

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELA OLIVEIRA DA PAZ AUGUSTO PINTO

VALORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PERQUITOS-DE-COLAR (*Psittacula krameri*) SAUDÁVEIS ADULTOS E ALTERAÇÕES NA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

CURITIBA

2022

GABRIELA OLIVEIRA DA PAZ AUGUSTO PINTO

VALORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PERQUITOS-DE-COLAR (*Psittacula krameri*) SAUDÁVEIS ADULTOS E ALTERAÇÕES NA ESTAÇÃO REPRODUTIVA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador(a): Prof.(a). Dr(a). Rosangela Locatelli Dittrich.

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Pinto, Gabriela Oliveira da Paz Augusto

Valores hematológicos e bioquímicos de periquitos-de-colar (Psittacula krameri) saudáveis adultos e alterações na estação reprodutiva / Gabriela Oliveira da Paz Augusto Pinto . – Curitiba, 2022.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Profa. Dra. Rosangela Locatelli Dittrich

1. Aves. 2. Reprodução. I. Dittrich, Rosangela Locatelli. II. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
VETERINÁRIAS - 40001016023P3

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **GABRIELA OLIVEIRA DA PAZ AUGUSTO PINTO** intitulada: **VALORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE PERIQUITOS-DE-COLAR (*Psittacula krameri*) SAUDÁVEIS ADULTOS E ALTERAÇÕES NA ESTAÇÃO REPRODUTIVA**, sob orientação da Profa. Dra. ROSANGELA LOCATELLI DITTRICH, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 02 de Junho de 2022.

Assinatura Eletrônica

07/06/2022 11:01:38.0

ROSANGELA LOCATELLI DITTRICH

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

03/06/2022 17:38:41.0

PAULO ROGERIO MANGINI

Avaliador Externo (INSTITUTO BRASILEIRO PARA MEDICINA DA CONSERVAÇÃO)

Assinatura Eletrônica

06/06/2022 10:28:12.0

ROGERIO RIBAS LANGE

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho à minha avó Aneli Oliveira da Paz (in memoriam) por todo amor, carinho e tempo dedicados a mim.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida, pela oportunidade e principalmente pelo amparo. Por sempre estar presente em minha vida. Por não me abandonar e não desistir de mim.

Agradeço à minha família pelo apoio, por serem meu porto seguro, onde recarrego minhas energias.

Agradeço ao meu esposo, Guilherme, por estar comigo em todos os momentos. Por acreditar em mim, quando eu mesma não acreditava. Por sempre me apoiar. Por me levar para tomar um café depois de um longo dia de leitura de artigos e tentativas de escrita.

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Rosangela Locatelli Dittrich pelos quatro anos de orientação, desde a residência, e agora no mestrado. Obrigada pela oportunidade, por acreditar no meu trabalho. Obrigada por todos os ensinamentos, inúmeros, que acrescentaram muito na minha vida pessoal e profissional.

Agradeço aos professores componentes da minha banca avaliadora Prof. Dr. Rogério Ribas Lange e Prof. Dr. Paulo Rogério Mangini, pela disponibilidade em avaliar meu trabalho e por todas as sugestões dadas.

Agradeço a minha amiga Giovana Scuiatti de Souza, por todo apoio, pela ajuda com as amostras, pelos conselhos, pela ajuda na busca de artigos quando eu me via perdida e desesperada. E por cada palavra de encorajamento.

Agradeço ao André Saldanha e às estagiárias que muitas vezes o acompanharam, pelo auxílio com as coletas e manejo das aves.

Agradeço a todos os funcionários e amigos do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Paraná. Em especial ao Olair Carlos Beltrame e a Louise Cândido pela colaboração com os bioquímicos e às residentes Daiane Dambroski Nack, Maiara Paifer e Penélope Viviani. Pelas pausas para o café após um longo dia de análises.

Agradeço à Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de aperfeiçoamento e pelo grande aprendizado adquirido.

Aos meus colegas de pós-graduação pelo apoio e ajuda sempre que alguém tinha alguma dificuldade. E principalmente às minhas colegas/amigas da área de diagnóstico/patologia clínica, Ana Paula Sato, Bianca Ressetti, Flavia Moreira, Luciana Doria e Sandra Vogel, por sempre sanarem minhas dúvidas, me enviarem os modelos de documentos, por toda ajuda e palavra de apoio. Com certeza tornaram essa caminhada mais tranquila e prazerosa.

Agradeço ao Laboratório de Criação e Incubação de Animais Alternativos, Silvestres e Exóticos (LACRIAS) e à Professora Chayane da Rocha por abrir as portas do LACRIAS para a execução do meu projeto. Aos funcionários responsáveis pelo manejo das aves.

Agradeço ao Lineu Alberto Cavazani pela ajuda com as análises estatísticas.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida no primeiro ano de mestrado.

Agradeço aos periquitos-de-colar, pois sem eles este trabalho não seria possível.  
Gratidão.

Por último, mas não menos importante, agradeço à minha psicóloga Daiana Borges por todo amparo, por me ajudar nos momentos em que eu achei que não aguentava mais, por me mostrar que sou forte e corajosa e que sim sou capaz.

Por fim agradeço a todos que de alguma forma colaboraram com meu crescimento pessoal e profissional nestes dois anos.

“A natureza nos uniu em uma imensa família,  
e devemos viver nossas vidas unidos,  
ajudando uns aos outros”.

(Sêneca)

## RESUMO

O *Psittacula krameri*, também conhecido como Periquito-de-colar e “Ring-neck”, é uma das aves mais vendidas como “pet” atualmente no Brasil. Quando doentes, as aves apresentam sinais clínicos sutis e inespecíficos, dificultando o diagnóstico. Os exames laboratoriais desempenham um papel importante no diagnóstico de doenças de aves. São exames simples e pouco invasivos, que contribuem para triagem, diagnóstico de doenças e monitoramento do tratamento. Até o presente, existem poucos relatos sobre perfis hematológicos e bioquímicos de *Psittacula krameri*. A presente dissertação foi dividida em dois capítulos: O capítulo I objetivou determinar valores de referência de parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática em *Psittacula krameri* adultos, saudáveis, de cativeiro. Esse é o primeiro relato de intervalos de referência de *Psittacula krameri* no Brasil. Amostras de sangue foram coletadas de 58 aves (33 machos e 25 fêmeas). Os intervalos de referência para os parâmetros hematológicos foram: número de eritrócitos  $1,91-3,64 \times 10^6/\mu\text{L}$ , hematócrito 41,19-53,98%, HGB 7,9-16,1 g/dL, MCV 128,4-210,68 fL, MCH 24,85-56,15 pcg, MCHC 19-31,62 g/dL, leucócitos totais  $1,0-8,0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , heterófilos  $0,134-4,678 \times 10^3/\mu\text{L}$ , linfócitos  $0,368-3,213 \times 10^3/\mu\text{L}$ , monócitos  $0,033-1,440 \times 10^3/\mu\text{L}$ , eosinófilos  $0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , basófilos  $0-0,760 \times 10^3/\mu\text{L}$ , relação heterófilo:linfócito 0,12-2,97, proteína plasmática total 3,28-5,1 g/dL. Os intervalos dos parâmetros bioquímicos foram: ácido úrico 1,51-15,33 mg/dL, albumina 1,04-2,64 g/dL, AST 62,99-485,76 U/L, cálcio 6,79-10,18 mg/dL, CK 321-3279,51 U/L, colesterol total 191,15-446,49 mg/dL, fósforo 2,67-8,05 mg/dL, GGT 7,2-29,37 U/L, globulina 1,12-2,05 g/dL, LDH 213,78-768,6 U/L, proteína total 2,7-4,2 g/dL e triglicerídeos 41,1-502,02 mg/dL. Não houve diferença significativa dos parâmetros entre machos e fêmeas, exceto na contagem relativa de monócitos, a qual resultou em intervalos diferentes entre fêmeas e machos. Os valores estabelecidos nesse estudo contribuem no diagnóstico e auxiliam no controle e monitoramento de doenças. O capítulo II objetivou avaliar os perfis hematológicos e bioquímicos dos *Psittacula krameri* na estação reprodutiva. Este é o primeiro relato de parâmetros hematológicos e bioquímicos em *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva. Foram coletadas amostras de sangue de 31 aves (16 machos e 15 fêmeas) em dois momentos, antes da estação reprodutiva (junho) e durante a estação reprodutiva (outubro). Verificou-se diferença significativa para alguns parâmetros, entre a primeira coleta e a estação reprodutiva. Os parâmetros são: hematócrito ( $49,29 \pm 3,19$  para  $45,19 \pm 5,53$ ), número de metarubrócitos ( $0,1 \pm 0,4$  para  $3,16 \pm 2,85$ ) e de policromatófilos ( $4,39 \pm 1,31$  para  $6,45 \pm 2,45$ ), VCM ( $165,26 \pm 18,1$  para  $155,87 \pm 18,46$ ), CHCM ( $26,55 \pm 1,82$  para  $28,26 \pm 1,41$ ), número de leucócitos totais ( $3032,26 \pm 2073,30$  para  $4129,03 \pm 2261,89$ ), contagem relativa de heterófilos ( $32,45 \pm 12,45$  para  $45,1 \pm 18,42$ ), linfócitos ( $52,26 \pm 14,37$  para  $35,06 \pm 17,13$ ) e monócitos ( $9,48 \pm 4,49$  para  $13,06 \pm 6,97$ ), contagem absoluta de heterófilos ( $1056,45 \pm 998,04$  para  $1910,32 \pm 1482,47$ ), monócitos ( $280,65 \pm 219,21$  para  $495,16 \pm 363,51$ ), basófilos ( $190,97 \pm 193,67$  para  $262,9 \pm 202,7$ ) e relação heterófilo:linfócito ( $0,75 \pm 0,53$  para  $1,97 \pm 1,65$ ). Nos parâmetros bioquímicos, a GGT ( $24,62 \pm 7,61$  para  $18,17 \pm 9,59$ ), albumina ( $2,09 \pm 0,24$  para  $2,47 \pm 0,41$ ), globulinas ( $1,85 \pm 0,3$  para  $1,39 \pm 0,52$ ), CK ( $1476,44 \pm 691,49$  para  $1574,27 \pm 2777,75$ ), LDH ( $624,64 \pm 330,94$  para  $317,28 \pm 94,54$ ), fósforo ( $6,61 \pm 2$  para  $5,37 \pm 2,07$ ) e a relação albumina:globulina ( $1,16 \pm 0,26$  para  $2,11 \pm 1,05$ ). Na avaliação da extensão sanguínea corada foram encontrados precursores de eritrócitos em diferentes estágios de desenvolvimento nas fêmeas durante a postura, o que sugere maturação assíncrona devido à eritropoiese acelerada. Os resultados encontrados revelam a influência do período reprodutivo nos parâmetros sanguíneos de *Psittacula krameri*.

Palavras-chave: Ring-neck. Psitacídeo. Hematologia. Reprodução. Medicina aviária.

## ABSTRACT

The Rose-ringed parakeet (*Psittacula krameri*), also known as "Ringneck", is the best selling bird as a pet in Brazil currently. When they are ill, the birds present subtle and nonspecific clinical signs, making diagnosis difficult. Laboratory tests perform an important role in avian illnesses diagnosis. These exams are simple and little invasive and contribute to screening, diseases diagnosis and treatment follow-up. Until now, there are few Rose-ringed parakeets hematological and biochemical parameters reports. This dissertation was divided into two chapters. Chapter I aimed to determine hematological and biochemical reference intervals in healthy adult Rose-ringed parakeets in captivity. This is the first reference interval report in Rose-ringed parakeets in Brazil. Blood samples were collected from 58 birds (33 males and 25 females). The hematological reference intervals were red blood cells  $1.91\text{-}3.64 \times 10^6/\mu\text{L}$ , package cell volume 41.19-53.98%, HGB 7.9-16.1 g/dL, MCV 128.4-210.68 fL, MCH 24.85-56.15 pcg, MCHC 19-31.62 g/dL, white blood cells  $1.0\text{-}8.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , heterophils  $0.134\text{-}4.678 \times 10^3/\mu\text{L}$ , lymphocytes  $0.368\text{-}3.213 \times 10^3/\mu\text{L}$ , monocytes  $0.033\text{-}1.440 \times 10^3/\mu\text{L}$ , eosinophils  $0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , basophils  $0\text{-}0.760 \times 10^3/\mu\text{L}$ , heterophil:lymphocyte ratio 0.12-2.97, total plasmatic protein 3.28-5.1 g/dL. The biochemical reference intervals were uric acid 1.51-15.33 mg/dL, albumin 1.04-2.64 g/dL, AST 62.99-485.76 U/L, calcium 6.79-10.18 mg/dL, CK 321-3279.51 U/L, total cholesterol 191.15-446.49 mg/dL, phosphorus 2.67-8.05 mg/dL, GGT 7.2-29.37 U/L, globulins 1.12-2.05 g/dL, LDH 213.78-768.6 U/L, total protein 2.7-4.2 g/dL e triglycerides 41.1-502.02 mg/dL. There was no significant difference in parameters between males and females, except in relative monocyte count, resulting a different interval for males and females. The values established in this study contribute to diagnosis and help in the control and monitoring of diseases. Chapter II aimed to evaluate Rose-ringed parakeets hematological and biochemical profiles in the breeding season. This is the first hematological and biochemical parameters report in Rose-ringed parakeets during breeding season. Blood samples were collected from 31 birds (16 males and 15 females) in two moments, before breeding season (June) and during breeding season (October). It was found significant difference for some parameters between first collection and breeding season. The parameters are: package cell volume ( $49.29\pm 3.19$  to  $45.19\pm 5.53$ ), metarubricyte ( $0.1\pm 0.4$  to  $3.16\pm 2.85$ ) and policromatophils ( $4.39\pm 1.31$  to  $6.45\pm 2.45$ ), MCV ( $165.26\pm 18.1$  to  $155.87\pm 18.46$ ), MCHC ( $26.55\pm 1.82$  to  $28.26\pm 1.41$ ), white blood cells ( $3032.26\pm 2073.30$  to  $4129.03\pm 2261.89$ ), relative heterophils count ( $32.45\pm 12.45$  to  $45.1\pm 18.42$ ), lymphocytes ( $52.26\pm 14.37$  to  $35.06\pm 17.13$ ) and monocytes ( $9.48\pm 4.49$  to  $13.06\pm 6.97$ ), absolute heterophils count ( $1056.45\pm 998.04$  to  $1910.32\pm 1482.47$ ), monocytes ( $280.65\pm 219.21$  to  $495.16\pm 363.51$ ), basophils ( $190.97\pm 193.67$  to  $262.9\pm 202.7$ ) and heterophil:lymphocyte ratio ( $0.75\pm 0.53$  to  $1.97\pm 1.65$ ). In the biochemical parameters, GGT ( $24.62\pm 7.61$  to  $18.17\pm 9.59$ ), albumin ( $2.09\pm 0.24$  to  $2.47\pm 0.41$ ), globulins ( $1.85\pm 0.3$  to  $1.39\pm 0.52$ ), CK ( $1476.44\pm 691.49$  to  $1574.27\pm 2777.75$ ), LDH ( $624.64\pm 330.94$  to  $317.28\pm 94.54$ ), phosphorus ( $6.61\pm 2$  to  $5.37\pm 2.07$ ) and albumin:globulin ratio ( $1.16\pm 0.26$  to  $2.11\pm 1.05$ ). In blood smears evaluation were found erythrocyte precursor in different stages of development in females during laying season, it suggests asynchronous maturation by accelerated erythropoiesis. The results found reveal the breeding season influence in the blood parameters in Rose-ringed parakeets.

