natural habitat by deforestation and monoculture (MINERVINO et al., 2023). They have an economical potential as farm animals because of their meat, hides and feathers and also an interest by ornamental birds' breeders in view of their unique characteristics (KENNY COOGAN, 2021).

In our extensive literature review, there were no other reports of gangrenous dermatitis in Greater Rheas. This work describes a fatal case of gangrenous dermatitis with subsequent cellulitis and myositis caused by an association of *Clostridium perfringens* type A, *C. septicum* and *C. chauvoei* in a Greater Rhea in Brazil.

3.3 CASE DESCRIPTION

The cadaver of an adult female Greater rhea (*Rhea americana*) was conveyed to the Veterinary Pathology Laboratory at the Universidade Federal da Paraíba (UFPB) in the city of Areia, Paraíba, Brazil. Clinical history was limited due to the animal's acute death. There was no history of previous diseases, drug or vaccines administration, but the animal was dull, refused to eat or drink and had an extensive lesion on its skin, at the dorsal pelvic region. It was also informed that the animal had arrived in a small crate along with two other adult birds of the same species. The other rheas had no clinical signs. Less than 24 hours later, the female rhea was found dead. It had no individual and permanent identification, as it is required by Brazilian Institute of the Environment and Renewable Natural Resources (Ibama) from registered breeders of wildlife native species. The necropsy followed a few hours after its death, and was performed as it is recommended for bird species, impression smears were taken from the lesions for cytological examination, tissues were sampled in 10% formalin and fragments of muscle and

skin in Falcon tubes, as well as swabs samples in Stuart Medium of lesions on the subcutis, were frozen for molecular diagnosing and microbiological isolation. The sampled fixed tissues were processed routinely and stained with Hematoxylin and Eosin, then the slides were analyzed using a microscope.

Macroscopic lesions included an extensive, apteric, necrotic wound with diffuse cellulitis and panniculitis on the dorsal pelvic region, subcutaneous emphysema, the presence of a brood patch on ventral breast and a light greenish-yellow fetid diarrhea (Figure 3). After dissecting the skin, the underlying superficial muscles of the pelvis and pelvic limbs were markedly necrohemorrhagic, there was also a distension of the subcutaneous space and panniculus inflammation. The intestines were filled with watery fetid greenish-yellow feces, the intestinal mucosa had multifocal to coalescent areas of necrosis. Under the koilin layer, the ventriculus's wall had discreet petechial hemorrhages and a blackened focal area. Inside the ventriculus, there were a large piece of pipe, ceramic and small rocks. The heart was diffusely pale and had discreet petechial hemorrhages. The rhea's lungs had multiple areas of hemorrhage that infiltrated their parenchyma.

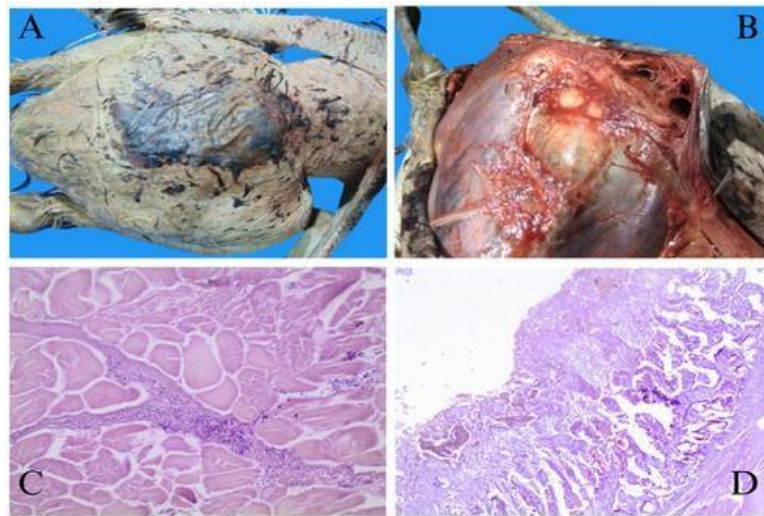
Microscopically, the skin on the back showed coagulative necrosis, associated with an intense heterophilic infiltrate that extended from the skin to the muscles, surrounding the muscle fibers, which were markedly necrohemorrhagic and emphysematous. There is an expansion of the endomysial space and segmental lysis of fibers. Numerous bacilli were observed in the dermis, hypodermis, and superficial muscle fascia. In the intestines, there is severe villous atrophy, a lymphohistiocytic and hemorrhagic infiltrate that expands the lamina propria, and areas of necrosis and debris. The lungs had a marked diffuse hemorrhagic lesion and areas of edema that significantly reduced the air space, interpreted as a lesion of toxemic shock.

Impression smears were taken from the subcutaneous and muscle lesions and stained with a rapid staining technique based on the Romanowsky's stain. The slides were analyzed microscopically and rod-shaped bacilli with spores were identified.

For bacterial growth, frozen fragments of muscle, skin and material from the subcutis were sent to Minas Gerais' Federal University Veterinary School (EV-UFGM) and plated in Müeller- Hinton Agar with 5% supplemented with sheep blood. The samples were also inoculated into Brain Heart Infusion Broth (BHI, Difco, USA). The broth and agar plates were incubated for 96 hours in an anaerobic chamber. Suggestive colonies and the BHI broth were subjected to DNA extraction and a multiplex PCR for detection of the five clostridia commonly involved in gas gangrene. Three pathogens were detected in the rhea's subcutaneous lesions, but not in muscular tissue: *C. perfringens*, *C. chauvoei* and *C. septicum*. For further characterization,

the *C. perfringens* DNA was also subjected to genotyping by detection of the major toxin-encoding genes (alpha, beta, epsilon and iota toxin), beta-2 toxin (*cpb2*) and enterotoxin (*cpe*) (VIEIRA et al., 2008) and PCR for NetB-encoding gene (KEYBURN et al., 2008). The isolate was confirmed as *C. perfringens* type A.

Figure 3: Clostridial gangrene in a Greater Rhea. (A) Extended dorsal lesion with blackening of skin, necrosis and focal areas of panniculitis and cellulitis. (B) Panniculitis and subcutaneous emphysema.. (C) Markedly diffuse necrohemorrhagic myositis associated to a heterophilic infiltrate. (Hematoxylin and eosin stain, x200). (D) Necrohemorrhagic enteritis (Hematoxylin and eosin stain, x40).



3.4 DISCUSSION

Diseases of Greater Rhea are not frequently reported (CASTRO-RAMOS et al., 2014; MASACHESSI et al., 2012; MEYER; PHAIR; WEST, 2016; PIVA et al., 2024; SOUSA JÚNIOR et al., 2022; UHART et al., 2006). This seems to be the first report of gangrenous dermatitis in Greater Rheas. Interestingly, the Rhea's case differs slightly from what is known of gangrenous dermatitis and cellulitis in chickens and turkeys. So far, most cases indicated the involvement of *C. septicum*, *C. perfringens* type A and, occasionally, *C. sordellii*. In the present work, *C. chauvoei* was also detected in addition to *C. septicum* and *C. perfringens* type A.

Overcrowding, stress, poor sanitary conditions, contaminated water, feed are possibly all predisposing factors (SHIVAPRASAD, 2016). In the present work, the rhea was kept inside a small crate along with other two adult rheas. This could portray the situation of overcrowding and stress, that would also impair its immune system. Gangrenous dermatitis is thought to happen more often in males, due to their aggressiveness and territorial behaviors (SHIVAPRASAD, 2016; SWAYNE et al., 2020), but the rhea was a female.

Macroscopic lesions of gangrenous dermatitis in poultry include multifocal ulcerations of the overlying skin, on the subcutis there can be edema associated with emphysema, multifocal-to-coalescent hemorrhages and also discoloration due to hemorrhages, edema and crepitation in muscles closer to the affected skin (GORNATTI-CHURRIA et al., 2018; SHIVAPRASAD, 2016). Microscopically, tissues have accumulation of exudate, emphysema and muscles present degeneration and necrosis, as well as congestion and hemorrhages (SHIVAPRASAD, 2016; SWAYNE et al., 2020). The rhea's lesions included diffuse cellulitis, coagulative necrosis of the skin, panniculitis, subcutaneous emphysema, necrohemorrhagic enteritis and myositis, as well as edema and hemorrhage of the lungs.