Keywords: Ring-neck. Parrot. Hematology. Breeding season. Avian medicine.

# LISTA DE FIGURAS

## Capítulo I

Figura 1 - Sangue periférico de *Psittacula krameri* saudável. A- Eritrócitos maduros e um eritrócito policromatófilo (seta). B- Eritrócitos maduros e metarrubrócito (seta). C- Heterófilo (seta). D- Eosinófilo (seta). E- Basófilo (seta). F- Linfócito (seta). G- Monócito (seta). H- Trombócito (seta). I- Dois trombócitos (setas pretas) e dois linfócitos (setas vermelhas). Coloração de May Grünwald-Giemsa (100x).. ..... 28

## Capítulo II

Figura 1 - Precusores eritróides em esfregaço de aspirado de medula óssea de papagaios *Amazonia hispaniola*, coloração de Wright-Giemsa, aumento de 100x..... 43

Figura 2 - Presença de policromatófilos (seta preta) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x. .... 47

Figura 3 - Metarrubrócito (seta preta fina), monócito (seta vermelha) e linfócito (seta preta larga) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x. .... 48

Figura 4 - Presença de pleomorfismo nuclear de policromatófilos (seta preta) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x. .... 48

Figura 5 - Eritrócitos imaturos em diferentes estágios de desenvolvimento (setas vermelhas), encontradas em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x. .... 49

Figura 6 - Células precursoras de eritrócitos com intensa basofilia citoplasmática (seta vermelha) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x. .... 49

Figura 7 - Figura de mitose (seta vermelha) encontrada em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x. .... 50

# LISTA DE TABELAS

## Capítulo I

- Tabela 1 - Tabela 1: Níveis de garantia da dieta formulada comercialmente utilizada para a alimentação dos *Psittacula krameri ad libdum*.....26
- Tabela 2 – Descrição da mediana, desvio padrão por grupo e variação sexo-específica para valores hematológicos e de proteína plasmática total para *Psittacula krameri* no estado do Paraná, Brasil.....30
- Tabela 3 - Intervalo de referência, valores mínimos e máximos com intervalos de confiança de 90% para valores hematológicos e de proteína plasmática total para *Psittacula krameri* no estado do Paraná, Brasil.....31
- Tabela 4 - Descrição da mediana, desvio padrão por grupo e variação sexo-específica para bioquímicos plasmáticos para *Psittacula krameri* saudáveis no estado do Paraná, Brasil.....31
- Tabela 5 - Intervalo de referência, valores mínimos e máximos com intervalos de confiança de 90% para bioquímicos plasmáticos para *Psittacula krameri* saudáveis no estado do Paraná, Brasil.....32

## Capítulo II

- Tabela 1 - Valores dos parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática de fêmeas e machos de *Psittacula krameri* fora da estação reprodutiva e durante a estação reprodutiva/postura .....44
- Tabela 2 - Valores dos parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática de fêmeas de *Psittacula krameri* fora da estação reprodutiva e durante a postura .....45
- Tabela 3 - Valores dos parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática de machos de *Psittacula krameri* fora da estação reprodutiva e durante a estação reprodutiva .....46

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

HGB	- Hemoglobina
VCM	- Volume corpuscular médio
HCM	- Hemoglobina corpuscular média
CHCM	- Concentração de hemoglobina corpuscular média
fL	- Fentolitros
g/dL	- Grama por decilitro
pcg	- Picograma
mg/dL	- Miligrama por decilitro
U/L	- Unidade por litro
AST	- Aspartato aminotransferase
CK	- Creatinoquinase
GGT	- Gama glutamil transferase
LDH	- Lactato desidrogenase
n	- Número de animais
cm	- Centímetros
<i>et al.</i>	- "et alii", e outros
mL	- Mililitro
RBC	- Eritrócitos
PCV	- Hematócrito
Rpm	- Rotações por minuto
IFCC	- "International Federation of Clinical Chemistry"
UV	- Ultravioleta
H:L	- Relação heterofilo:linfócito
DP	- Desvio padrão
Min	- Mínimo
Max	- Máximo
IC	- Intervalo de confiança
P	- Paramétrico
NP	- Não paramétrico
(F)	- Fêmeas
(M)	- Machos
PPT	- Proteína plasmática total
IR	- Intervalo de referência
mm	- Milímetros
A:G	- Relação albumina:globulina
VLDL	- Lipoproteína de densidade muito baixa

## LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

/μL - por microlitro

± - mais ou menos

n° - número

°C - graus Célsius

m<sup>2</sup> - metros quadrados

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1	Objetivos.....	17
1.1.1	Objetivo geral .....	17
1.1.2	Objetivos específicos.....	17
	Referências .....	17
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO I - Valores hematológicos e bioquímicos de Periquitos-de-colar (<i>Psittacula krameri</i>) saudáveis adultos de cativeiro</b> .....	<b>20</b>
	Resumo .....	20
	Abstract.....	22
2.1	Introdução.....	24
2.2	Material e Métodos.....	25
2.2.1	Local e animais.....	25
2.2.2	Amostras.....	26
2.2.3	Exames hematológicos .....	27
2.2.4	Análise estatística .....	29
2.3	Resultados.....	30
2.4	Discussão.....	32
2.5	Conclusão .....	35
	Referências .....	35
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO II – Alterações hematológicas e de bioquímica plasmática em Periquitos-de-colar (<i>Psittacula krameri</i>) durante a estação reprodutiva.....</b>	<b>38</b>
	Resumo .....	38
	Abstract.....	39
3.1	Introdução.....	40
3.2	Material e Métodos.....	41
3.2.1	Animais.....	41
3.2.2	Amostras.....	41
3.2.3	Exames hematológicos .....	42
3.2.4	Análise estatística .....	43
3.3	Resultados.....	43
3.4	Discussão.....	50
3.5	Conclusão .....	53
	Referências .....	54
	<b>ANEXO 1 – Certificado de aprovação no comite de ética .....</b>	<b>56</b>
	<b>ANEXO 2 - Tabela comparativa com os parâmetros hematológicos e bioquímicos de <i>Psittacula krameri</i> do presente estudo e demais autores.....</b>	<b>57</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o ramo da medicina aviária e exótica vem crescendo de forma consistente na medicina veterinária. O Brasil é um dos países com a maior variedade de psitacídeos, contando com 80 espécies descritas do total de 100 da América do Sul (MURER *et al.*, 2018). O mercado “pet” de aves no Brasil vem crescendo, exigindo dos médicos veterinários cada vez mais capacitação (GRESPLAN & RASO, 2014).

Entre as espécies de animais silvestres mais criadas no Brasil o *Psittacula krameri* (Periquito-de-colar) está em sétimo lugar e é a sexta espécie mais vendida, sendo a ave exótica mais vendida entre 2015 e 2018 (TRAJANO & CARNEIRO, 2019). O mercado de animais exóticos abrange 23% do mercado de animais de estimação do País. A família Psittacidae representou 18% dos animais comercializados no referido período (TRAJANO & CARNEIRO, 2019). A ordem dos Psittaciformes abrange várias espécies de aves que habitam regiões tropicais do Hemisfério Sul, se disseminam pela África, Pacífico e América do Sul (POLO *et al.*, 1998).

Os exames laboratoriais avaliam alterações metabólicas que são indicativos de doença (SCHMIDT *et al.*, 2007). Geralmente aves apresentam sinais clínicos de forma sutil e inespecífica nos estágios iniciais de uma doença, o que dificulta o diagnóstico. Assim sendo, os exames laboratoriais desempenham um papel muito importante na avaliação da saúde de aves (SCHMIDT *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ & MARGALIDA, 2010; RAIDAL, 2020). Os exames laboratoriais são importantes na triagem de aves em zoológicos, centros de recuperação, criadouros e para detecção de doenças (POLO *et al.*, 1998; HERNÁNDEZ & MARGALIDA, 2010).

Exames hematológicos e bioquímicos são métodos simples e pouco invasivos para avaliar o estado de saúde e condições fisiológicas de uma população de vertebrados e para detectar alterações nas condições fisiológicas, patológicas, ecológicas e ambientais (VAZ *et al.*, 2016). Os exames laboratoriais contribuem para triagem, para o diagnóstico de determinada doença ou para confirmar a suspeita clínica, para estipular o prognóstico e para o monitoramento do tratamento (HOCHLEITHNER, 1994).

Até o presente momento existem poucos estudos sobre valores hematológicos e bioquímica sanguínea de *Psittacula krameri* (NAZIFI & VESAL, 2003; MEHMOOD, KHAN & SIDDIQUE, 2003; WILLIAMS *et al.*, 2012; ENAM *et al.*, 2018).

Dentre as condições fisiológicas, a época reprodutiva é importante porque há relatos de diversas alterações hematológicas nesse período. Anemia foi relatada em algumas aves da espécie *Taeniopygia guttata* (Mandarim) (WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008), *Sturnus vulgaris linnaeu* (Estorninhos europeus) (WILLIAMS *et al.*, 2004), *Quelea quelea* (Tecalão-de-bico-vermelho) (JONES, 1983), *Zonotrichia leucophrys oriantha* (Pardal-de-cora-branca-da-montanha) (MORTON, 1994), *Phasianus colchicus* (Faisão-

comum) (HRABČÁKOVÁ *et al.*, 2014; SCHUMANN *et al.*, 2014) e, também em *Columba livia* (Pombo doméstico) (GAYATHRI & HEGDE, 2006).

Não há relatos dessas alterações em *Psittacula krameri*, sendo relevante verificar a ocorrência nessa espécie para poder corrigir alimentação e manejo, de forma a manter o melhor equilíbrio fisiológico dessas aves durante a reprodução.

A presente dissertação está dividida em dois capítulos, o capítulo I com o título “Valores hematológicos e bioquímicos de *Psittacula krameri* (Periquito-de-colar) saudáveis adultos de cativeiro”, e o capítulo II “Alterações hematológicas e de bioquímica plasmática em *Psittacula krameri* (Periquitos-de-colar) durante a estação reprodutiva”.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Este estudo objetivou estabelecer valores de referência de parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática de machos e fêmeas de *Psittacula krameri* criados em cativeiro e avaliar de alterações hematológicas e bioquímicas na estação reprodutiva.

### 1.1.2 Objetivos específicos

Estabelecer valores de referência para parâmetros hematológicos e bioquímicos de fêmeas e machos adultos saudáveis de *Psittacula krameri* criados em cativeiro.

Comparar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de acordo com o sexo das aves.

Discutir as possíveis alterações hematológicas e bioquímicas causadas por hormônios na época reprodutiva de *Psittacula krameri* em machos e fêmeas adultos.

## REFERÊNCIAS

- ENAM, S.J. *et al.* Serum biochemical values of some species of apparently healthy free-living wild birds in Zaria, Nigeria. **Comparative Clinical Pathology**, v.27, p.477-481, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00580-017-2616-y>
- GRESPLAN, A. & RASO, T.F. Psittaciformes (araras, papagaios, periquitos, calopsitas e cacatuas). In: Cubas, Z.S.; Silva, J.C.R. & Catão-Dias, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2014. p.614.

- HERNÁNDEZ, M. & MARGALIDA, A. Hematology and blood chemistry reference values and age-related changes in wild bearded vultures (*Gypaetus barbatus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.46, n.2, p.390–400, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.2.390>
- HOCHLEITHNER, M. Biochemistries. In: Ritchie, B.W.; Harrison, G.J. & Harrison, L.R. **Avian medicine: principles and application**. Wingers Publishing, INC.: Lake Worth, Florida, 1994. p.223-245.
- HRABČÁKOVÁ, P. *et al.* Haematological and Biochemical Parameters during the Laying Period in Common Pheasant Hens Housed in Enhanced Cages. **The Scientific World Journal**, v.2014; 2014: 364602. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/364602>
- JONES, P.J. Haematocrit values of breeding Red-billed queleas *Quelea quelea* (Aves: Ploceidae) in relation to body condition and thymus activity. **Journal of Zoology**, v.201, n.2, p. 217-222, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1983.tb04271.x>
- MEHMOOD, I.; KHAN, A.H. & SIDDIQUE, T. Impact of Novastar on the haematological profiles of the Rose-ringed parakeet. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.23, n.6, p.1928-1929, 2003.
- MORTON, M.L. Hematocrits in montane sparrows in relation to reproductive schedule. **The Condor**, v.96, n.1, p.119-126, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1369069>
- MURER, L. *et al.* Investigação de Salmonella spp. em Psittaciformes exóticos e nativos mantidos em cativeiro na região central do Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.70, n.3, p.815-822, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9794>
- NAZIFI, S. & VESAL, N. Hematological Values of Healthy Roseringed Parakeets (*Psittaculla krameri*). **Journal of Applied Animal Research**, v.24, n.2, p.165-168, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09712119.2003.9706452>
- POLO, F.J. *et al.* Hematologic and Plasma Chemistry Values in Captive Psittacine Birds. **Avian Diseases**, v.42, n.3, p. 523-535, 1998. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/1592679>
- RAIDAL, S. Laboratory Diagnostics for Birds. In: Heatley, J.J, Russel, K.E, editors. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**, Wiley-Academy, 2020. P.429–436. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119108610.ch23>
- SCHMIDT, E.M.S. *et al.* Patologia Clínica em Aves de Produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3, p.9-20, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v12i3.10906>
- SCHUMANN, J. *et al.* Biochemical and haematological profile of pheasant hens during the laying period. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v.17, n.1, p.47-52, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0006>
- TRAJANO, M. de C. & CARNEIRO, L.P. Diagnóstico da Criação Comercial de Animais Silvestres no Brasil. Brasília: Ibama, 2019. p.56p. Disponível em:

<https://www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/2019-ibama-diagnostico-criacao-animais-silvestes-brasil-pdf>

VAZ, F.F. *et al.* Hematologic and Biochemical Values of Wild Red-Tailed Amazon Parrot (*Amazona brasiliensis*) Nestlings With Abnormal Clinical Examination in Rasa Island, Brazil. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.30, n.4, p.350–356, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1647/2015-119>

WAGNER, E.C.; STABLES, C.A. & WILLIAMS, T.D. Hematological changes associated with egg production: direct evidence for changes in erythropoiesis but a lack of resource dependence? **The Journal of Experimental Biology**, v.211, n.18, p.2960-2968, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/jeb.017897>

WILLIAMS, T.D. *et al.* What causes the decrease in haematocrit during egg production? **Functional Ecology**, v.18, n.3, p.330-336, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00829.x>

WILLIAMS, S.M.; HOLTHAUS, L.; BARRON, H.W.; DIVERS, S.J.; MCBRIDE, M.; ALMY, F.; BUSH, S.; LATI-MER, K.S. Improved clinicopathologic assessments of acute liver damage due to trauma in Indian Ring-necked Parakeets (*Psittacula krameri manillensis*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.26, n.2, p.67-75, 2012.

## 2 CAPÍTULO I - VALORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE *Psittacula krameri* (PERIQUITOS-DE-COLAR) SAUDÁVEIS ADULTOS DE CATIVEIRO

### RESUMO

*Psittacula krameri* (periquitos-de-colar) são aves comuns em cativeiro em todo o mundo. O objetivo desse estudo foi determinar intervalos de referência hematológicos e bioquímicos para a espécie para auxiliar no acompanhamento e detecção precoce de doenças, o que contribui para a preservação da saúde das demais aves silvestres e dos seres humanos. As amostras de sangue foram coletadas de 58 aves (33 machos e 25 fêmeas), adultas (entre cinco e dez anos), consideradas saudáveis (baseadas no histórico de saúde, exames físicos e coproparasitológicos) para análises hematológicas e bioquímicas. As amostras de sangue foram coletadas da veia jugular em seringas heparinizadas. Os esfregaços sanguíneos foram realizados imediatamente após a coleta do sangue. As amostras foram acondicionadas e encaminhadas para o laboratório. As análises hematológicas e bioquímicas foram realizadas em até 12 e 24 horas após as coletas, respectivamente. Os perfis bioquímicos realizados foram: renal (ácido úrico), hepático (GGT e AST), proteinograma (proteína total, albumina e globulinas), muscular (AST, CK e LDH), lipídico (colesterol total e triglicérides) e eletrólitos (cálcio e fósforo). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado na análise estatística. Os intervalos de referência foram calculados usando o pacote *reference Intervals R*. A diferença entre os grupos foi analisada pelo teste t de Student ou teste de Mann-Whitney. Os intervalos de referência para os parâmetros hematológicos foram: eritrócitos  $1,91-3,64 \times 10^6/\mu\text{L}$ , hematócrito 41,19-53,98%, HGB 7,9-16,1 g/dL, MCV 128,4-210,68 fL, MCH 24,85-56,15 pcg, MCHC 19-31,62 g/dL, leucócitos totais  $1,0-8,0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , heterófilos  $0,134-4,678 \times 10^3/\mu\text{L}$ , linfócitos  $0,368-3,213 \times 10^3/\mu\text{L}$ , monócitos  $0,033-1,440 \times 10^3/\mu\text{L}$ , eosinófilos  $0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , basófilos  $0-0,760 \times 10^3/\mu\text{L}$ , relação heterófilo:linfócito 0,12-2,97. E para os parâmetros bioquímicos: ácido úrico 1,51-15,33 mg/dL, albumina 1,04-2,64 g/dL, AST 62,99-485,76 U/L, cálcio 6,79-10,18 mg/dL, CK 321-3279,51 U/L, colesterol total 191,15-446,49 mg/dL, fósforo 2,67-8,05 mg/dL, GGT 7,2-29,37 U/L, globulina 1,12-2,05 g/dL, LDH 213,78-768,6 U/L, proteína total 2,7-4,2 g/dL, proteína plasmática total 3,28-5,1 g/dL e triglicérides 41,1-502,02 mg/dL. Não houve diferença significativa entre machos e fêmeas nos parâmetros hematológicos e bioquímicos, exceto na contagem relativa de monócitos. No eritrograma, foram observadas diferenças no número de eritrócitos e na hemoglobina, ao comparar com dados obtidos por outros autores com menor número de aves (n=16 e n=20). Essas diferenças ocorrem pela idade, estado reprodutivo, variação sazonal e ambiental. Os valores de hematócrito foram semelhantes a outro estudo realizado com Periquitos-de-colar (n=16). No leucograma, os heterófilos estão

em maior número, seguidos pelos linfócitos. Eosinófilos foram raramente encontrados. No perfil renal, verificou-se valores de ácido úrico de 1,51-15,33mg/dL, não há dados anteriores em Periquitos-de-colar, mas valores considerados dentro da normalidade em aves são de até 10 mg/dL. A possível causa encontrada foi pela ingestão de dieta formulada comercialmente. No perfil hepático, os valores da GGT foram maiores que os encontrados em um estudo realizado em Athens, Geórgia e os valores da AST foram semelhantes aos encontrados nesse mesmo estudo. No perfil muscular os valores da CK foram altos indicando que pode ter ocorrido estresse durante a captura e contenção das aves. Os valores do perfil lipídico (colesterol e triglicérides) são influenciados pela dieta, exercício, clima e hormônios. Os valores do cálcio e fósforo foram mais elevados do que o estudo realizado na mesma espécie em Zaria, Nigéria. Os valores estabelecidos nesse estudo contribuem no diagnóstico e auxiliam no controle e monitoramento de doenças.

Palavras-chave: Periquito-de-colar, psitacídeo, *Psittacula krameri*, aves, medicina aviária, pets exóticos, ring neck

## ABSTRACT

Rose-ringed parakeets are popular pet birds throughout the world. The aim of this study was to determine hematological and biochemical reference intervals for Rose-ringed parakeets to aim in the keep up with and early detection of diseases, objectifying health preservation for other wild birds and humans. Blood samples were collected from 58 birds (33 males and 25 females), adult (between five and ten years old), healthy (based in its health history, physical examination and stool exams) for hematological and plasma biochemical analyzes. The samples were collected from jugular vein with heparinized syringes. The blood smears were made immediately after blood collection. The samples were packed and forwarded for the laboratory. Hematological and biochemical analyses were performed until 12 and 24 hours after collection, respectively. The biochemical profiles analyzed were renal (uric acid), hepatic (GGT and AST), proteinogram (total protein, albumin and globulins), muscular (AST, CK and LDH), lipid (total cholesterol and triglycerides) and electrolytes (calcium and phosphorus). The Shapiro-Wilk test was used for statistical analyses. The reference intervals were calculated using reference Intervals R package. The difference between groups was analyzed using the Student t test or the Mann-Whitney test. The reference intervals for hematological parameters were RBC  $1.91-3.64 \times 10^6/\mu\text{L}$ , PCV 41.19-53.98%, HGB 7.9-16.1 g/dL, MCV 128.4-210.68 fL, MCH 24.85-56.15 pcg, MCHC 19-31.62 g/dL, WBC  $1.0-8.0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , heterophils  $0.134-4.678 \times 10^3/\mu\text{L}$ , lymphocytes  $0.368-3.213 \times 10^3/\mu\text{L}$ , monocytes  $0.033-1.440 \times 10^3/\mu\text{L}$ , eosinophils  $0 \times 10^3/\mu\text{L}$ , basophils  $0-0.760 \times 10^3/\mu\text{L}$  and heterophil:lymphocyte ratio 0.12-2.97. The reference intervals for biochemical parameters: uric acid 1.51-15.33 mg/dL, albumin 1.04-2.64 g/dL, AST 62.99-485.76 U/L, calcium 6.79-10.18 mg/dL, CK 321-3279.51 U/L, total cholesterol 191.15-446.49 mg/dL, phosphorus 2.67-8.05 mg/dL, GGT 7.2-29.37 U/L, globulin 1.12-2.05 g/dL, LDH 213.78-768.6 U/L, total protein 2.7-4.2 g/dL, total plasma protein 3.28-5.1 g/dL and triglycerides 41.1-502.02 mg/dL. There was no significant difference between males and females for any parameters, except for relative monocyte count, which was higher in males. The values obtained in the present study were determined in a large number of birds. In eritrogram were observed differences in red blood count and hemoglobin concentration comparing with previous data with lower number of birds ( $n=16$  and  $n=20$ ). These differences occur by age, breeding state, seasonal variation and environmental. the package cell volumes were similar other Rose-ringed parakeet study ( $n=16$ ). In leukogram, heterophils were higher followed by lymphocyte. Eosinophils were rarely found. In renal profile was verified high uric acid values (1.51-15.33 mg/dL), there are no previous dice in Rose-ringed parakeets but is considered normal values for birds until 10 mg/dL. The possible reason found was commercially formulated diet ingestion. In hepatic profile, GGT values were higher than that found in a study in Athens, Georgia and the AST values were liked that found in the same study. In

muscular profile, CK values were high indicating some stress during birds catch and restraint. The lipid profile values (cholesterol and triglycerides) are bias by diet, exercise, weather and hormones. The calcium values were higher than a same specie study in Zaria, Nigeria. The values established in this study contribute to the diagnosis and help in diseases control and monitoring.

Key words: Ring-necked parakeet, psittacine, *Psittacula krameri*, avian, avian medicine, exotic pets

## 2.1 INTRODUÇÃO

O *Psittacula krameri* (periquito-de-colar ou “ring neck”), pertence à família Psittacidae, é nativo da África subsaariana e sul da Ásia (FLORY, 2019; ROCHA, *et al.*, 2020). Eles foram introduzidos por seres humanos em alguns países da Europa, Ásia (ocidental, oriental, sudoeste e sudeste), Oriente Médio, América do Sul e Estados Unidos (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2018).

No Brasil a criação de *P. krameri* foi regularizada pelo IBAMA por meio da Instrução Normativa nº 03/2011 de 1º de abril de 2011 (BRASIL, 2011). Entre 2015 e 2018 o *Psittacula krameri* ficou em sétimo lugar entre as espécies de animais silvestres mais criadas no Brasil e a sexta espécie mais vendida, sendo a ave exótica mais vendida nesse período (TRAJANO & CARNEIRO, 2019).

O *Psittacula krameri* é gregário, isto é, formam grupos e vivem em comunidade (MENCHETTI, MORI & ANGELICI, 2016). De forma geral sua plumagem é verde esmeralda claro e a cauda azul esverdeada. Possui tamanho médio de 40 cm, incluindo as penas da cauda, que medem em torno de 14,0 – 28,0 cm (ROCHA *et al.*, 2020). O bico é grande e em forma de gancho, de cor vermelha. A espécie apresenta dimorfismo sexual, os machos adultos (acima de três anos) possuem um anel no pescoço preto e rosa (MENCHETTI, MORI & ANGELICI, 2016; ROCHA *et al.*, 2020). Os periquitos se adaptam facilmente a vários habitats, nidificam em cavidades naturais e artificiais (ROCHA *et al.*, 2020). Durante o período reprodutivo podem apresentar comportamentos agressivos contra outras aves. Podem apresentar comportamento competitivo com aves nativas por alimento e locais para nidificação, afugentando até mesmo morcegos e abelhas (MENCHETTI, MORI & ANGELICI, 2016). Podem causar danos na agricultura, atacando os pomares e celeiros, rasgando sacos de grãos. Aves exóticas de vida livre podem ser reservatório de diversas doenças bacterianas, virais e parasitárias, constituindo uma ameaça às espécies selvagens nativas e à saúde humana (MENCHETTI, MORI & ANGELICI, 2016). Deste modo, a avaliação de sanidade dessas aves, utilizando os valores hematológicos e bioquímicos de referência, são importantes para diagnóstico precoce de doenças, proteção da fauna e populações humanas e para priorizar ações de combate às ameaças que põem em risco populações de espécies e ambientes naturais.

Atualmente existem laboratórios especializados em diagnóstico de doenças de aves e animais exóticos. Sabe-se relativamente pouco sobre as particularidades das espécies, e sobre as diferenças sutis que podem aparecer em animais de diferentes idades, condições de saúde ou reprodutivas (RAIDAL, 2020). De forma geral, principalmente nos estágios iniciais de uma doença, as aves apresentam apenas sinais clínicos sutis e inespecíficos, deste modo, as análises laboratoriais desempenham um papel muito importante na avaliação da saúde das aves (SCHMIDT *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ & MARGALIDA, 2010; RAIDAL, 2020). Os resultados laboratoriais ajudam a responder se existe uma doença não aparente (triagem); se está ocorrendo algum processo patológico (fisiopatologia); se o diagnóstico provisório está correto (confirmação);

sobre a gravidade do processo da doença (prognóstico) e se a terapia instituída foi eficaz no processo da doença (monitoramento) (HOCHLEITHNER, 1994).