In our report, there was an extensive lesion on the dorsal region of the Greater Rhea and the underlying muscles and panniculus were greatly affected. The localized trauma caused a damage which resulted in hypoxia and anoxia, perfect for clostridia spores to activate. The toxins produced by the bacteria destroyed muscle fibers and caused an acute inflammatory reaction mostly characterized by heterophils. In our present report, *Clostridium* was not identified in muscle tissue, but was found in subcutaneous lesions. Probably, the focus of infection was the subcutaneous tissue and the toxins produced by bacteria reached muscles, causing the observed lesions and reached the bloodstream, which lead to the rhea's death. In gangrenous myositis secondary to gangrenous dermatitis, the condition is so acute that there is minimal to absent intralesional inflammatory cells, although bacterial rods can be seen (BARNES; ABDUL-AZIZ; FLETCHER, 2016).

Clostridial bacteria are ubiquitously found both in the environment and the intestines and this Greater Rhea also had a necrohemorrhagic enteritis. There is a theory on the pathogenesis of gangrenous dermatitis that suggests the skin's lesion as an entryway, with contamination and proliferation of *clostridia* on the underlying subcutaneous tissue and skeletal muscles, this theory is called "outside-in", or exogenous (SHIVAPRASAD, 2016). If we take this theory and apply it to the rhea, it makes sense because there is a very extensive lesion on the skin. The other theory, called "inside-out", or endogenous, states that a break through the intestinal barrier would cause these pathogenic bacteria to reach the bloodstream, affecting the skin and all underlying tissues closer to the skin (GORNATTI-CHURRIA et al., 2018; SHIVAPRASAD, 2016; SWAYNE et al., 2020). This theory is not very accepted, but the rhea in question also presented a necrohemorrhagic enteritis.

In fact, besides the gangrenous dermatitis leading to a clostridial myositis pathogenesis, there is also the possibility of an enteric disease or disruption of enteric barriers leading to the necrosis of muscles, as the bacteria and their toxins reach the bloodstream (SWAYNE et al.,

2020). Despite that, no material from the enteric lesions of the rhea was collected for molecular diagnosis. Lastly, it is known that some *Clostridium* species are implicated as excellent carcasses invaders (JUNIOR et al., 2020), however, the association between lesions and the presence of these bacteria, as well as the fact that samples were collected for molecular diagnosis as soon as the *post mortem* examination was performed makes this theory less probable.

Clostridium perfringens and *C. septicum* were not the only bacteria isolated from the lesions, as it is expected from gangrenous dermatitis and cellulitis in avian species, but also *Clostridium chauvoei* (SHIVAPRASAD, 2016). All of these bacteria produce detrimental toxins that lead to fatal toxemia (HANG'OMBE et al., 2000; STODDARD et al., 2021; YASUDA et al., 2015).

In domestic mammals, the main necrotizing clostridial infections that target muscles and overlying skin and subcutis are blackleg and gas gangrene (VALENTINE, 2017). Blackleg is caused by *Clostridium chauvoei* and the infection is endogenous, whereas gas gangrene may be caused by other species of *Clostridium*, alone or in association, like *C. chauvoei*, *C. perfringens* type A, *C. septicum*, *C. sordellii* and *C. novyi* type A (PEEK; SEMRAD; PERKINS, 2003). To the best of our knowledge this is the first report of gangrenous dermatitis and myonecrosis in Greater Rhea.

For domestic animals such as cattle and swines, there are vaccines that prevent clostridial infections. For avian species, the current prevention of choice is the focus on health, nutrition and good farm practices, such measures aim to keep the intestinal homeostasis and microbiota, which helps prevent the colonization by pathogens (GRENHAM et al., 2011). Although vaccines to prevent gangrenous dermatitis are being tested for turkeys, they are not available for commercial use (GRAHAM et al., 2019; LOVATO; SANTOS, 2014).

REFERENCES

- ASSIS, R. A. et al. **PCR multiplex para identificação de isolados de *Clostridium chauvoei* e *Clostridium septicum***. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 60, n. 2, p. 294–298, abr. 2008.
- BARNES, H. J.; ABDUL-AZIZ, T.; FLETCHER, O. J. **Muscular System**. Em: ABDUL-AZIZ, T. et al. (Eds.). Avian Histopathology. 4th. ed. Madison: American Association of Avian Pathologists, Inc., 2016. p. 107–142.
- BIRDLIFE INTERNATIONAL 2002. ***Rhea americana***. The IUCN Red List of Threatened Species 2022. e.T22678073A219615764. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-2.RLTS.T22678073A219615764.en>
- BROOK, I. **Microbiology and management of myositis**. International Orthopaedics, v. 28, n. 5, p. 257, out. 2004.
- CASTRO-RAMOS, M. et al. **Tuberculosis aviar en *Rhea americana* (Ñandú) en cautividad en Uruguay. Diagnóstico bacteriológico y molecular**. Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay, v. 50, n. 196, p. 142–155, dez. 2014.
- DELAY, J. et al. ***Clostridium septicum* dermatitis, cellulitis, and myositis (malignant edema) in swine**. AHL Newsletter, v. 23, n. 3, p. 10–10, 2019.
- FIELD, C. L. **Bacterial Diseases of Marine Mammals**. Merck Manual Veterinary Manual, 2022.
- GOHARI, I. M.; PRESCOTT, J. F. ***Clostridium***. Em: MCVEY, D. S. et al. (Eds.). Veterinary Microbiology. 4. ed. Hoboken: Wiley, 2022. v. 1p. 309–334.
- GORNATTI-CHURRIA, C. D. et al. **Gangrenous dermatitis in chickens and turkeys**. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 30, n. 2, p. 188–196, 16 mar. 2018.
- GRAHAM, B. D. et al. **Evaluation of the efficacy of a candidate turkey cellulitis/dermatitis oil emulsion vaccine on immune response and mortality under laboratory and commercial conditions**. Journal of Applied Poultry Research, v. 28, n. 4, p. 818–825, dez. 2019.
- GRENHAM, S. et al. **Brain-gut-microbe communication in health and disease**. Frontiers in physiology, v. 2, 2011.
- HANG'OMBE, B. M. et al. **Detection and characterization of *Clostridium* species in soil of Zambia**. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, v. 23, n. 4, p. 277–284, out. 2000.
- JUNIOR, C. A. O. et al. **Gas gangrene in mammals: a review**. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 32, n. 2, p. 175–183, 21 mar. 2020.
- COOGAN K. 2021. **Raising Rhea Birds to Diversify**. Backyard Poultry. Available at

<https://backyardpoultry.iamcountryside.com/poultry-101/open-a-rhea-farm-to-diversify/>
Accessed on April 14, 2024.

KEYBURN, A. L. et al. **NetB, a New Toxin That Is Associated with Avian Necrotic Enteritis Caused by *Clostridium perfringens***. PLoS Pathogens, v. 4, n. 2, p. e26, 8 fev. 2008.

LOVATO, M.; SANTOS, E. O. DOS. **Rheiformes (Ema) e Struthioniformes (Avestruz, Emu e Casuar)**. Em: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds.). Tratado de Animais Selvagens. 2. ed. São Paulo: ROCA, 2014. v. 1p. 1–2470.

MASACHESSI, G. et al. **Establishment and maintenance of persistent infection by picobirnavirus in greater rhea (*Rhea Americana*)**. Archives of Virology, v. 157, n. 11, p. 2075–2082, 11 nov. 2012.

MEYER, A. M.; PHAIR, K.; WEST, G. **Use of computed tomography for investigation of rhinitis and sinusitis in a greater rhea (*Rhea americana*)**. Journal of zoo and wildlife medicine, v. 47, n. 4, p. 1069–1072, dez. 2016.

MINERVINO, A. H. H. et al. **Serum Biochemistry of Greater Rhea (*Rhea americana*) in Captivity in the Northeast of Brazil**. Animals: An Open Access Journal from MDPI, v. 13, n. 13, 1 jul. 2023.

PASTERNAK, M. S.; SWARTZ, M. N. **Myositis and Myonecrosis**. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, v. 1, p. 1216, 28 ago. 2015.

PEEK, S. F.; SEMRAD, S. D.; PERKINS, G. A. **Clostridial myonecrosis in horses (37 cases 1985–2000)**. Equine Veterinary Journal, v. 35, n. 1, p. 86–92, 5 jan. 2003.

PIVA, M. M. et al. **Monensin poisoning outbreak in free-ranging and captive birds**. Veterinary Research Communications, v. 48, n. 1, p. 607–613, 10 fev. 2024.