Exames hematológicos e bioquímicos são procedimentos pouco invasivos para avaliar o estado de saúde e condições fisiológicas de animais e para identificar alterações nas condições fisiológicas, patológicas, ecológicas e ambientais (VAZ *et al.*, 2016). Através dos valores hematológicos é possível avaliar o estado e saúde dos animais quando há conhecimento sobre valores normais para a espécie. Dessa forma quando houver uma doença será possível monitorar a sanidade e identificar através dos exames laboratoriais (HARR, 2002).

Até o presente momento existem poucos dados sobre valores hematológicos e de bioquímica sanguínea de *Psittacula krameri*. Um estudo hematológico com 16 aves (10 machos e seis fêmeas) (NAZIFI & VESAL, 2003), um estudo com bioquímica sérica com 20 aves de vida livre (sexo não especificado) (ENAM *et al.*, 2018), outro estudo de avaliação hepática com 30 aves (20 machos e 10 fêmeas) (WILLIAMS *et al.*, 2012) e um estudo avaliando impacto de um medicamento sobre os valores da hemoglobina em 20 aves (10 machos e 10 fêmeas) (MEHMOOD, KHAN & SIDDIQUE, 2003).

O objetivo desse estudo foi determinar intervalos de referência de parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos para *Psittacula krameri* saudáveis, adultos e de cativeiro usando um número maior de animais. É importante conhecer os parâmetros normais para essa espécie no Brasil a fim de diagnosticar doenças de forma precoce e manter a sanidade dessas aves, evitando a disseminação de doenças infecciosas, parasitárias e zoonóticas.

Este é o primeiro relato de intervalos de referência hematológicos e bioquímicos em *Psittacula krameri* (periquitos-de-colar) saudáveis de cativeiro no Brasil.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Local e animais

As aves são do Laboratório de Criação e Incubação de Animais Alternativos, Silvestres e Exóticos (LACRIAS), localizado na Fazenda Experimental Canguiri da Universidade Federal do Paraná, Pinhais, Paraná, Brasil (25°23'13.4"S 49°07'34.2"W). O LACRIAS está localizado em uma região de clima Cfb: clima temperado úmido, com verão ameno e temperaturas máximas de 22°C (classificação de Köppen). Foram selecionadas aves adultas de ambos os sexos, baseadas no histórico de saúde (sem sinais de doença nas duas semanas anteriores e posteriores à coleta) e no exame físico normal e coproparasitológicos negativos. Para este estudo foram utilizadas 58 aves, sendo 33 machos e 25 fêmeas adultos, com idade entre cinco e dez anos. A sexagem foi realizada por meio de exame visual, pois os machos dessa espécie apresentam dimorfismo sexual a partir de três anos (ROCHA *et al.*, 2020; MENCHETTI, MORI & ANGELICI, 2016).

As aves foram mantidas em cativeiro, alimentadas com dieta formulada comercialmente (Bambito, Biotron, Rio Claro, São Paulo, Brasil) (Tabela 1) e água à vontade, e receberam frutas e legumes três vezes por semana e sementes (alpiste, painço e sementes de girassol) duas vezes por semana. As aves ficaram alojadas em aviários comunitários (7x7m<sup>2</sup>) dentro de um galpão fechado de alvenaria. Os aviários tinham cortinas, que durante o dia ficam abertas à ventilação natural. À noite as cortinas permaneceram fechadas. A renovação de ar e manutenção da temperatura foi realizada através da abertura e fechamento das cortinas, para que fosse mantida a faixa de conforto térmico e para que não houvesse incidência de ventos diretamente sobre as aves.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Brasil (protocolo 030/2021).

Tabela 1: Níveis de garantia da dieta formulada comercialmente utilizada para a alimentação dos *Psittacula krameri ad libdum*.

Dieta formulada comercialmente	
Matéria seca (%)	90,5
Proteína bruta (%)	16,2
Extrato etéreo ácido (%)	12,8
Cálcio (%)	1,2
Fósforo (%)	0,5
Energia bruta (kcal/kg)	4850

Fonte: LACRIAS

### 2.2.2 Amostras

Foi realizada contenção manual das aves para as coletas. Foi realizada punção percutânea da veia jugular, sendo a área de punção previamente desinfetada com álcool 70%, utilizadas seringas de 1mL e agulhas de calibre 26G (0,45 x 13mm). O volume máximo coletado foi de 1% do peso vivo das aves (Owen, 2011). As amostras de sangue foram coletadas com heparina sódica bovina (Heptar, Eurofarma, Itapevi, São Paulo, Brasil) e acondicionadas em tubos tipo *Eppendorf*. Os esfregaços sanguíneos foram preparados imediatamente após a coleta. Após acondicionadas as amostras sanguíneas foram armazenadas refrigeradas e enviadas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Paraná. As coletas foram realizadas no período da manhã. As análises foram realizadas no mesmo dia. O tempo entre a coleta e o início do processamento no laboratório foi de aproximadamente 3 horas.

### 2.2.3 Exames hematológicos

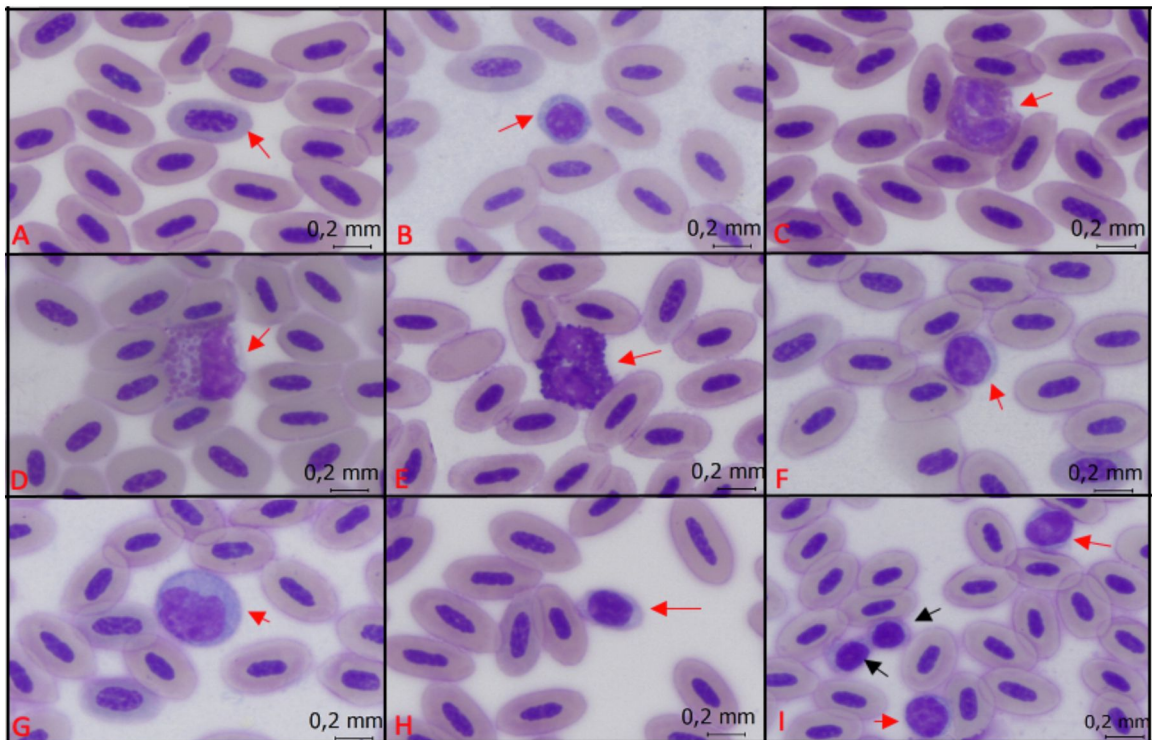
Os parâmetros hematológicos avaliados foram contagem de eritrócitos (RBC), hematócrito (PCV), concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM= hematócrito/RBC), hemoglobina corpuscular média (HCM= concentração de hemoglobina/RBC) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM= concentração de hemoglobina/hematócrito) e contagem total e diferencial de leucócitos. As contagens dos eritrócitos e leucócitos foram realizadas em câmara de Neubauer, com amostras de sangue diluídas 1:100 em solução com corante supra vital azul de cresil brilhante. O hematócrito foi determinado pelo método de microhematócrito, com centrifugação a 12.000rpm (rotação por minuto) por cinco minutos; após a determinação do hematócrito, foi realizada a mensuração da proteína plasmática total com uso de refratômetro óptico com calibração de temperatura (Instrutherm, Freguesia do Ó, São Paulo, Brasil) (VAZ *et al.*, 2016). A concentração da hemoglobina foi realizada de forma semi-automática utilizando a técnica da cianometahemoglobina (colorimétrico), utilizando *kit* comercial (Bioclin, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), sendo realizada a leitura em espectrofotômetro (BA-88A, Mindray, Cidade Monções, São Paulo, Brasil) após a centrifugação. Os esfregaços sanguíneos foram corados pelo método de May Grünwald-Giemsa modificado. Na leitura das lâminas foi realizado a contagem diferencial dos leucócitos em 100 células (usando objetiva 100x – óleo de imersão), a estimativa do número de trombócitos e avaliação dos eritrócitos. A leitura das lâminas foi realizada por profissional treinado e capacitado.

A morfologia dos eritrócitos foi avaliada pelo tamanho, cor e núcleo. Eritrócitos maduros de psitacídeos são elípticos com citoplasma de cor alaranjada, o núcleo é central, elíptico de cor roxa (CAMPBELL, 2015b). Os policromatófilos têm tamanho semelhante ao eritrócito maduro, porém podem ter uma aparência mais arredonda, seu citoplasma é levemente basofílico e o núcleo é mais arredondado e a cromatina é menos condensada (figura 1A). Os metarrubrócitos são menores e esféricos, com citoplasma basofílico/acinzentado, dependendo do estágio de maturação (figura 1B). Os heterófilos são leucócitos com núcleo lobulado (dois a três lóbulos) com cromatina grosseira e aglomerada, o citoplasma é incolor e contém grânulos alongados (fusiformes) que coram de cor eosinofílica (figura 1C). Os eosinófilos têm citoplasma levemente eosinofílico, núcleo lobado e os grânulos são arredondados e eosinofílicos (figura 1D). Os basófilos são redondos, pouco menores que os heterófilos, núcleo geralmente não é lobado, o citoplasma tem grânulos basofílicos redondos (figura 1E). Os linfócitos são esféricos e com grande proporção núcleo-citoplasma, com citoplasma homogêneo claro a levemente basofílico, podem ser caracterizados como pequenos, médios e grandes (figura 1F). Os monócitos são células grandes arredondadas, o núcleo varia em formato (redondo, oval ou lobada), com citoplasma abundante azul-acinzentado, podem ter ocasionais vacúolos e grânulos eosinofílicos finos (figura 1G). Para diferenciar monócitos de linfócitos grandes e reativos, observar o citoplasma, porque monócitos têm citoplasma azul-acinzentado homogêneo e formato irregular. Linfócitos reativos apresentam

citoplasma basofílico, cromatina condensada, zona de Golgi e vacúolos citoplasmáticos. Os trombócitos são células pequenas, podem ser ovais ou redondas, possuem cromatina nuclear densa, citoplasma claro ou azul-acinzentado pálido, pode apresentar um ou mais grânulos nos polos e vacuolizações quando ativados (figura 1H) (CAPITELLI & CROSTA, 2013; JONES, 2015; MITCHELL & JOHNS, 2008).

O plasma foi obtido por centrifugação em rotação de 4.500 rpm por cinco minutos. As análises bioquímicas foram realizadas no equipamento de espectrofotometria automática (BS-200, Mindray, Cidade Monções, São Paulo, Brasil). Foram avaliados os seguintes perfis: hepático – GGT (método SZASZ Modificado IFCC) e AST (método cinético UV), renal - ácido úrico (método enzimático colorimétrico UOD-PAP), proteinograma - proteína total (método Biureto), albumina (método verde bromocresol) e globulinas (cálculo: proteína total – albumina), perfil muscular – CK (método cinético UV), AST e LDH (método cinético UV), lipídico - colesterol total (método enzimático colorimétrico COD-PAP) e triglicérides (método enzimático colorimétrico) e eletrólitos – cálcio (método colorimétrico de ponto final) e fósforo (método UV de ponto final). Foram utilizados kits comerciais (Bioclin, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) para as dosagens bioquímicas, calibração e controle de qualidade.

Figura 1 - Sangue periférico de *Psittacula krameri* saudável. A- Eritrócitos maduros e um eritrócito policromatófilo (seta). B- Eritrócitos maduros e metarrubrócito (seta). C- Heterófilo (seta). D- Eosinófilo (seta). E- Basófilo (seta). F- Linfócito (seta). G- Monócito (seta). H- Trombócito (seta). I- Dois trombócitos (setas pretas) e dois linfócitos (setas vermelhas). Coloração de May Grünwald-Giemsa (100x).



Fonte: O autor (2022).

## 2.2.4 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o R versão 3.6.3 (The R Project for Statistical Computing, 1090, Viena, Áustria) (R CORE TEAM, 2020). Os *outliers* foram identificados usando a distância de Cook no pacote `referenceIntervals` R (FINNEGAN, 2020), se detectados, os *outliers* foram removidos. Os resultados são apresentados de acordo com o tamanho da amostra, normalidade, média e desvio padrão, para a amostra completa (machos e fêmeas juntos) e, também para cada gênero (machos e fêmeas separadamente). As variáveis são apresentadas como média e desvio padrão. A normalidade foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Diferenças sexuais significativas foram avaliadas usando o teste t quando os dados foram distribuídos normalmente ou o Mann-Whitney quando os dados não foram distribuídos normalmente. Primeiro, os dados foram verificados quanto à normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk. Para dados normalmente distribuídos, IRs paramétricos com cobertura de 95% e intervalos de confiança de 90% para os limites de IR foram calculados usando o pacote `referenceIntervals` R. Para os dados que falharam no teste de normalidade de Shapiro-Wilk, IRs não paramétricos com 95% de cobertura e intervalos de confiança de 90% de *bootstrap* para os limites de IR foram calculados usando o pacote `referenceIntervals` R. Para diferenças significativas entre machos e fêmeas calculamos os IR seguindo o mesmo procedimento para cada grupo. As diferenças em todos os testes analíticos foram consideradas significativas em  $P < 0,05$ .