SHIVAPRASAD, H. L. **Gangrenous Dermatitis in Poultry**. In: Clostridial Diseases of Animals. Wiley, 2016. p. 255–264.

SOUSA JÚNIOR, J. F. DE et al. **Acute aflatoxicosis outbreak in rheas (*Rhea americana*) in Brazil: Case report**. Toxicon, v. 214, p. 104–107, jul. 2022.

STODDARD, N. et al. **Fatal *Clostridium septicum* myonecrosis from gastric perforation: A case report**. Anaerobe, v. 72, p. 102445, 1 dez. 2021.

SWAYNE, D. E. et al. (EDS.). **Diseases of Poultry**. [s.l.] Wiley, 2020.

THOMPSON, B. S.; GOODRICH, E. L. **Miscellaneous Infectious Diseases**. Rebhun's Diseases of Dairy Cattle: Third Edition, p. 737–783, 1 jan. 2018.

UHART, M. et al. **Evaluation of the health of free-ranging greater rheas (*Rhea americana*) in Argentina**. Veterinary Record, v. 158, n. 9, p. 297–303, 4 mar. 2006.

VALBERG, S. J. **Infectious Myopathies in Horses**. Disponível em: Infectious Myopathies in

Horses - Musculoskeletal System - Merck Veterinary Manual (merckvetmanual.com). Accessed on April 14, 2024..

VALENTINE, B. A. **Skeletal Muscle**. Pathologic Basis of Veterinary Disease, p. 908, 2017.

VIEIRA, A. A. S. et al. **Genotipagem de *Clostridium perfringens* isolados de leitões diarreicos**. Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, n. 4, p. 513–516, out. 2008.

YASUDA, M. et al. **A case of nontraumatic gas gangrene in a common marmoset (*Callithrix jacchus*)**. Journal of Veterinary Medical Science, v. 77, n. 12, p. 1673–1676, 2015.

4. CAPÍTULO II - AN OUTBREAK OF AVIAN POX IN GREATER RHEAS (*Rhea americana*) IN BRAZIL

(Artigo aceito para publicação no Periódico **Pesquisa Veterinária Brasileira**)

4.1 ABSTRACT

Greater Rheas (*Rhea americana*) are Brazil's largest non-flying species of bird. Currently, they are listed as "Near Threatened" at IUCN's Red List of Endangered Species, mainly because of animal trafficking, deforestation and illegal hunting. Greater Rheas' diseases are poorly documented in Brazil, although they are a native species and there are conservational scientific facilities that keep and reproduce them. We report an outbreak of avian pox in thirteen juvenile Greater Rheas (*Rhea americana*) in Northeastern Brazil. All thirteen rheas infected with the virus developed clinical signs associated to respiratory disease, such as serous nasal discharge, they were gasping and breathing with their beaks open. On their skin, severe whitish, chronical and round crusted multifocal to coalescent nodules formed. Out of the thirteen affected rheas, nine (69%) died few weeks after the first clinical signs. Only four (31%) rheas survived after unspecified treatment with antibiotics. Two rheas were referred to necroscopic evaluation at the Laboratório de Patologia Veterinária of Universidade Federal da Paraíba – Campus II, Areia. Microscopically, acantholytic lesions, hyperkeratosis, heterophilic infiltrate and the presence of Bollinger bodies, the pathognomonic inclusion body caused by poxvirus, were seen in the skin. Thus, the avian pox diagnosis was confirmed by clinical and histopathological examinations. This is the first report of avian pox in Greater Rheas in Northeastern Brazil. Investigating the causes of death of wild native birds is essential to the preservation of species. Greater Rheas are an important part of the ecosystem and suffer with illegal hunting and animal trafficking. Necroscopic examination allows us to detect pathogens and take prophylactic measures to avoid the decreasing number of wild populations.

INDEX TERMS: avian poxvirus, ratites, greater rheas, conservation, histopathology.

RESUMO

As emas (*Rhea americana*) são a maior espécie de ave não-voadora do Brasil. Atualmente, estão listadas como "Quase Ameaçada" na Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais, principalmente devido ao tráfico animal, desmatamento e caça ilegal. As doenças das emas são pouco documentadas no

Brasil, apesar de serem uma espécie nativa e existirem centros científicos de conservação que as mantêm e as reproduzem. Relatamos um surto de bouba aviária em treze emas (*Rhea americana*) juvenis no Nordeste do Brasil. Todas as treze emas infectadas com o vírus desenvolveram sinais clínicos associados à doença respiratória, como secreção serosa nasal, estavam ofegantes e respirando com os bicos abertos. Na pele, formaram-se severos nódulos brancacentos, crônicos, crostosos, arredondados, multifocais a coalescentes. Das treze emas afetadas, nove (69%) morreram em poucas semanas após os primeiros sinais clínicos. Apenas quatro emas (31%) sobreviveram após tratamento inespecífico com antibióticos. Duas emas foram encaminhadas para exame necroscópico no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal da Paraíba – Campus II, Areia. Microscopicamente, foram observadas lesões acantolíticas, hiperqueratose, infiltrado heterofílico e a presença de Corpos de Bollinger, corpúsculos de inclusão patognomônicos do poxvírus. Portanto, o diagnóstico de bouba aviária foi confirmado após os exames clínicos e histopatológicos. Este é o primeiro relato de bouba aviária em emas no Nordeste do Brasil. Investigar as causas de morte de aves silvestres é essencial para a preservação das espécies. Emas possuem um papel importante no ecossistema que habitam e sofrem com a caça ilegal e o tráfico animal. A necropsia nos permite detectar patógenos e tomar medidas profiláticas para evitar a diminuição de populações selvagens.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: poxvírus aviário, ratitas, emas, conservação, histopatologia.

4.2 INTRODUCTION

Avian pox is common among poultry and it is reported in several countries. It also affects companion birds and wild species of birds. It is caused by the double-stranded DNA virus *Avipoxvirus fowlpox* from the genus *Avipoxvirus*, which has already been identified in over 270 species of birds (Delhon 2022). There are two forms of infection by avian poxvirus: the cutaneous and the diphtheric form. Cutaneous lesions consist of proliferative nodules mainly on the non-feathered parts of the body. Diphtheric lesions are usually proliferative fibroncrosis in mucous membranes of the respiratory and gastrointestinal tract (Swayne et al. 2020). The virus targets keratinocytes, causing hyperplasia of the epidermis and hyperkeratosis of the dermis, ballooning degeneration and intracytoplasmic eosinophilic inclusion bodies called Bollinger bodies, these lesions are pathognomonic for Avian poxvirus infections (Delhon 2022, Shivaprasad & Barnes 2016). Diagnosis may be also confirmed if the virus DNA is extracted, PCR amplified and sequenced (Kunert-Filho et al. 2016, Lee & Lee 1997). Factors that increase

distribution and prevalence of the infection include weather conditions, the presence of vectors, density and susceptibility of hosts and the presence of poxvirus. Transmission might happen through lesioned skin, especially by mosquitoes or ectoparasites, such as mites, but it can also be transmitted directly, by contact with infected birds or contaminated objects and surfaces (Van Riper III & Forrester 2007). It is an infection of economical and conservational significance since mortality rate might be high, if there are complications, poor environmental conditions or other diseases in association (Swayne et al. 2020, Silva et al. 2023).

Greater Rheas (*Rhea americana*) are South American's largest non-flying species of bird. They are considered as Near Threatened in IUCN's Red List of Threatened Species (BirdLife International 2022) and this is mainly due to deforestation, illegal hunting and predation. Infection by poxvirus was reported in Rheas in Spain in 1938 (Volgensag 1938), but there are no reports of this infection in Rheas in Brazil. The health of 22 free- ranging rheas was also evaluated and antibodies to several infectious agents were identified, but no antibodies for avian pox was found (Uhart et al. 2006). Rheas are commercially farmed for meat, hide, feathers and eggs, as well as maintained in captivity for conservational and academical research (Kenny Coogan 2021, Kummrow 2015). The aim of this study was to report an outbreak of avian pox in juvenile Greater Rheas in Brazil emphasizing its clinical and histopathological findings.

4.3 MATERIALS AND METHODS

Animal Ethics. The use of the rheas' carcasses for this scientific study was submitted to the Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) of the Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO), registration number 94079-1.

Data collection. The rheas were farmed in a ranch in Northeastern Brazil. The case medical history was collected and consisted of their origin, how many rheas had been introduced into the ranch, when they arrived, where they were housed, if there were any contactantes of other species, the development of the disease, how many were affected, how many died, if they were treated and what kind of medicine was used. The cases were divided into Case no.1 and Case no.2. Case no. 1 depicts the necropsy of a rhea that died suddenly and had pox-like skin lesions and respiratory clinical signs. Case no.2 regards the necropsy of a rhea that died 30 days after Case no.1's rhea and still presented pox-like skin lesions even after the others that survived in the flock had already improved from these lesions.

Necropsy and histopathology. After death, they were necropsied as it is recommended for avian species (Jagne & Buckles 2021) and samples of tissues were processed routinely

(Feldman & Wolfe 2014).

4.5 RESULTS

Case history

A flock of 13 juvenile Greater Rheas were introduced into a ranch in Northeastern Brazil. The ranch farmed cattle, horses and backyard poultry, which consisted of chicken, turkeys and guineafowl. The rheas were housed together with the other avian species and in less than a month, 8 (61.5%) of the rheas died and all of them (100%) presented nodular lesions over their bodies (Fig. 1). The farm's keeper separated the surviving rheas and placed them in a small shed with no direct sunlight incidence and no ventilation (Fig. 2). After unspecific treatment with antibiotics, another individual (Case no.1) of the remaining 5 rheas died and was referred to the Laboratório de Patologia Veterinária of the Universidade Federal da Paraíba, Campus II – Areia (LPV-UFPB). 30 days after the death of this rhea, three of the remaining ones improved in health and no longer had skin lesions, but another one (Case no.2) persisted with lesions, became apathic, anorectic and died. This rhea was also referred for *post mortem* examination.

Fig. 1-2. Clinical examination of juvenile Greater Rheas (*Rhea americana*) naturally infected by Avian pox in Northeastern Brazil. (1) Round multifocal to coalescent proliferative nodules on the skin of the head and neck of the rhea. Note how the external auricular canal is partially obstructed due to crusted lesions. There are also lesions on its eyelids. (2) Five juvenile rheas gather on the corner of the shed where they were housed after the death of the other eight individuals. There was no sunlight incidence or ventilation.

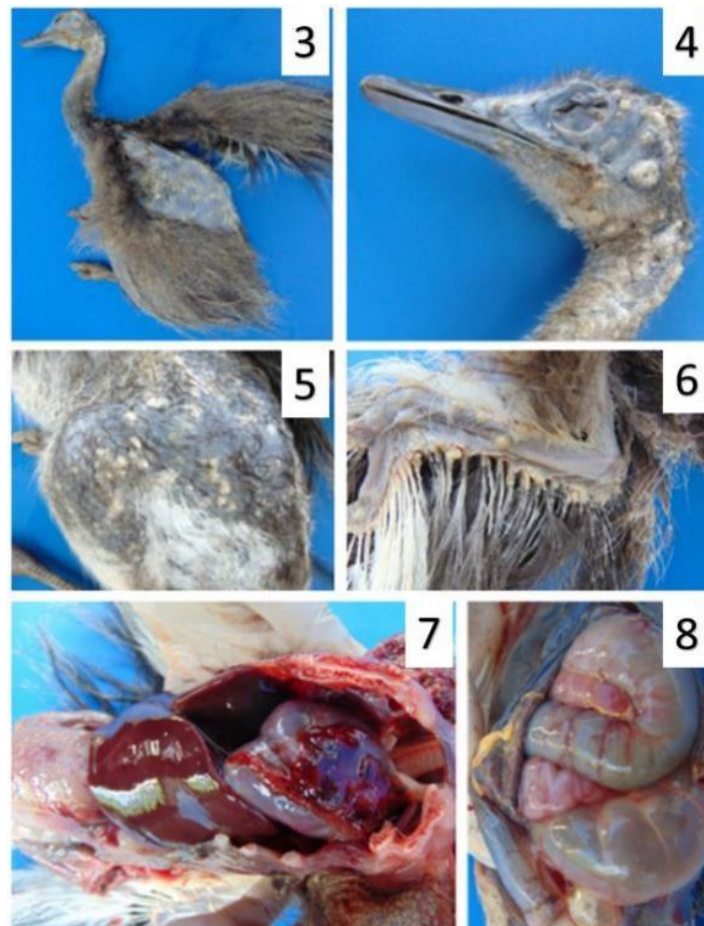


Macroscopy and histopathological findings

Case no.1 rhea (Fig. 3) had skin lesions on its face, neck, torso, legs and wings (Fig. 4-7). Some nodules developed around the external ear opening, infiltrating the ear canal, on the base of the beak, in the eyelids and on the skin around the outer sheath of wing feathers. The

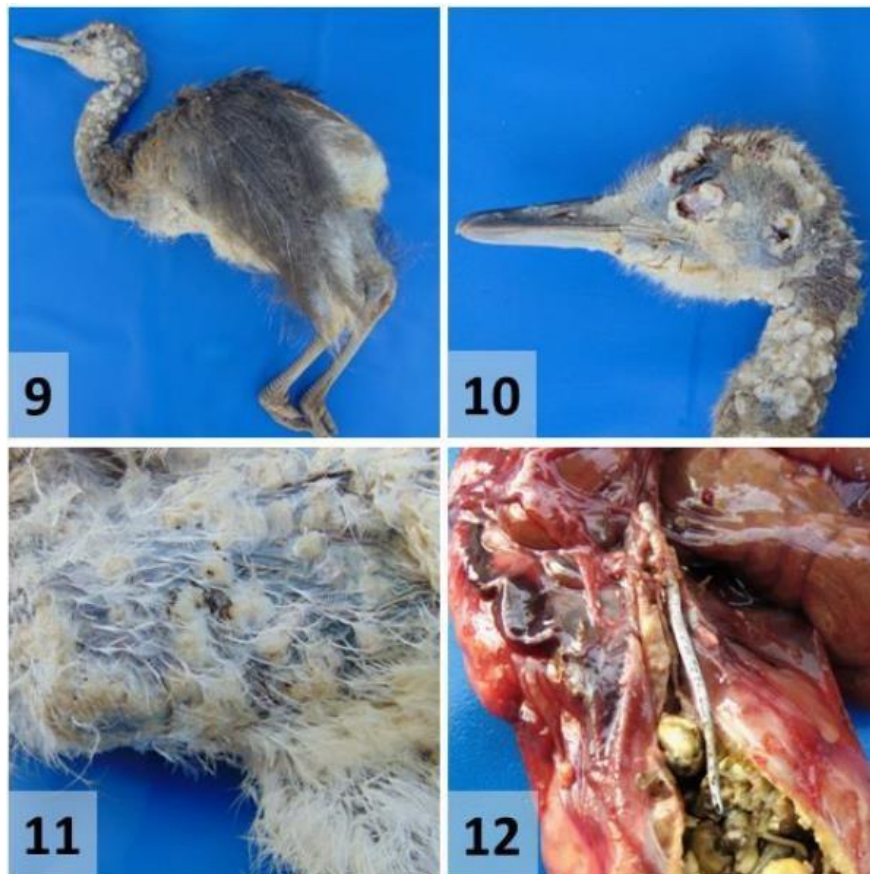
lesions were proliferative, multifocal to coalescent, round, white to yellowish, crusted nodules. Poxvirus lesions were spread throughout all of the rhea's body except for its feet. The rhea had no lesions on its mucous membranes that suggested the diphtheric form of avian pox. Other macroscopic findings included: discrete ascites, fibrinous material among viscera, the presence of gas in the intestines (Fig. 8), congestion of enteric blood vessels, an enlarged liver, severe atrophy of cardiac and ventriculus fat tissue (Fig. 7) and the ventriculus was filled with foreign objects besides feed and small rocks. Microscopically, the lung had hypertrophy of the smooth muscle, heterophilic infiltration and epithelial hyperplasia. There was blood in some parabronchus' lumen. There were no significant histological lesions on the other organs.

Fig. 3-8. **Case no.1.** Macroscopic lesions of a juvenile Greater Rhea (*Rhea americana*) naturally infected by Avian pox in Northeastern Brazil. (3) Round multifocal to coalescent proliferative nodules on the skin of the head, neck and torso of the rhea. (4) Nodular crusted lesions on the rhea's head. Note the lesions on the external auricular canal and eyelids. (5) Nodular crusted lesions on the skin of the rhea's left leg. There are lesions both on feathered and unfeathered areas. (6) Pox virus lesions on the rhea's right wing. There are proliferative nodular crusted formations around feather follicles. (7) Enlargement of the rhea's liver and severe atrophy of the cardiac fat tissue. (8) Congestion of enteric blood vessels and frail yellowish material distributed among viscera compatible with fibrin.