## 2.3 RESULTADOS

Um total de 58 aves adultas foram incluídas no estudo. Todas as aves foram consideradas saudáveis no momento da coleta de sangue, baseado no histórico, exame físico e nos exames fecais. Nas tabelas 2 e 3 estão apresentados a mediana, desvio padrão e intervalos de referência para variáveis hematológicas e nas tabelas 4 e 5 estão apresentados a mediana, desvio padrão e intervalos de referência para as variáveis bioquímicas obtidas de *Psittacula krameri* adultos.

No eritrograma, os resultados obtidos foram: contagem de eritrócitos  $1,91-3,64 \times 10^6/\mu\text{L}$ , hematócrito 41,19-53,98% e hemoglobina 7,9-16,1 g/dL. A estimativa de policromatófilos por campo ficou estabelecida entre um e seis, sendo considerada normal a ocorrência de policromatófilos em baixo número, em aves saudáveis (CAMPBELL, 2015). A contagem diferencial dos leucócitos revelou predomínio de heterófilos (40,53%), seguido por linfócitos (40,24%). Eosinófilos foram raramente encontrados e por este motivo foram suprimidos das tabelas. A média da relação H:L foi  $1,13 \pm 0,72$ , pois a proporção de heterófilos e linfócitos foi bem semelhante.

Não foram encontrados hemoparasitos e nenhuma diferença morfológica foi identificada em eritrócitos e leucócitos. Os valores da proteína plasmática total (refratometria) foram de 3,28-5,1 g/dL, enquanto os valores da proteína total (Biureto) foram de 2,7-4,2 g/dL.

Não foram encontradas diferenças significativas nas variáveis hematológicas e bioquímicas entre machos e fêmeas, exceto na contagem relativa de monócitos ( $P < 0,05$ ), o que resultou em um intervalo de referência para cada.

Tabela 2 – Descrição da mediana, desvio padrão por grupo e variação sexo-específica para valores hematológicos e de proteína plasmática total para *Psittacula krameri* no estado do Paraná, Brasil

Parâmetro Hematológico	Global		Fêmeas		Machos		P-group
	N	Média ± DP	N	Média ± DP	N	Média ± DP	
Eritrócitos ( $10^6/\mu\text{L}$ )	56	2,77 ± 0,44	23	2,83 ± 0,43	33	2,73 ± 0,44	0,43 (t)
P-shapiro		0,3		0,6		0,72	
Hemoglobina (g/dL)	54	10,84 ± 1,89	23	10,98 ± 1,72	31	10,74 ± 2,03	0,49 (mw)
P-shapiro		<0,05		<0,05		<0,05	
Hematócrito (%)	56	47,58 ± 3,26	25	47,92 ± 2,97	31	47,32 ± 3,50	0,49 (t)
P-shapiro		0,19		0,31		0,23	
VCM (fL)	54	169,53 ± 20,99	24	165,45 ± 20,49	30	172,8 ± 21,15	0,20 (t)
P-shapiro		0,82		0,82		0,7	
HCM (pcg)	56	39,92 ± 8,58	25	40,24 ± 8,84	31	39,67 ± 8,50	0,81 (t)
P-shapiro		<0,05		0,15		0,25	
CHCM (g/dL)	54	23,01 ± 3,35	23	23,04 ± 3,30	31	23 ± 3,44	0,91 (mw)
P-shapiro		<0,05		<0,05		<0,05	
Polichromatófilos (/campo)	55	3,72 ± 1,42	23	3,56 ± 1,34	32	3,84 ± 1,48	0,47 (mw)
P-shapiro		<0,05		0,15		<0,05	
Leucócitos totais ( $10^3/\mu\text{L}$ )	56	3875 ± 1038,82	23	4260,62 ± 2055,31	33	3606,06 ± 2014,62	0,29 (mw)
P-shapiro		<0,05		0,09		<0,05	
Heterófilos (%)	54	40,53 ± 10,70	24	41,54 ± 10,56	30	39,73 ± 10,92	0,54 (t)
P-shapiro		0,18		0,13		0,34	
Heterófilos ( $10^3/\mu\text{L}$ )	57	1637,36 ± 1094,0	24	1867,91 ± 1147,62	33	1469,69 ± 1038,75	0,28 (mw)
P-shapiro		<0,05		<0,05		<0,05	
Linfócitos (%)	54	40,24 ± 14,02	25	40,92 ± 11,87	29	39,65 ± 15,82	0,73 (t)
P-shapiro		0,72		0,37		0,16	
Linfócitos ( $10^3/\mu\text{L}$ )	54	1409,16 ± 802,87	22	1636,59 ± 835,66	32	1252,81 ± 753,03	0,07 (mw)
P-shapiro		<0,05		0,36		<0,05	
Monócitos (%)	55	10,83 ± 7,13	25	8,56 ± 6,47	30	12,73 ± 7,20	0,01 (mw)
P-shapiro		<0,05		<0,05		0,07	
Monócitos ( $10^3/\mu\text{L}$ )	54	417,40 ± 373,08	23	301,73 ± 187,89	31	503,22 ± 449,60	0,33 (mw)
P-shapiro		<0,05		0,34		<0,05	
Basófilos (%)	56	6,16 ± 3,65	23	6,69 ± 3,84	33	5,78 ± 3,52	0,37 (t)
P-shapiro		0,11		0,46		0,41	
Basófilos ( $10^3/\mu\text{L}$ )	55	230,63 ± 190,97	22	276,13 ± 230,33	33	200,30 ± 156,07	0,28 (mw)
P-shapiro		<0,05		<0,05		<0,05	
H:L	56	1,13 ± 0,72	25	1,19 ± 0,60	31	1,09 ± 0,81	0,34 (mw)
P-shapiro		<0,05		0,23		<0,05	
PPT (g/dL)	55	4,18 ± 0,46	24	4,12 ± 0,45	31	4,23 ± 0,47	0,37 (t)
P-shapiro		0,09		0,32		0,18	

VCM, volume celular médio; MCH, hemoglobina celular média; MCHC, concentração média de hemoglobina celular. Os dados são apresentados como média ± DP. P-shapiro = valor p para o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. *P-group* = valor p para o teste t ou Mann-Whitney. Diferentes sobrescritos (t, mw) são usados para indicar se foi usado o teste t ou Mann-Whitney, de acordo com a Normalidade. FONTE: O autor (2022).

Tabela 3 - Intervalo de referência, valores mínimos e máximos com intervalos de confiança de 90% para valores hematológicos e de proteína plasmática total para *Psittacula krameri* no estado do Paraná, Brasil

Parâmetro Hematológico	Intervalo de Referência		Limite de referência inferior 90% CI		Limite de referência superior 90% CI		Método
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> /µL)	1,91	3,64	1,74	2,07	3,47	3,8	P
Hemoglobina (g/dL)	7,9	16,1	7,1	8,2	16,1	17,13	NP
Hematócrito (%)	41,19	53,98	39,97	42,42	52,76	55,21	P
VCM (fL)	128,4	210,68	120,37	136,43	202,65	218,71	P
HCM (pcg)	24,85	56,15	21,7	25,7	55,3	57,3	NP
CHCM (g/dL)	19	31,62	19	19	31,25	33	NP
Policromatófilo (/campo)	1	6	0	1	6	6	NP
Leucócitos totais (10 <sup>3</sup> /µL)	1000	8000	1000	1000	8000	8850	NP
Heterófilos (%)	19,56	61,52	15,46	23,65	57,42	65,61	P
Heterófilos (10 <sup>3</sup> /µL)	134	4678	48	188	4516	5613	NP
Linfócitos (%)	12,76	67,72	7,4	18,13	62,36	73,08	P
Linfócitos (10 <sup>3</sup> /µL)	368,75	3213,75	306,25	387,5	3067,5	3607,5	NP
Monócitos (%)	1	20	0	1	20	26	NP (F)
	0	26,84	0	2,31	23,15	30,54	P (M)
Monócitos (10 <sup>3</sup> /µL)	33,75	1440	12,5	37,5	1440	1620	NP
Basófilos (%)	0	13,32	0	0,37	11,95	14,69	P
Basófilos (10 <sup>3</sup> /µL)	0	760	0	0	720	950	NP
H:L	0,12	2,97	0	0,14	2,95	3,24	NP
PPT (g/dL)	3,28	5,1	3,1	3,45	4,93	5,28	P

Min, mínimo; Max, máximo; IC, intervalo de confiança; P, paramétrico; NP, não paramétrico; VCM, volume celular médio; MCH, hemoglobina celular média; MCHC, concentração média de hemoglobina celular; (F) fêmeas; (M) machos. FONTE: O autor (2022).

Tabela 4 - Descrição da mediana, desvio padrão por grupo e variação sexo-específica para bioquímicos plasmáticos para *Psittacula krameri* saudáveis no estado do Paraná, Brasil

Parâmetro Bioquímico	Global		Fêmeas		Machos		P-group
	N	Média ± DP	N	Média ± DP	N	Média ± DP	
Ácido úrico (mg/dL)	56	7,54 ± 4,21	24	7,89 ± 4,56	32	7,28 ± 3,99	0,44 (mw)
P-shapiro		<0.05		<0.05		<0.05	
Albumina (g/dL)	56	1,84 ± 0,40	24	1,77 ± 0,37	32	1,89 ± 0,42	0,27 (t)
P-shapiro		0,24		0,23		0,39	
AST (U/L)	56	213,90 ± 114,82	24	210,42 ± 118,05	32	216,52 ± 114,17	0,73 (mw)
P-shapiro		<0.05		<0.05		<0.05	
Cálcio (mg/dL)	54	8,48 ± 0,86	21	8,59 ± 0,96	33	8,41 ± 0,80	0,49 (t)
P-shapiro		0,83		0,252		0,57	
Colesterol (mg/dL)	56	318,81 ± 65,13	25	302,02 ± 48,85	31	332,35 ± 73,79	0,07 (t)
P-shapiro		0,88		0,17		0,71	
CK (U/L)	54	1255,34 ± 776,46	22	1238,59 ± 779,40	32	1266,59 ± 786,72	0,99 (mw)
P-shapiro		<0.05		<0.05		<0.05	
Fósforo (mg/dL)	56	5,36 ± 1,37	24	5,47 ± 1,43	32	5,27 ± 1,34	0,61 (t)
P-shapiro		0,94		0,95		0,42	
GGT (U/L)	35	18,28 ± 5,65	14	16,60 ± 6,35	21	19,32 ± 5,05	0,20 (t)
P-shapiro		0,23		0,24		0,59	
Globulinas (g/dL)	55	1,58 ± 0,23	24	1,59 ± 0,23	31	1,57 ± 0,23	0,82 (t)
P-shapiro		0,08		0,12		0,22	
LDH ((U/L)	54	424,84 ± 141,79	24	447,08 ± 137,62	30	407,05 ± 144,86	0,25 (mw)
P-shapiro		<0.05		0,68		<0.05	
Proteína total	57	3,38 ± 0,41	25	3,35 ± 0,41	32	3,40 ± 0,42	0,56 (mw)
P-shapiro		<0.05		<0.05		0,3	
Triglicérides(mg/dL)	55	207,74 ± 122,71	23	204,10 ± 134,13	32	210,35 ± 115,95	0,60 (mw)
P-shapiro		<0.05		<0.05		<0.05	

Os dados são apresentados como média ± DP. P-shapiro = valor p para o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Grupo P = valor p para o teste t ou Mann-Whitney. Diferentes sobrescritos (t, mw) são usados para indicar se foi usado o teste t ou Mann-Whitney, de acordo com a Normalidade. FONTE: O autor (2022).

Tabela 5 - Intervalo de referência, valores mínimos e máximos com intervalos de confiança de 90% para bioquímicos plasmáticos para *Psittacula krameri* saudáveis no estado do Paraná, Brasil

Parâmetro Bioquímico	Intervalo de Referência		Limite de referência inferior 90% CI		Limite de referência superior 90% CI		Método
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	
Ácido Úrico (mg/dL)	1,51	15,33	0,94	1,73	14,57	16,76	NP
Albumina (g/dL)	1,04	2,64	0,89	1,2	2,49	2,79	P
AST (U/L)	62,99	485,76	47,93	64,47	480,32	538,32	NP
Cálcio (mg/dL)	6,79	10,18	6,46	7,12	9,85	10,51	P
Colesterol (mg/dL)	191,15	446,49	166,68	215,62	422,02	470,96	P
CK (U/L)	321	3279,51	188,78	353,4	3165,92	3620,72	NP
Fósforo (mg/dL)	2,67	8,05	2,16	3,19	7,53	8,57	P
GGT (U/L)	7,2	29,37	4,47	9,93	26,64	32,1	P
Globulinas (g/dL)	1,12	2,05	1,03	1,21	1,96	2,14	P
LDH (U/L)	213,78	768,6	184,11	218,35	748,2	849,03	NP
Proteína total (g/dL)	2,7	4,2	2,6	2,7	4,2	4,3	NP
Triglicérides (mg/dL)	41,1	502,02	5,3	51,9	495,54	548,82	NP

Min, mínimo; Max, máximo; IC, intervalo de confiança; P, paramétrico; NP, não paramétrico. FONTE: O autor (2022).

## 2.4 DISCUSSÃO

No presente estudo, os valores médios da contagem de eritrócitos foram  $2,77 \times 10^6/\mu\text{L}$ , valores menores do que os encontrados por Nazifi & Vesal (2003) ( $4,68 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) em *Psittacula krameri* em Xiraz, Irã. Essa diferença pode ter ocorrido porque os valores de eritrócito podem variar individualmente entre aves da mesma espécie. Outros fatores que podem causar essa variação na contagem de eritrócitos são a idade, estado reprodutivo, variação sazonal e geográfica, hipóxia e fatores ambientais (CAMPBELL, 2015b; CLARK, BOARDMAN & RAIDAL, 2009). Devido aos poucos estudos de hematologia e bioquímica com *P. krameri* (Anexo 2), os valores do presente estudo serão comparados com outras espécies de aves da família Psittaculidae, gênero *Neophema chrysogaster* (Periquito-de-ventre-laranja) (MELROSE *et al.*, 1995), quando necessário.