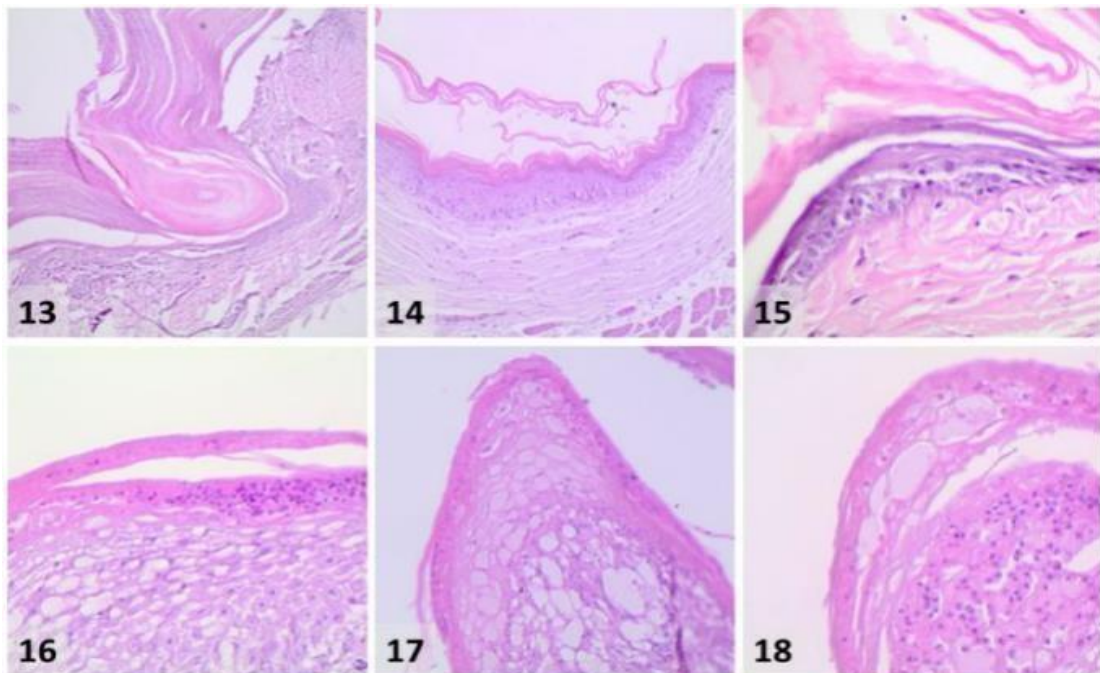
Case no.2 necropsied rhea (Fig. 9) had similar skin lesions to the ones in Case no.1, but its nodular crusts were thicker and wider, multifocal to coalescent, forming large plaques (Fig. 10-11). Also, this rhea was noticeably smaller than the other individuals of the same age. During necropsy, it was observed that the rhea's coelomic cavity was filled with fibrin and the intestines walls were thin, frail and reddish. It was not possible to identify other organs due to the advanced necrotic state in which they were presented. Upon macroscopic examination, a piece of metal was found piercing through the rhea's ventriculus wall causing a traumatic ventriculitis and the intestinal content, mostly cereal grains, from the ventriculus on was mostly undigested. In addition to these lesions on the intestinal walls, there was also a severe acute fibrinous celomitis (Fig. 12). Upon microscopic evaluation, the ventriculus had degenerate and necrotic mucosal epithelial cells. There was also a diffuse serositis and necrosis in the other organs.

Fig. 9-12. **Case no.2.** Macroscopic lesions of a second juvenile Greater Rhea (*Rhea americana*) naturally infected by Avian pox in Northeastern Brazil. This specimen did not recover from the lesions after a 30-day treatment period and died. (9) Round multifocal to coalescent proliferative nodules on the skin of the head and neck of the rhea. (10) Nodular crusted lesions on the rhea's head. Note the coalescent lesions on the external auricular canal, neck and eyelids. (11) Nodular crusted multifocal to coalescent lesions on the skin of the rhea's ventral torso. (12) Foreign body found in the rhea's ventriculus. The metallic object was piercing through the ventriculus' wall and fibrous tissue surrounded the tip of the object.



Avian fowlpox was confirmed in both cases by macroscopic and histopathological analysis based on the observation of typical pox lesions on the skin, such as epithelial hyperplasia and the identification of Bollinger bodies, the pathognomonic intracytoplasmic eosinophilic inclusion bodies found in pox lesions (Fig. 13-18).

Fig. 13-18. Photomicrography of histopathological lesions of Avian pox in juvenile Greater Rheas (*Rhea americana*) in Northeastern Brazil (Case no.1: A-C; Case no.2: D-F). (13) Nodular lesion surrounding a feather follicle. Severe hyperkeratosis of the epidermal keratinocytes. HE, obj.10x. (14) Nodular acantholytic lesion with heterophilic infiltrate and hyperplasia of the epidermis. HE, obj.20x. (15) Inclusion bodies (Bollinger bodies) are present inside the cytoplasm of keratinocytes of the epidermis. HE, obj.40x. (16) Acantholytic hypertrophy and hyperplasia of epidermal keratinocytes with ballooning degeneration. Note the inclusion bodies in keratinocytes and the heterophilic infiltrate in the deeper layers of the epidermis. HE, obj.40x. (17) Severe ballooning degeneration of the epidermis. Note the inclusion bodies (Bollinger bodies) in keratinocytes. HE, obj.20x. (18) Acantholytic lesion and ballooning degeneration along with an intense heterophilic infiltrate and larger inclusion bodies. HE, obj.40x.



4.5 DISCUSSION

This is the first report of Avian Pox in Greater Rheas in Northeastern Brazil. The results shown in this report highlight how deadly poxvirus infections can be to juvenile Greater Rheas. Histopathological findings of both cases, alongside the clinical presentation and macroscopic lesions, were consistent with the cutaneous form of avian pox. The virus aggregates inside

infected epidermal cells and form eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies, which makes histopathological diagnosis is accurate (Delhon 2022). The disease has already been diagnosed in over 200 species of wild, domestic and companion birds and its cutaneous form is usually mild and transient (Shivaprasad & Barnes 2016). Avian populations which do not possess a co-evolutionary history with the vectors and the virus are more susceptible and are greatly affected by the disease. Different species of birds can be infected by pathogenic avian pox strains (Swayne et al. 2020).

The epizootiology is influenced by host density, host susceptibility and number of vectors occurring within a space and time. In wild birds, Bollinger bodies are not always present as indispensable structures in the development and maturation of avian pox, which means that their histopathological presentation might vary depending on the infected species (Van Riper III & Forrester 2007).

Despite the characteristic skin lesions, there are multiple illnesses that present themselves with similar external wounds and could be listed as differential diagnosis. Diseases which cause proliferative, crusted lesions on the head and body, such as papilloma virus and knemidokoptic mange, can be accounted as differentials for the cutaneous presentation of avian pox, whereas trichomoniasis and capillariasis produce lesions that resemble the diphtheric form of avian pox virus infection (Weli & Tryland 2011, Van Riper III & Forrester 2007).

The juvenile rheas of the study were exposed to adult turkeys, chickens and guineafowl, species with documented cases of avian pox (Van Riper III & Forrester 2007). Turkeys present cutaneous and diphtheric forms of avian pox even after vaccination (Ferreira et al. 2018). Although the primary prophylactic measure in commercial poultry is vaccination, for viruses isolated from wild birds it is difficult to develop specific vaccines since a wide variety of bird species were infected but not all these poxviruses have been characterized. Thus, research for the development of efficient and effective vaccines for wild birds is necessary (Weli & Tryland 2011). There are no vaccines approved by the Brazilian government for rheas and this increases their susceptibility to infectious pathogens. Furthermore, there was no information provided by the owner to the case's history concerning the vaccination of the other species of birds in the ranch. Aside from vaccination, other prophylactic measure when rearing rheas is keeping them apart from other avian species (Huchzermeyer 2005). There was also no clarification regarding the origin of the juvenile rheas, implying that they were trafficked.