Os valores da hemoglobina (média  $10,84 \pm 1,89$ ) foram menores que os encontrados em *P. krameri* por Mehmood, Khan & Siddique (2003) ( $13,20 \pm 0,83$ ) e por Nazifi & Vesal (2003) ( $16,53 \pm 0,53$ ), mas as técnicas de determinação da hemoglobina foram diferentes entre os estudos. Os valores do hematócrito ( $47,58 \pm 3,26\%$ ) foram comparáveis aos encontrados em *P. krameri* em Xiraz, Irã ( $48,24 \pm 1,24$ ) (NAZIFI & VESAL, 2003). Os valores da VCM ( $169,53 \pm 20,99$ ) foram maiores que os encontrados no estudo anterior com *P. krameri* ( $103,51 \pm 19,17$ ) (NAZIFI & VESAL, 2003). Os valores da VCM podem aumentar com a idade das aves (CAMPBELL, 2015b). As aves do presente estudo têm entre cinco e 10 anos, as aves do outro estudo tem entre dois e três anos. Os valores de HCM ( $39,92 \pm 8,58$ ) foram maiores que em *P. krameri* ( $35,44 \pm 6,98$ ) (NAZIFI & VESAL, 2003). Os valores de CHCM ( $23,01 \pm 3,35$ ) foram menores que os encontrados para *P. krameri* anteriormente ( $34,29 \pm 4,56$ ) (NAZIFI & VESAL, 2003), mas essa redução do CHCM é em função do aumento da VCM (CAMPBELL, 2015b).

A média da contagem de leucócitos totais foi  $3875 \pm 1038,82$  ( $/\mu\text{L}$ ) próximo aos valores reportados para *Psittacula krameri* anteriormente ( $4,02 \pm 0,88 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) (NAZIFI & VESAL, 2003).

Heterófilos e linfócitos foram os leucócitos mais abundantes, com valores médios de 40,53% ( $\pm 10,70$ ) e 40,24% ( $\pm 14,02$ ), respectivamente. Geralmente o heterófilo é o leucócito predominante no sangue de aves (JONES, 2015). No presente estudo heterófilos foram ligeiramente mais abundantes do que linfócitos, o mesmo ocorreu com *Neophema chrysogaster* (MELROSE *et al.*, 1995). A relação H:L é utilizada para avaliar o estresse fisiológico em aves, sendo melhor para avaliar mudanças ambientais a longo prazo (GROSS & SIEGEL, 1983). Porém, deve-se considerar o estado de saúde das aves, pois inflamação pode afetar a relação H:L, sendo importante a avaliação morfológica dos leucócitos (CLARK, 2015). Os valores determinados para a relação H:L foram 0,12-2,97. A média dos valores relativos de basófilos ( $6,16 \pm 3,65$ ) e monócitos ( $10,83 \pm 7,13$ ) foram maiores que os encontrados por Nazifi & Vesal no Irã (2003) ( $0,32 \pm 0,36$  e  $2,63 \pm 0,55$  respectivamente). Essa diferença encontrada na contagem diferencial dos leucócitos entre o presente estudo e o de outros autores, em *P. krameri*, pode ter ocorrido devido a quantidade de animais no experimento que era menor ( $n=16$ ). O valor estabelecido para a contagem de eosinófilos foi zero, pois, poucos animais apresentavam um eosinófilo.

A avaliação da concentração do ácido úrico é utilizada para detectar doença renal em aves. Níveis considerados normais para ácido úrico em aves variam de menos do que 1 a 10 mg/dL (ECHOLS, 2006). O intervalo de referência determinado para ácido úrico no presente estudo ficou entre 1,51-15,33 mg/dL (média  $7,54 \pm 4,21$ ). A alimentação com ração peletizada comercial tende a aumentar os níveis de ácido úrico (ECHOLS, 2006) e isso pode explicar o alto intervalo de referência para os níveis plasmáticos de ácido úrico, uma vez que, no presente estudo, as aves recebem ração peletizada diariamente.

O intervalo de referência da GGT no presente estudo foi 7,2-29,37 U/L, maiores que os intervalos encontrados para *Psittacula krameri manillensis* (Periquito-de-colar-indiano) (3-5 U/L) (WILLIAMS *et al.*, 2012). A heparina pode reagir com os reagentes do teste de GGT, causando turbidez, resultando em valores artificialmente elevados (HOCHLEITHNER, 1994). No presente estudo foi utilizado seringa heparinizada, deste modo algumas amostras podem ter sido coletadas contendo mais heparina do que outras, o que pode ter causado esse aumento no intervalo da GGT. Diferenças nos valores da GGT também podem ser causados pelas diferenças nas metodologias utilizadas para mensuração da GGT (HARR, 2006).

Os valores da média estabelecido para AST neste estudo foram  $213,90 \pm 114,82$  U/L. A AST é um indicador muito sensível, mas pouco específico de doença hepatocelular, podendo ser usado para diferenciar dano hepático de dano muscular (HARR, 2002).

A creatina quinase (CK) é uma enzima músculo-específica, podendo ser utilizada na detecção de lesão muscular. Os valores da CK do presente estudo foram 321-3279,51 U/L, maiores que os estabelecidos para *P. krameri manillensis* (682-981 U/L) (WILLIAMS *et al.*, 2012). Foi relatado em perus saudáveis aumento de CK devido ao estresse físico e ao exercício (HOCHLEITHNER, 1994). Os valores elevados da CK encontrados no presente estudo, sugerem que houve algum nível de lesão muscular e estresse durante a captura e contenção para a coleta

de amostra nas aves. No momento da coleta as aves foram retiradas dos aviários com auxílio de puçá e colocadas em gaiolas para levar à sala de coleta. Esse manuseio pode ter contribuído para os valores elevados da CK.

A LDH está presente em diversos tecidos das aves, mas comumente o aumento de sua atividade é associado a doença hepática e danos musculares. Em aves saudáveis a atividade da LDH é considerada normal até 1000 U/L (VAZ *et al.*, 2016). O intervalo de referência estipulado para LDH no atual estudo foi 213,78-768,6 U/L.

Os intervalos de cálcio encontrados foram 6,79-10,18 mg/dL, maiores que os encontrados para *P. krameri* por Enam *et al.* (2018) (2,38-2,81 mg/dL). As concentrações de cálcio variam de acordo com o estado reprodutivo, sexo e estação (HARR, 2006).

O IR para fósforo determinado no presente estudo foram 2,67-8,05 mg/dL, maiores que os encontrados em outro estudo com *P. krameri* (1,01-1,31 mg/dL) (Enam, 2018). Os níveis de fósforo podem ser alterados pela dieta. Dietas com predomínio de sementes podem levar ao aumento de fósforo (HOCHLEITHNER, 1994). Em nosso estudo as aves recebem sementes três vezes na semana à vontade. Os níveis de cálcio e fósforo podem ser usados para avaliar a ingestão adequada de cálcio e vitamina D<sub>3</sub> e boa absorção de minerais (HOCHLEITHNER, 1994).

Frequentemente a proteína total é usada como um indicador do estado de saúde de um paciente (HOCHLEITHNER, 1994). A determinação dos valores de referência para proteína total neste estudo pelo método de Biureto foi 2,7-4,2 g/dL menores que os valores encontrados por Enam *et al.* (2018) (6,53-7,7 g/dL). As proteínas totais podem ser alteradas pela idade, hormônios, dieta e estresse de temperatura (HOCHLEITHNER, 1994). A proteína plasmática obtida por refratometria foi 3,28-5,1 g/dL. Essa diferença provavelmente ocorre devido a presença do fibrinogênio no plasma, e podem ocorrer interferências na refratometria devido a aumento de glicose ou colesterol (VAZ *et al.*, 2016). Os resultados encontrados de albumina e globulina foram 1,04-2,64 g/dL e 1,12-2,05 g/dL, menores que os encontrados em *P. krameri* em Zária, Nigéria (3,22-4,5 e 2,73-3,3 g/dL, respectivamente) (ENAM *et al.*, 2018). Proteína total, albumina e globulina são usados como indicadores de saúde e podem ajudar a avaliar a progressão de uma doença, mas alterações nas concentrações de proteínas podem indicar desidratação ou hiperidratação (HOCHLEITHNER, 1994; HARR, 2006).

Os valores de colesterol total encontrados no presente estudo foram 191,15-446,49 mg/dL maiores que os encontrados para *P. krameri manillensis* (307-367 mg/dL) (WILLIAMS *et al.*, 2012). Níveis mais elevados de colesterol pode ser resultantes de uma dieta rica em gorduras e exercício físico escasso (PINTO *et al.*, 2016).

Os triglicerídeos são a principal forma de armazenamento de lipídeos e importante fonte de energia (HOCHLEITHNER, 1994). O intervalo de referência definido para triglicerídeos neste estudo foi 41,1-502,02 mg/dL. Diversos fatores influenciam os níveis de triglicerídeos como clima, hormônios, dieta e gênero (HOCHLEITHNER, 1994). Em nosso estudo não houve diferença significativa nos níveis plasmáticos de triglicerídeos entre machos e fêmeas.

## 2.5 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados diferiram em poucos parâmetros com estudos relatados anteriormente em *P. krameri*, o que pode estar relacionado ao manejo ambiental e nutricional, variação individual e relacionada ao número menor de aves nos estudos. Os intervalos de referência hematológicos e bioquímicos plasmáticos foram estabelecidos para *P. krameri* saudáveis, adultos e de cativeiro. Os valores contribuem no auxílio diagnóstico de doenças e para manter a sanidade dessas aves, evitando a disseminação de doenças infecciosas, parasitárias e zoonóticas. Este é o primeiro relato de intervalos de referência hematológicos e bioquímicos em *Psittacula krameri* saudáveis de cativeiro no Brasil.

## REFERÊNCIAS

- BIRDLIFE INTERNATIONAL. *Psittacula krameri*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T22685441A132057695. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22685441A132057695.en>. Acesso em 04 jul. 2021.
- BRASIL. Instrução Normativa IBAMA n.3, de 1 de abril de 2011. Dispõe sobre a criação amadora e comercial de fauna silvestre exótica pertencente às ordens Passeriformes, Psitaciformes e Columbiformes. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Disponível em: [https://www.ibama.gov.br/phocadownload/fauna/fauna\\_exotica/2011\\_ibama\\_in\\_03\\_2011\\_e\\_alteracoes\\_criacao\\_de\\_fauna\\_exotica\\_amadora.pdf](https://www.ibama.gov.br/phocadownload/fauna/fauna_exotica/2011_ibama_in_03_2011_e_alteracoes_criacao_de_fauna_exotica_amadora.pdf). Acesso em 04 de julho de 2021.
- CAMPBELL, T.W. Bioquímica clínica de aves. In: Thrall, M.A.; Weiser, G.; Alisson, R.W.; Campbell, T.W., eds. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p.508-521.
- CAMPBELL, T.W. Hematologia das aves. In: Thrall, M.A.; Weiser, G.; Alisson, R.W.; Campbell, T.W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015b; p.507-593.
- CAPITELLI, R. & COSTA, L. Overview of Psittacine Blood Analysis and Comparative Retrospective Study of Clinical Diagnosis, Hematology and Blood Chemistry in Selected Psittacine Species. **Vet Clin Exot Anim**, v. 16, p.71-120, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2012.10.002>.
- CLARK, P.; BOARDMAN, W. & RAIDAL, S. Physiological and pathological influences on the hematological characteristics of birds. In: **Atlas of Clinical Avian Hematology**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2009; p.97-124.
- CLARK, P. Observed variation in the heterophil to lymphocyte ratio values of birds undergoing investigation of health status. **Comparative Clinical Pathology**, v.24, p.1151-1157, 2015.

- ECHOLS, M.S. Evaluating and treating the kidneys. In: Harrison, G.J. & Lighfoot, T.L., **Clinical Avian Medicine**, v. 2, Palm Beach, Fla.: Spix Pub., 2006. p451-492.
- ENAM, S.J.; OLADELE, S.B.; JAMES, A.A. *et al.* Serum biochemical values of some species of apparently healthy free-living wild birds in Zaria, Nigeria. **Comp Clin Path**, v.27, n.2, p.477-481, 2018.
- FINNEGAN, D. ReferenceIntervals: Reference Intervals. R package version 1.2.0. 2020. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=referenceIntervals>. Acesso em: 15 jul. 2021.
- FLORY, A. "*Psittacula krameri*" (On-line), Animal Diversity Web. 2019. Disponível em: [https://animaldiversity.org/accounts/Psittacula\\_krameri/](https://animaldiversity.org/accounts/Psittacula_krameri/).
- GRESPLAN, A. & RASO, T.F. Psittaciformes (araras, papagaios, periquitos, calopsitas e cacatuas). In: Cubas, Z.S.; Silva, J.C.R. & Catão-Dias, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2014. p.614.
- GROSS, W.B. & SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, v.27, n.4, p.972-979, 1983..
- HARR, K.E. Diagnostic value of biochemistry. In: Harrison, G.J. & Lighfoot, T.L., **Clinical Avian Medicine**, v.2, Palm Beach, Fla.: Spix Pub., 2006. p611-630.
- HARR, K.E. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. **Veterinary Clinical Pathology**, v.31, n.3, p.140–151, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2002.tb00295.x>
- HERNÁNDEZ, M. & MARGALIDA, A. Hematology and blood chemistry reference values and age-related changes in wild bearded vultures (*Gypaetus barbatus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.46, n.2, p.390–400, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.2.390>
- HOCHLEITHNER, M. Biochemistries. In: Ritchie, B.W.; Harrison, G.J. & Harrison, L.R. **Avian medicine: principles and application**. Wingers Publishing, INC.: Lake Worth, Florida, 1994. p.223-245.
- JONES, M.P. Avian hematology. **Vet Clin Exot Anim**, v.18, n.1, p.51–61, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.012>
- MEHMOOD, I.; KHAN, A.H.; SIDDIQUE, T. Impact of Novastar on the haematological profiles of the Rose-ringed parakeet. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.23, n.6, p.1928-1929, 2003.
- MELROSE, W.D.; BROWN, P.B.; HOLDSWORTH, M.C. & BRYANT, S.L. Haematology and Red Cell Enzymes of the Australian Orange-Bellied Parrot, *Neophema chrysogaster*. **Comp Haematol Int.**, v.5, p-7-9, 1995.
- MENCHETTI, M.; MORI, E. & ANGELICI, F.M. Effects of the recent world invasion by ring-necked parakeets *Psittacula krameri*. In: Angelici, F.M. **Problematic wildlife**, Springer, Cham., 2016. p.253-266. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-22246-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-22246-2_12)
- MITCHELL, E.B. & JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. **Vet Clin Anim**, v.11, n.3, p.501-522, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.004>