4.6 CONCLUSIONS

We report an outbreak of Avian Pox in a flock of juvenile Greater Rheas, highlighting histopathological and clinical findings. The crusted nodules on the rheas' skin upon microscopic evaluation revealed epidermal hyperplasia, ballooning degeneration and inclusion bodies in the cytoplasm of keratinocytes (Bollinger bodies). Poxvirus represented a mortality of over 69% (9/13) in this flock of juvenile rheas which might mean the infection is highly lethal in Greater Rheas (*Rhea americana*). Wild species of birds are exposed and susceptible to avian pox viruses from other species, though there is a certain degree of host specificity and not at all times infections are as severe in different species than they can be in the specific species target by one pox virus strain. Since there is no vaccine specifically made or approved for rheas, prevention and biosafety measures are the best ways to avoid this disease in wild and farmed individuals. Epidemiological factors that influence the pathogeny of avian pox in rheas need more research and by the outbreak presented in this work, the contact with other domestic species of birds may have been relevant to the rhea's infection.

REFERENCES

- BIRDLIFE INTERNATIONAL 2002. *Rhea americana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2022. e.T22678073A219615764. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-2.RLTS.T22678073A219615764.en>
- COOGAN K. 2021. **Raising Rhea Birds to Diversify**. Backyard Poultry. Available at <https://backyardpoultry.iamcountryside.com/poultry-101/open-a-rhea-farm-to-diversify/> Accessed on April 14, 2024.
- DELHON G. 2022. **Poxviridae**, p.522-532. In: McVey D.S., Kennedy M., Wilkes R. & Chengappa M.M. (Eds), Veterinary Microbiology. 4^a ed. Wiley-Blackwell, New Jersey.
- FELDMAN A.T. & WOLFE D. 2014. **Tissue processing and hematoxylin and eosin staining**. Methods Mol. Biol. 1180:31-43. https://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-1050-2_PMid:25015141
- FERREIRA B.C., ECCO R., COUTO R.M., COELHO H.E., ROSSI D.A., BELETTI M.E. & SILVA P.L. 2018. **Outbreak of cutaneous form of avian poxvirus disease in previously pox-vaccinated commercial turkeys**. Pesq. Vet. Bras. 38(3):417-424. <https://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4463>
- HUCHZERMEYER F.W. 2005. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Funep, São Paulo. 392p.
- JAGNE J. & BUCKLES E. 2021. **How to perform a necropsy**, p.477-503. In: Greenacre C.B. & Morishita T.Y. (Eds), Backyard Poultry Medicine and Surgery: a guide for veterinary practitioners. 2nd. Wiley-Blackwell, New Jersey.
- KUMMROW M.S. 2015. **Ratites or Struthioniformes**, p.75-82. In: Miller R.E. & Fowler M.E. (Eds), Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine. Vol.8. Elsevier. <https://dx.doi.org/10.1016/C2012-0-01362-2>
- KUNERT-FILHO H.C., CIBULSKI S.P., FINKLER F., GRASSOTTI T.T., JAENISCH F.R.F., BRITO K.C.T., CARVALHO D., LOVATO M. & BRITO B.G. 2016. **First phylogenetic analysis of Avipoxvirus (APV) in Brazil**. Pesq. Vet. Bras. 36(5):357-362. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2016000500001>
- LEE L.H. & LEE K.H. 1997. **Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowl poxvirus infection**. J. Virol. Methods 63(1/2):113-119. [https://dx.doi.org/10.1016/s0166-0934\(96\)02119-2](https://dx.doi.org/10.1016/s0166-0934(96)02119-2) <PMid:9015281
- SHIVAPRASAD H.L. & BARNES H.J. 2016. **Integumentary system**, p.615-639. In: Abdul-Aziz T., Fletcher O.J. & Barnes H.J. (Eds), Avian Histopathology. 4th ed. American Association of Avian Pathologists, Madison.
- SILVA R.A.F., OLINDA R.G., PIMENTEL L.A., MAIA L.Â., FRADE M.T.S., KOMMERS G.D., GALIZA G.J.N. & DANTAS A.F. 2023. **Cutaneous fungal infections secondary to avian pox in Northeast Brazil**. Pesq. Vet. Bras. 43:e07342. <https://dx.doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7342>

SWAYNE D.E., BOULIANNE M., LOGUE C.M., MCDUGALD L.R., NAIR V., SUAREZ D.L., WIT S., GRIMES T., JOHNSON D., KROMM M., PRAJITNO T.Y., RUBINOFF I. & ZAVALA G. 2020. **Diseases of Poultry**. Wiley-Blackwell, New Jersey. 1504p.

UHART M., APRILE G., BELDOMENICO P., SOLÍS G., MARULL C., BEADE M., CARMINATI A. & MORENO D. 2006. **Evaluation of the health of free-ranging greater rheas (*Rhea americana*) in Argentina**. Vet. Rec. 158(9):297-303.
<https://dx.doi.org/10.1136/vr.158.9.297>_PMid:16517822

VAN RIPER III C. & FORRESTER D.J. 2007. **Avian pox**, p.131-176. In: Thomas N.J., Hunter D.B. & Atkinson C.T. (Eds), Infectious Diseases of Wild Birds. Blackwell Publishing, Iowa.

VOLGENSAG E.G. 1938. **Viruela aviaria en el Ñandú (*Rhea americana*)**. La Semana Medica 45:556-557.

WELI S.C. & TRYLAND M. 2011. **Avipoxviruses: Infection biology and their use as vaccine vectors**. Virol. J. 8:49. <https://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-8-49>>_PMid:21291547

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As emas (*Rhea americana*) fazem parte da fauna brasileira. Possuem grande importância para o ecossistema do qual fazem parte, além de terem alto valor zootécnico. Conhecer as doenças que acometem essa espécie é uma ferramenta para a conservação da espécie e para evitar perdas econômicas relacionadas principalmente aos erros relacionados ao manejo. Este trabalho trouxe o relato de duas doenças em emas que ainda não haviam sido descritas na literatura brasileira. Medidas preventivas devem ser instituídas para evitar doenças como a dermatite gangrenosa e a boubá aviária na espécie, visto que são infecções fatais para as aves acometidas.

REFERÊNCIAS

AGNOLIN, F. et al. **El Ñandú (*Rhea americana*)**. 1. ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara, 2016.

ALEJANDRO MOUCHARD. **Etimología de los nombres científicos de las aves de Argentina: su significado y origen**. 1. ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara, 2019.

ANTUNES, J. M. A. DE P. et al. **Mannheimiose atípica em emas (*Rhea americana*) cativas**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 53, n. 3, p. 1, 2016.

AVELAR, I. DE O. et al. ***Sicarius uncinipenis* and *Deletrocephalus cesarpintoi* in captive greater rheas of Minas Gerais State, Brazil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 23, n. 3, p. 355–359, 2014.

BARNES, H. J.; ABDUL-AZIZ, T.; FLETCHER, O. J. **Muscular System**. Em: ABDUL-AZIZ, T. et al. (Eds.). Avian Histopathology. 4th. ed. Madison: American Association of Avian Pathologists, Inc., 2016.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. ***Rhea americana***. BirdLife International. The IUCN Red List of Threatened Species, 2022.

B.P. DE MIRANDA, E. ***Rhea americana* Distribution: Range Expansion and Introductions of America's Largest Bird**. Em: Birds - Challenges and Opportunities for Business, Conservation and Research. [s.l.] IntechOpen, 2021.

BRILHANTE, R. S. N. et al. **Detection of *Candida* species resistant to azoles in the microbiota of rheas (*Rhea americana*): possible implications for human and animal health**. Journal of Medical Microbiology, v. 62, n. 6, p. 889–895, 1 jun. 2013.

BROOK, I. **Microbiology and management of myositis**. International Orthopaedics, v. 28, n. 5, p. 257, out. 2004.

CASTRO-RAMOS, M. et al. **Tuberculosis aviar en *Rhea americana* (Ñandú) en cautividad en Uruguay. Diagnóstico bacteriológico y molecular**. Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay, v. 50, n. 196, p. 142–155, 2014.

CHASE, C. C. L. **Togaviridae and Flaviviridae**. Em: Veterinary Microbiology. [s.l.] Wiley, 2022.

CHURCH, M. L. et al. **Outbreak of *Philophthalmus gralli* in four greater rheas (*Rhea americana*)**. Veterinary Ophthalmology, v. 16, n. 1, p. 65–72, 19 jan. 2013.