- NAZIFI, S. & VESAL, N. Hematological Values of Healthy Roseringed Parakeets (*Psittacula krameri*). **Journal of Applied Animal Research**, v.24, n.2, p.165-168, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09712119.2003.9706452>
- OWEN, J.C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review. **J. Field Ornithol.**, v.82, n.4, p.339–354, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x>
- PINTO, F.E.; DE ANDRADE, T.U.; ENDRINGER, D.C. & LENZ, D. Haematological and serum biochemical reference values for captive blue-fronted amazon parrot. **Comparative Clinical Pathology**, v.25, n.3, p.519–524, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2215-8>
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.
- RAIDAL, S. Laboratory Diagnostics for Birds. In: Heatley, J.J, Russel, K.E, editors. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**, Wiley-Academy, 2020. P.429–436. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119108610.ch23>
- ROCHA, R.; REINO, L.; SEPÚLVEDA, P. & RIBEIRO, J. Introduced population of ring-necked parakeets *Psittacula krameri* in Madeira Island, Portugal – Call for early action. **Management of Biological Invasions**, v.11, n.3, p.576–587, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3391/mbi.2020.11.3.15>
- SCHMIDT, E.M.S. *et al.* Patologia Clínica em Aves de Produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3, p.9-20, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v12i3.10906>
- SCOPE, A.; SCHWENDENWEIN, I.; ENDERS, F.; GABLER, C.; SEIDL, E.; FILIP, T. & SOKLARIDIS, U. Hematologic and Clinical Chemistry Reference Values in Red Lories (*Eos spp.*). **Avian Diseases**, v.44, p.885-890, 2000.
- TRAJANO, M. de C. & CARNEIRO, L.P. Diagnóstico da Criação Comercial de Animais Silvestres no Brasil. Brasília: Ibama, 2019. p.56p. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/2019-ibama-diagnostico-criacao-animais-silvestres-brasil-pdf>
- VAZ, F.F. *et al.* Reference intervals for biochemical analytes of captive Black-Fronted Piping-Guan (*Aburria jacutinga*). **Veterinary Clinical Pathology**, v.45, n.2, p.347-351, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vcp.12356>
- WILLIAMS, S.M.; HOLTHAUS, L.; BARRON, H.W.; DIVERS, S.J.; MCBRIDE, M.; ALMY, F.; BUSH, S.; LATIMER, K.S. Improved clinicopathologic assessments of acute liver damage due to trauma in Indian Ring-necked Parakeets (*Psittacula krameri manillensis*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.26, n.2, p.67-75, 2012.

### 3 CAPÍTULO II – ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E DE BIOQUÍMICA PLASMÁTICA EM *Psittacula krameri* (PERIQUITOS-DE-COLAR) DURANTE A ESTAÇÃO REPRODUTIVA

#### RESUMO

Os *Psittacula krameri* (periquitos-de-colar) são nativos da África Subsaariana e do sul da Ásia. São consideradas aves monogâmicas. No Brasil a estação reprodutiva ocorre entre setembro e março (primavera e verão). O objetivo desse estudo foi avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de *P. krameri* durante a estação reprodutiva. Foram coletadas amostras de sangue de 31 aves adultas saudáveis (15 fêmeas e 16 machos). Foram realizadas duas coletas, uma antes da estação reprodutiva (junho) e outra durante a estação reprodutiva (outubro). Diferenças significativas entre os grupos foram avaliadas usando teste t pareado ou o teste de Wilcoxon Signed-Rank. No resultado geral (machos + fêmeas) verificou-se diferença significativa entre a primeira coleta para a estação reprodutiva nos seguintes parâmetros: hematócrito ( $49,29 \pm 3,19$  para  $45,19 \pm 5,53$ ), número de metarrubrócitos ( $0,1 \pm 0,4$  para  $3,16 \pm 2,85$ ) e de policromatófilos ( $4,39 \pm 1,31$  para  $6,45 \pm 2,45$ ), VCM ( $165,26 \pm 18,1$  para  $155,87 \pm 18,46$ ), CHCM ( $26,55 \pm 1,82$  para  $28,26 \pm 1,41$ ), número de leucócitos totais ( $3032,26 \pm 2073,30$  para  $4129,03 \pm 2261,89$ ), contagem relativa de heterófilos ( $32,45 \pm 12,45$  para  $45,1 \pm 18,42$ ), linfócitos ( $52,26 \pm 14,37$  para  $35,06 \pm 17,13$ ) e monócitos ( $9,48 \pm 4,49$  para  $13,06 \pm 6,97$ ), contagem absoluta de heterófilos ( $1056,45 \pm 998,04$  para  $1910,32 \pm 1482,47$ ), monócitos ( $280,65 \pm 219,21$  para  $495,16 \pm 363,51$ ), basófilos ( $190,97 \pm 193,67$  para  $262,9 \pm 202,7$ ) e relação heterófilo:linfócito ( $0,75 \pm 0,53$  para  $1,97 \pm 1,65$ ). Nos parâmetros bioquímicos, a GGT ( $24,62 \pm 7,61$  para  $18,17 \pm 9,59$ ), albumina ( $2,09 \pm 0,24$  para  $2,47 \pm 0,41$ ), globulinas ( $1,85 \pm 0,3$  para  $1,39 \pm 0,52$ ), CK ( $1476,44 \pm 691,49$  para  $1574,27 \pm 2777,75$ ), LDH ( $624,64 \pm 330,94$  para  $317,28 \pm 945,4$ ), fósforo ( $6,61 \pm 2$  para  $5,37 \pm 2,07$ ) e a relação albumina:globulina ( $1,16 \pm 0,26$  para  $2,11 \pm 1,05$ ). Na avaliação do esfregaço sanguíneo foram observados eritrócitos imaturos em diferentes estágios de desenvolvimento, principalmente nas fêmeas, durante o período reprodutivo. Este é o primeiro relato de parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Psittacula krameri* no período de reprodução.

Palavras-chave: Ring-neck, psitacídeo, reprodução, postura, aves, medicina aviária

## ABSTRACT

The Rose-ringed parakeets (*Psittacula krameri*) are native of Sub-Saharan Africa and South Asia. They are considered monogamous. In Brazil the breeding season happens between september and march (spring and summer). The aim of this study was evaluated hematological and biochemical parameters of Rose-ringed parakeets during breeding season. Blood samples were collected from 31 healthy adult birds (15 females e 16 males). Two collections were made, one out breeding season (june) and other during breeding season (october). Significant differences between groups were assessed using a paired t-test or the Wilcoxon Signed-Rank test. In the general result (males + females) the parameters with significant difference between first and second collection were: package cell volume ( $49,29 \pm 3,19$  to  $45,19 \pm 5,53$ ), metarubricytes ( $0.1 \pm 0.4$  to  $3.16 \pm 2.85$ ) and policromatophils ( $4.39 \pm 1.31$  to  $6.45 \pm 2.45$ ), MCV ( $165.26 \pm 18.1$  to  $155.87 \pm 18.46$ ), CMHC ( $26.55 \pm 1.82$  to  $28.26 \pm 1.41$ ), white blood cells ( $3032.26 \pm 2073.30$  to  $4129.03 \pm 2261.89$ ), relative heterophil count ( $32.45 \pm 12.45$  to  $45.1 \pm 18.42$ ), lymphocytes ( $52.26 \pm 14.37$  to  $35.06 \pm 17.13$ ) and monocytes ( $9.48 \pm 4.49$  to  $13.06 \pm 6.97$ ), absolute heterophil count ( $1056.45 \pm 998.04$  to  $1910.32 \pm 1482.47$ ), monocytes ( $280.65 \pm 219.21$  to  $495.16 \pm 363.51$ ), basophils ( $190.97 \pm 193.67$  to  $262.9 \pm 202.7$ ) and heterophil:lymphocyte ratio ( $0.75 \pm 0.53$  to  $1.97 \pm 1.65$ ). In the biochemical parameters, GGT ( $24.62 \pm 7.61$  to  $18.17 \pm 9.59$ ), albumin ( $2.09 \pm 0.24$  to  $2.47 \pm 0.41$ ), globulins ( $1.85 \pm 0.3$  to  $1.39 \pm 0.52$ ), CK ( $1476.44 \pm 691.49$  to  $1574.27 \pm 2777.75$ ), LDH ( $624.64 \pm 330.94$  to  $317.28 \pm 94.54$ ), phosphorus ( $6.61 \pm 2$  to  $5.37 \pm 2.07$ ) and albumin:globulin ratio ( $1.16 \pm 0.26$  to  $2.11 \pm 1.05$ ). In blood smears evaluation were observed different stages of development of immature erythrocyte, mainly in females, during breeding season. This is the first report of Rose-ringed parakeets' hematological and biochemical parameters during breeding season.

Keywords: Ring-necked parakeet, parrot, breeding season, laying season, avian, avian medicine

### 3.1 INTRODUÇÃO

Os *Psittacula krameri* (Periquitos-de-colar ou “Ring neck”) são gregários (vivem em bando), nativos da África Subsaariana e sul da Ásia, são monogâmicos e formam seus ninhos principalmente em cavidades arbóreas, mas também utilizam outras cavidades naturais e artificiais. Em sua área nativa a estação reprodutiva ocorre de janeiro a junho (ROCHA *et al.*, 2020). No Brasil o período reprodutivo ocorre de setembro a março (primavera e verão) (GRESPLAN & RASO, 2014). A corte dura alguns minutos e é seguida pela cópula. A postura geralmente é de três a quatro ovos por fêmea e a incubação dura em torno de 21 a 24 dias, os filhotes deixam o ninho após seis a sete semanas da eclosão (OSTROWSKI, BANASZEWSKA & BIESIADA-DRZAZGA, 2019). É importante ter conhecimento sobre suas particularidades, pois o sucesso da reprodução em cativeiro depende de diversos fatores, como por exemplo, a formação de casais compatíveis, suplementação nutricional, escolha do ninho, condições sanitárias e ambientais adequadas sem muita interferência humana (GRESPLAN & RASO, 2014).

Os exames laboratoriais são uma ferramenta para auxiliar na identificação de doenças dos diversos sistemas, como por exemplo, do trato digestório, hepático, respiratório, cardiovascular, hematopoiético, endócrino e podem ser utilizados na medicina preventiva (HARR, 2002; LIERZ, 2003; GRESPLAN & RASO, 2014; RAIDAL, 2020). Através dos exames laboratoriais é possível avaliar o estado de saúde e as condições fisiológicas dos animais, sendo um método simples e pouco invasivo (VAZ *et al.*, 2016a).

Há relatos de que durante a produção de ovos, passeriformes apresentam redução do hematócrito, hemoglobina e do número total de eritrócitos (WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008). Essas alterações podem ocorrer devido a hemodiluição, pelo aumento plasmático de vitelogenina e de lipoproteínas de baixa densidade, as quais são transportadas pelo sangue até o ovário para a formação dos ovos (JOHNSON, 1999; WILLIAMS *et al.*, 2004; CAMPBELL, 2012), deste modo pode ocorrer apenas a diminuição do hematócrito e não necessariamente dos demais parâmetros (MORTON, 1994; WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008). Sugere-se também que a diminuição do hematócrito reflète uma supressão transitória da eritropoiese durante a produção dos ovos, pois a energia seria direcionada a atender às demandas metabólicas dos órgãos reprodutivos (WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008). Outra hipótese é que a presença de anemia pode ser resultado de um efeito pleiotrópico do estrogênio, que está em níveis altos durante a reprodução, inibindo a diferenciação, proliferação e sobrevivência de precursores de eritrócitos e leucócitos na medula óssea (WILLIAMS *et al.*, 2004; WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008).

Não há relatos dessas alterações durante a estação reprodutiva em psitacídeos e em *P. krameri*. É importante verificar quais alterações hematológicas e bioquímicas acontecem, pois assim pode-se tomar medidas necessárias para diminuir os efeitos indesejáveis da reprodução sobre a saúde desses animais.

Este estudo tem como objetivos comparar os perfis hematológicos e bioquímicos de *Psittacula krameri*, machos e fêmeas, na estação reprodutiva e fora dele.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Animais

No presente estudo foram incluídas 31 saudáveis adultas, sendo 15 fêmeas e 16 machos. A idade das aves era de seis a onze anos, todas nascidas em cativeiro. As aves foram consideradas saudáveis baseadas no histórico de saúde, exame físico normal e exames coproparasitológicos negativos. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (protocolo 030/2021). As aves foram provenientes do Laboratório de Criação e Incubação de Animais Alternativos, Silvestres e Exóticos (LACRIAS), que fica situado na Fazenda Experimental Canguiri da Universidade Federal do Paraná em Pinhais, Paraná, Brasil (25°23'13.4"S 49°07'34.2"W).