CONSTANT, O. et al. **Evidence of Exposure to USUV and WNV in Zoo Animals in France**. Pathogens, v. 9, n. 12, p. 1005, 30 nov. 2020.

CONVERSE, K. A. **Avian Tuberculosis**. Em: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. (Eds.). *Infectious Diseases of Wild Birds*. 1. ed. Victoria: Blackwell Publishing, 2007. v. 1.

COPETTI, M. V. et al. **Pulmonary aspergillosis outbreak in *Rhea americana* in Southern Brazil**. *Mycopathologia*, v. 157, n. 3, p. 269–271, abr. 2004.

DANI, S. et al. **A ema (*Rhea americana*): biologia, manejo e conservação**. 1. ed. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, 1993.

DELAY, J. et al. ***Clostridium septicum* dermatitis, cellulitis, and myositis (malignant edema) in swine**. *AHL Newsletter*, v. 23, n. 3, p. 10–10, 2019.

DELHON, G. **Poxviridae**. Em: *Veterinary Microbiology*. Wiley, 2022. p. 522–532.

DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL. **Doença de Newcastle**. PNSA Gov, 2020.

FELDMAN, A. T.; WOLFE, D. **Tissue Processing and Hematoxylin and Eosin Staining**. Em: [s.l.: s.n.]. p. 31–43.

FIELD, C. L. **Bacterial Diseases of Marine Mammals**. *Merck Manual Veterinary Manual*, 2022.

FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. 1. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2007. v. 1

FREITAS NETO, O. DE et al. **Serosurvey of selected avian pathogens in brazilian commercial Rheas (*Rhea americana*) and Ostriches (*Struthio camelus*)**. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 11, n. 4, p. 277–282, dez. 2009.

GANTA, R. R. **Chlamydiaceae**. Em: *Veterinary Microbiology*. [s.l.] Wiley, 2022. p. 360–363.

GIANOTTI, C. et al. **Knowledge of the Sky among Indigenous Peoples of the South American Lowlands—First Archaeoastronomical Analyses of Orientations at Mounds in Uruguay**. *Land*, v. 12, n. 4, p. 805, 2 abr. 2023.

GILL, F.; DONSKER, D.; RASMUSSEN, P. **IOC World Bird List (v14.2)**. 2024.

GOHARI, I. M.; PRESCOTT, J. F. ***Clostridium***. Em: MCVEY, D. S. et al. (Eds.). *Veterinary Microbiology*. 4. ed. Hoboken: Wiley, 2022. v. 1p. 309–334.

GORNATTI-CHURRIA, C. D. et al. **Gangrenous dermatitis in chickens and turkeys**. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 30, n. 2, p. 188–196, 16 mar. 2018.

- GRAHAM, B. D. et al. **Evaluation of the efficacy of a candidate turkey cellulitis/dermatitis oil emulsion vaccine on immune response and mortality under laboratory and commercial conditions.** Journal of Applied Poultry Research, v. 28, n. 4, p. 818–825, dez. 2019.
- GRENHAM, S. et al. **Brain-gut-microbe communication in health and disease.** Frontiers in physiology, v. 2, 2011.
- GRÖNE, A.; SWAYNE, D. E.; NAGODE, L. A. **Hypophosphatemic Rickets in Rheas (*Rhea americana*).** Veterinary Pathology, v. 32, n. 3, p. 324–327, 26 maio 1995.
- HANG'OMBE, B. M. et al. **Detection and characterization of *Clostridium* species in soil of Zambia.** Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, v. 23, n. 4, p. 277–284, out. 2000.
- HUCHZERMEYER, F. W. **Doenças de Avestruzes e outras ratitas.** 1. ed. Jaboticabal: Funep, 2005. v. 1
- IBAMA. **Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites).** 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/biodiversidade/cites-e-comercio-exterior/convencao-sobre-comercio-internacional-das-especies-da-flora-e-fauna-selvagens-em-perigo-de-extincao-cites>. Acesso em: 14 de abril de 2024.
- IBIAPINA, C. DA C.; COSTA, G. A.; FARIA, A. C. **Influenza A aviária (H5N1): a gripe do frango.** Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 31, n. 5, p. 436–444, out. 2005.
- JAGNE, J.; BUCKLES, E. **How to Perform a Necropsy.** Em: Backyard Poultry Medicine and Surgery. [s.l.] Wiley, 2021. p. 477–503.
- JUNIOR, C. A. O. et al. **Gas gangrene in mammals: a review.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 32, n. 2, p. 175–183, 21 mar. 2020.
- KENNEDY, M.; REYNOLDS, D. L. **Birnaviridae.** Em: Veterinary Microbiology. [s.l.] Wiley, 2022. p. 693–697.
- KENNY COOGAN. **Raising Rhea Birds to Diversify.** 2021. Disponível em: <https://backyardpoultry.iamcountryside.com/poultry-101/open-a-rhea-farm-to-diversify/>. Acesso em: 14 de abril de 2024.
- KEYBURN, A. L. et al. **NetB, a New Toxin That Is Associated with Avian Necrotic Enteritis Caused by *Clostridium perfringens*.** PLoS Pathogens, v. 4, n. 2, p. e26, 2008.
- KUMMROW, M. S. **Ratites or Struthioniformes.** Em: Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine, Volume 8. [s.l.] Elsevier, 2015.

KUNERT-FILHO, H. C. et al. **First phylogenetic analysis of Avipoxvirus (APV) in Brazil.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 36, n. 5, p. 357–362, 2016.

LACERDA, M. DOS S. C. **Doenças diagnosticadas em aves silvestres e exóticas no setor de patologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais no período de 2006 a 2021.** Dissertação de Mestrado—[s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2022.

LEE, L. H.; LEE, K. H. **Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowl poxvirus infection.** Journal of Virological Methods, v. 63, n. 1–2, p. 113–119, 1997.

LOVATO, M.; SANTOS, E. O. DOS. **Rheiformes (Ema) e Struthioniformes (Avestruz, Emu e Casuar).** Em: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds.). Tratado de Animais Selvagens. 2. ed. São Paulo: ROCA, 2014.

LUZA, A. L. et al. **Spatial distribution of the greater rhea, *Rhea americana* (Linnaeus, 1758), in Rio Grande do Sul, southern Brazil: citizen-science data, probabilistic mapping, and comparison with expert knowledge.** Ornithology Research, v. 31, n. 4, p. 253–264, 2023.

MAPA. **Ficha técnica Influenza Aviária (IA).** Ficha técnica GOV.BR, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/influenza-aviaria>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

MAPBIOMAS. **Desmatamento nos biomas do Brasil cresceu 22,3% em 2022.** 2023. Disponível em: <https://brasil.mapbiomas.org/2023/06/12/desmatamento-nos-biomas-do-brasil-cresceu-223-em-2022/>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

MASACHESSI, G. et al. **Establishment and maintenance of persistent infection by picobirnavirus in greater rhea (*Rhea Americana*).** Archives of Virology, v. 157, n. 11, p. 2075–2082, 2012.

MCFADZEAN, H. et al. **Retrospective analysis of necrotizing typhlitis cases associated with *Brachyspira* spp. in British rheas.** Avian Pathology, v. 50, n. 3, p. 246–256, 2021.

MCMILLAN, E. G.; ZELLEN, G. **Histomoniasis in a rhea.** Can Vet J, v. 4, n. 32, p. 244–244, 1991.

MEYER, A. M.; PHAIR, K.; WEST, G. **Use of computed tomography for investigation of rhinitis and sinusitis in a greater rhea (*Rhea americana*).** Journal of Zoo and Wildlife Medicine, v. 47, n. 4, p. 1069–1072, 2016.

MINERVINO, A. H. H. et al. **Serum Biochemistry of Greater Rhea (*Rhea americana*) in Captivity in the Northeast of Brazil.** Animals: an Open Access Journal from MDPI, v. 13, n. 13, 1 jul. 2023.

NASA. **Astronomy Picture of the Day.** Disponível em:

<https://apod.nasa.gov/apod/ap230620.html>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

NUNES, V. A. et al. **Ocorrência da Doença de Newcastle em Emas (*Rhea americana*) mantidas em cativeiro no Jardim Zoológico de Brasília**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, n. 10, p. 35–39, 1975.

OIE. **Newcastle disease**. Disponível em: <https://www.woah.org/en/disease/newcastle-disease/>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

PANIGRAHY, B.; SENNE, D. A.; PEARSON, J. E. **Presence of Avian Influenza Virus (AIV) Subtypes H5N2 and H7N1 in Emus (*Dromaius novaehollandiae*) and Rheas (*Rhea americana*): Virus Isolation and Serologic Findings**. Avian Diseases, v. 39, n. 1, p. 64, 1995.

PARQUE ECOLÓGICO KLABIN. **ema**. Disponível em: <https://parqueecologico.klabin.com.br/-/ema>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

PEEK, S. F.; SEMRAD, S. D.; PERKINS, G. A. **Clostridial myonecrosis in horses (37 cases 1985– 2000)**. Equine Veterinary Journal, v. 35, n. 1, p. 86–92, 2003.

PINTO, L. W. S.; CORRÊA, E. S.; VIEIRA-DA-MOTTA, O. **Molecular and biochemists studies of *Escherichia coli* from emas (*Rhea americana*)**. Disponível em: <https://sbmicrobiologia.org.br/cd28cbm/resumos/R0175-1.PDF>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

PIVA, M. M. et al. **Monensin poisoning outbreak in free-ranging and captive birds**. Veterinary Research Communications, v. 48, n. 1, p. 607–613, 2024.

POST, K. et al. ***Campylobacter jejuni* isolated from ratites**. J Vet Diagn Invest, n. 4, p. 345–347, 1992.

REISSIG, E. C. et al. **Pulmonary aspergillosis in great rhea (*Rhea americana*)**. Avian Dis, n. 46, p. 754–756, 2002.

SANFORD, S. E.; REHMTULLA, A. J.; JOSEPHSON, G. K. A. **Tuberculosis in Farmed Rheas (*Rhea americana*)**. Avian Diseases, v. 38, n. 1, p. 193, 1994.

SEGABINAZI, S. D. et al. **Megabacteriose em emas (*Rhea americana*) no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil**. Ciência Rural, v. 34, n. 3, p. 959–960, 2004.

SHIVAPRASAD, H. L. **Gangrenous Dermatitis in Poultry**. Em: Clostridial Diseases of Animals. Wiley, 2016.

SHIVAPRASAD, H. L.; BARNES, H. J. **Integumentary System**. Em: ABDUL-AZIZ, T. et al. (Eds.). Avian Histopathology. 4. ed. Madison: American Association of Avian Pathologists, Inc, 2016.

SICK, H. **Ordem Rheiformes**. Em: Ornitologia Brasileira. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 2001.

SMITH, D. A. **Palaeognathae: Apterygiformes, Casuariiformes, Rheiformes, Struthioniformes; Tinamiformes**. Pathology of Wildlife and Zoo Animals, p. 635–651, 2018.

SOARES, M. P. et al. **Chronic fascioliasis in farmed and wild greater rheas (*Rhea americana*)**. Veterinary Parasitology, v. 145, n. 1–2, p. 168–171, 2007.

SOBOLL, D. S. **Avaliação da incubação e das causas de mortalidade até 90 dias em um criatório de emas (*Rhea americana*) no Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias. Brasília/DFUnB, 2007.

SOUSA JÚNIOR, J. F. DE et al. **Acute aflatoxicosis outbreak in rheas (*Rhea americana*) in Brazil: Case report**. Toxicon, v. 214, p. 104–107, 2022.

STODDARD, N. et al. **Fatal *Clostridium septicum* myonecrosis from gastric perforation: A case report**. Anaerobe, v. 72, p. 102445, 2021.

SWAYNE, D. E. et al. (EDS.). **Diseases of Poultry**. Wiley, 2020.

THOMPSON, B. S.; GOODRICH, E. L. **Miscellaneous Infectious Diseases**. Rebhun's Diseases of Dairy Cattle: Third Edition, p. 737–783, 2018.

TOMPKINS CONSERVATION CHILE. **Reintroduced Rheas Help Restore Patagonia's Grasslands**. Disponível em: <https://rewilding.org/reintroduced-rheas-help-restore-patagonias-grasslands/#:~:text=Reintroduced%20Rheas%20Help%20Restore%20Patagonia%E2%80%99s%20Grasslands%20Tompkins%20Conservation,prevent%20the%20local%20extinction%20of%20this%20iconic%20bird>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

TUBELIS, D. P. **Remnant Avian Megafauna in South America: An Evaluation of the Occurrence of Breeding Greater Rheas (*Rhea americana*) in NonProtected Landscapes in the Brazilian Cerrado**.

International Journal of Zoology and Animal Biology, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2023.

UHART, M. et al. **Evaluation of the health of free-ranging greater rheas (*Rhea americana*) in Argentina**. Veterinary Record, v. 158, n. 9, p. 297–303, 2006.

VALBERG, S. J. **Infectious Myopathies in Horses**. Disponível em: Infectious Myopathies in Horses - Musculoskeletal System - Merck Veterinary Manual (merckvetmanual.com). Acesso em: 14 de abril de 2024.

VALENTINE, B. A. **Skeletal Muscle**. Pathologic Basis of Veterinary Disease, p. 908, 2017.

VALENZUELA, D. et al. **Consumption of animals beyond diet in the Atacama Desert, northern Chile (13,000–410BP): Comparing rock art motifs and archaeofaunal records**.

Journal of Anthropological Archaeology, v. 40, p. 250–265, 2015.

VAN RIPER III, C.; FORRESTER, D. J. Avian Pox. Em: THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B.; ATKINSON, C. T. (Eds.). **Infectious Diseases of Wild Birds**. 1. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007.

VIEIRA, A. A. S. et al. **Genotipagem de *Clostridium perfringens* isolados de Leitões diarreicos**. Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, n. 4, p. 513–516, 2008.

VOGELSANG, E. G. **Viruela aviaria en el nandu (*Rhea americana*)**. La Semana Médica, 1938.

WIKIAVES. **Mapa de Registros**. Disponível em:
https://www.wikiaves.com.br/mapaRegistros_ema. Acesso em: 14 de abril de 2024.

WISSMAN, M. A.; PARSONS, B. **Mycoplasmosis in the Common Rhea (*Rhea americana*)**. Journal of Avian Medicine and Surgery, v. 1, n. 10, p. 28–30, 1996.

YASUDA, M. et al. **A case of nontraumatic gas gangrene in a common marmoset (*Callithrix jacchus*)**. Journal of Veterinary Medical Science, v. 77, n. 12, p. 1673–1676, 2015.

ZETTERMANN, C. D. et al. **Observations on helminth infections of free-living and captive rheas (*Rhea americana*) in Brazil**. Veterinary Parasitology, v. 129, n. 1–2, p. 169–172, 2005.

ANEXO



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Registro voluntário para o aproveitamento de amostras biológicas de animais

Número: 94079-1	Data da Emissão: 25/04/2024 12:08:03	Data da Revalidação*: 25/04/2025
De acordo com o artigo 22 da Portaria ICMBio nº 748/2022, a coleta e transporte de amostras que não requeiram a captura de espécime da fauna dispensa autorização do Sisbio, quando fora de unidade de conservação e fora de caverna; sendo facultativa, exceto em unidade de conservação ou em caverna, a obtenção de registro voluntário para o recolhimento e transporte de animais encontrados mortos e outras amostras (que não implique na captura do animal), para aproveitamento científico ou didático.		

Dados do titular

Nome: LILIAN RAYANNE DE CASTRO ELOY	CPF: 408.349.708-48
-------------------------------------	---------------------

Observações e ressalvas

1	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonótica no Brasil devido à gripe aviária. Informe-se na página do CEMAVE na Internet: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cehave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1 .
2	O documento não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anulações, como: I) do proprietário, arrendatário, possessor ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis;
3	Este documento não é válido para: a) a coleta/transporte de espécimes encontrados vivos in situ ou para a coleta/transporte de amostras biológicas obtidas a partir da captura, contenção ou tóxico de animais; b) recolhimento ou envio de material biológico ao exterior; e c) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna.
4	O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/6/90).
7	Caso seja identificada a ocorrência de espécie exótica dentro ou no entorno da UNIDADE DE CONSERVAÇÃO FEDERAL, além de descrever no relatório de atividades, o pesquisador deve informar à equipe gestora com maior brevidade possível.

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Recolhimento e transporte de carcaças e amostras biológicas para aproveitamento científico ou didático.	Fora de UC Federal

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	Espécie	Animalia > Chordata > Aves > Rheiformes > Rheidae > Rhea > Americana

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0940790120240425

Página 1/1