A alimentação das aves foi composta por ração comercial (Bambito, Biotron, Rio Claro, São Paulo, Brasil) à vontade, frutas e legumes três vezes por semana e sementes duas vezes por semana e água à vontade. Os níveis de garantia do alimento comercial foram: matéria seca 90,5%, proteína bruta 16,5%, extrato etéreo ácido 12,8%, cálcio 1,2%, fósforo 0,5%, energia bruta 4850 kcal/kg (LACRIAS). Durante o ano do presente estudo as aves permaneceram em grandes alojamentos/viveiros (3x3,5m<sup>2</sup> e 7x7m<sup>2</sup>) dentro de um galpão fechado de alvenaria. No período reprodutivo, de setembro a outubro, foi necessário alojar os casais em gaiolas, pois no viveiro as aves apresentaram comportamentos agressivos pela disputa dos ninhos. As aves foram mantidas aos pares em gaiolas de reprodução (80x50x45cm), com ninhos de madeira (22x22x38cm) forrados com maravalha e com dois poleiros, e foi mantido um fotoperíodo de 15 horas controlado com *timer*. Os casais foram escolhidos ao acaso. A alimentação e manejo permaneceram os mesmos durante o período de reprodução. As aves permaneceram nas gaiolas por 31 dias antes da segunda coleta.

### 3.2.2 Amostras

Foram realizadas duas coletas de amostras de sangue. A primeira em junho de 2021 (antes da estação reprodutiva) e a segunda em outubro de 2021 (durante a estação reprodutiva/postura de ovos). As coletas foram realizadas das mesmas aves nos dois períodos. Na primeira coleta as aves estavam soltas no viveiro. A segunda coleta foi realizada após as aves permanecerem aos pares em gaiolas com ninhos pelo período de 31 dias. No momento da coleta as fêmeas já haviam realizado a postura dos ovos, porém nenhum ovo havia eclodido.

A contenção das aves foi realizada de forma manual. A coleta foi realizada com a punção da veia jugular, utilizando seringas de 1mL heparinizadas com heparina sódica bovina (Heptar,

Eurofarma, Itapevi, São Paulo, Brasil) e agulhas de calibre 26G (0.45 x 13mm). Imediatamente após a coleta foram realizados os esfregaços sanguíneos. As amostras foram armazenadas em tubos tipo *Eppendorff* e mantidas refrigeradas.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Paraná para a realização das análises, as quais foram realizadas no mesmo dia da coleta de sangue.

### 3.2.3 Exames hematológicos

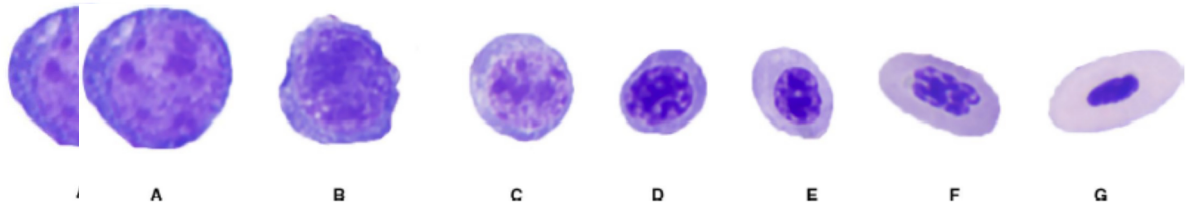
As contagens de eritrócitos e leucócitos foram realizadas na câmara de Neubauer, com diluição prévia (1:100) de amostra de sangue, em corante azul de cresil brilhante (VAZ *et al.*, 2016a). A determinação do hematócrito foi realizada pelo método de microhematócrito, após a centrifugação do tubo microcapilar a 12.000rpm (rotação por minuto) durante cinco minutos, em seguida foi realizada a mensuração da proteína plasmática total, com auxílio de refratômetro óptico com calibração de temperatura (Instrutherm, Freguesia do Ó, São Paulo, Brasil) (VAZ *et al.*, 2016b). A concentração de hemoglobina foi mensurada de forma semi-automática em espectrofotômetro (BA-88A, Mindray, Cidade Monções, São Paulo, Brasil), pela técnica da cianometahemoglobina (colorimétrico), após a centrifugação, utilizando *kit* comercial (Bioclin, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Os esfregaços sanguíneos foram corados pelo método de May Grünwald Giemsa. Foi realizada a leitura do esfregaço sanguíneo para determinação da contagem diferencial dos leucócitos em 100 células, avaliação da morfologia dos eritrócitos e estimativa de policromatófilos. Os índices hematimétricos, volume corpuscular médio (VCM); concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), foram obtidos segundo as fórmulas:  $VCM (fL) = \text{hematócrito} / \text{concentração de eritrócitos} (x10^6/\mu L)$ ;  $CHCM (g/dL) = \text{concentração de hemoglobina} (g/dL) / \text{hematócrito}$  e  $HCM (pcg) = \text{concentração de hemoglobina} (g/dL) / \text{concentração de eritrócitos} (x10^6/\mu L)$ .

O plasma foi obtido após a centrifugação a 4.500rpm por cinco minutos. Os testes bioquímicos realizados foram: albumina (método verde de bromocresol), aspartato aminotransferase (AST) (método cinético UV), cálcio (método colorimétrico de ponto final), colesterol total (método enzimático colorimétrico COD-PAP), creatina quinase (CK) (método cinético UV), fósforo (método UV de ponto final), gama glutamiltransferase (GGT) (método SZASZ Modificado IFCC), globulinas (cálculo: proteína total – albumina), desidrogenase láctica (LDH) (método cinético UV), proteína total (método Biureto) e triglicérides (método enzimático colorimétrico). As análises bioquímicas foram realizadas de forma automatizada com equipamento de espectrofotometria (BS-200, Mindray, Cidade Monções, São Paulo, Brasil), utilizando *kits* comerciais (Bioclin, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Os parâmetros de precursores de eritrócitos normais em aves foram utilizados segundo os critérios de Schwartz *et al.*, 2019 (Figura 1).

Figura 1 - Precursores eritróides em esfregaço de aspirado de medula óssea de papagaios *Amazonia hispaniola*, coloração de Wright-Giemsa, aumento de 100x.



A: Rubroblasto. B: Prorrubrócito. C: Rubrócito basofílico. D: Rubrócito policromatófilico. E: Metarrubrócito. F: Eritrócito policromatófilico. G: Eritrócito maduro. Fonte: Schwartz *et al.*, 2019 (adaptado).

### 3.2.4 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o R versão 4.1.2 (The R Project for Statistical Computing, 1090, Viena, Áustria) (R CORE TEAM, 2020). As variáveis são apresentadas como média e desvio padrão global e para cada grupo. A normalidade da diferença foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Diferenças significativas entre os grupos foram avaliadas usando um teste t pareado quando a diferença foi normalmente distribuída ou o teste de Wilcoxon Signed-Rank quando as diferenças não foram normalmente distribuídas. Diferenças em todos os testes analíticos foram consideradas significativas em valor de  $P < 0,05$ .

## 3.3 RESULTADOS

Na Tabela 1 estão os valores dos parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática antes e durante a estação reprodutiva/postura de todas as aves (machos e fêmeas). Na Tabela 2 estão apresentados os parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática antes da estação reprodutiva e durante a postura das fêmeas, e a Tabela 3 os parâmetros hematológicos e bioquímicos antes da estação reprodutiva e na estação reprodutiva dos machos. Os parâmetros destacados em vermelho são os que apresentaram diferença significativa entre as duas coletas.

No resultado geral (machos + fêmeas) foram observadas diferenças significativas entre a primeira coleta e a coleta da estação reprodutiva/postura nos seguintes parâmetros hematológicos: hematócrito, número de metarrubrócitos e de policromatófilos, VCM, CHCM, número de leucócitos totais, contagem relativa de heterófilos, linfócitos e monócitos, contagem absoluta de heterófilos, monócitos, basófilos e relação heterófilo:linfócito (H:L). Nos parâmetros bioquímicos, observou-se diferenças em GGT, albumina, globulina, CK, LDH, fósforo e a relação albumina:globulina (A:G).

Tabela 1 - Valores dos parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática de fêmeas e machos de *Psittacula krameri* antes da estação reprodutiva e durante a estação reprodutiva/postura

	Fora da estação reprodutiva		Estação reprodutiva/postura		P-valor	Referência	
	N	MÉDIA ± DP	N	MÉDIA ± DP		Min	Max
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> /μL)	31	3,04 ± 0,36	31	2,96 ± 0,62	0,42 t	1,91	3,64
Hematócrito (%)	31	49,29 ± 3,19	31	45,19 ± 5,53	0 w	41,19	53,98
Hemoglobina (g/dL)	31	13,07 ± 1,02	31	12,8 ± 1,82	0,83 w	7,9	16,1
Metarrubrócitos (/campo)	31	0,1 ± 0,4	31	3,16 ± 2,85	0 w	0	0
Policromatófilos (/campo)	31	4,39 ± 1,31	31	6,45 ± 2,45	0 t	1	6
VCM (fL)	31	165,26 ± 18,1	31	155,87 ± 18,46	0,03 t	128,4	210,68
CHCM (g/dL)	31	26,55 ± 1,82	31	28,26 ± 1,41	0 w	19	31,62
HCM (pcg)	31	43,84 ± 5,81	31	43,97 ± 5,15	0,92 t	24,85	56,15
Prec. Eritrócitos (%)	31	0,42 ± 0,81	31	4,23 ± 18,76	0,14 w	0	0
Leucócitos totais (10 <sup>3</sup> /μL)	31	3032,26 ± 2073,38	31	4129,03 ± 2261,89	0,03 t	1000	8000
Heterófilos (%)	31	32,45 ± 12,45	31	45,1 ± 18,42	0 t	19,56	61,52
Bastonetes (%)	31	0 ± 0	31	0,13 ± 0,34	0,07 w	0	0
Linfócitos (%)	31	52,26 ± 14,37	31	35,06 ± 17,13	0 t	12,76	67,72
Eosinófilos (%)	31	0 ± 0	31	0,06 ± 0,36	1 w	0	0
Monócitos (%)	31	9,48 ± 4,49	31	13,06 ± 6,97	0 t	1	20
Basófilos (%)	31	5,81 ± 3,27	31	6,58 ± 3,34	0,25 t	0	13,32
Heterófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	31	1056,45 ± 998,04	31	1910,32 ± 1482,47	0 w	134	4678
Bastonetes (10 <sup>3</sup> /μL)	31	0 ± 0	31	5,81 ± 17,28	0,1 w	0	0
Linfócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	31	1504,19 ± 968,6	31	1453,55 ± 1168,3	0,83 t	368,75	3213,75
Eosinófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	31	0 ± 0	31	1,29 ± 7,18	1 w	0	0
Monócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	31	280,65 ± 219,21	31	495,16 ± 363,51	0 w	33,75	1440
Basófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	31	190,97 ± 193,67	31	262,9 ± 202,7	0,04 w	0	760
H:L	31	0,75 ± 0,53	31	1,97 ± 1,65	0 w	0,12	2,97
PPT (g/dL)	31	4,55 ± 0,62	31	4,7 ± 0,72	0,33 t	3,28	5,1
Albumina (g/dL)	29	2,09 ± 0,24	31	2,47 ± 0,41	0 w	1,04	2,64
AST (U/L)	30	240,51 ± 274,79	31	239,28 ± 219,3	0,87 w	62,99	485,76
A:G	29	1,16 ± 0,26	31	2,11 ± 1,05	0 w	n/a	n/a
Calcio (mg/dL)	29	9,7 ± 0,71	31	9,96 ± 2,37	0,45 w	6,79	10,18
CK (U/L)	31	1476,44 ± 691,49	31	1574,27 ± 2777,75	0,01 w	321	3279,51
Colesterol (mg/dL)	30	377,68 ± 123,44	31	378,87 ± 96,19	0,97 w	191,15	446,49
Fósforo (mg/dL)	29	6,61 ± 2	31	5,37 ± 2,07	0,01 w	2,67	8,05
GGT (U/L)	30	24,62 ± 7,61	28	18,17 ± 9,59	0 w	7,2	29,37
Globulinas (g/dL)	29	1,85 ± 0,3	31	1,39 ± 0,52	0 t	1,12	2,05
LDH (U/L)	30	624,64 ± 330,94	31	317,28 ± 94,54	0 w	213,78	768,6
Proteína total (g/dL)	31	3,97 ± 0,43	31	3,87 ± 0,64	0,42 t	2,7	4,2
Triglicerídeos (mg/dL)	30	286,54 ± 224,31	30	291,2 ± 407,57	0,21 w	41,1	502,02

VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM, concentração de hemoglobina média, Prec.Eritrócitos, precursores de eritrócitos; H:L, relação heterófilo:linfócito; PPT, proteína plasmática total; AST, Aspartato aminotransferase; A:G, relação albumina:globulina; CK, creatina quinase; GGT, gama glutamiltransferase; LDH, desidrogenase láctica; DP, desvio padrão; Min, mínimo; Max, máximo. Os dados são apresentados como média ± DP por grupo. O valor-p representa o resultado do teste de diferença entre os grupos. Diferentes sobrescritos (t, w) são usados para indicar se foi utilizado o teste t ou Wilcoxon, de acordo com a normalidade da diferença. Os parâmetros que diferiram significativamente entre as coletas estão destacados em vermelho. Fonte: O autor (2022).

Tabela 2 - Valores dos parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática de fêmeas de *Psittacula krameri* fora da estação reprodutiva e durante a postura

	Fora da estação reprodutiva		Postura		P-valor	Referência	
	N	MÉDIA ± DP	N	MÉDIA ± DP		Min	Max
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> /μL)	15	3,05 ± 0,37	15	2,85 ± 0,69	0,26 t	1,91	3,64
Hematócrito (%)	15	48,73 ± 2,74	15	44 ± 5,88	0,02 w	41,19	53,98
Hemoglobina (g/dL)	15	13,29 ± 1	15	12,27 ± 1,99	0,05 t	7,9	16,1
Metarrubrócitos (/campo)	15	0,07 ± 0,26	15	3,53 ± 3,09	0 w	0	0
Policromatófilos (/campo)	15	4,6 ± 1,4	15	7,2 ± 2,78	0,01 t	1	6
VCM (fL)	15	165,13 ± 21,78	15	158,8 ± 22,6	0,37 t	128,4	210,68
CHCM (g/dL)	15	27,27 ± 1,33	15	27,8 ± 1,37	0,22 t	19	31,62
HCM (pcg)	15	44,93 ± 6,17	15	44 ± 5,93	0,65 t	24,85	56,15
Prec.Eritrócitos (%)	15	0,33 ± 0,82	15	8,07 ± 26,87	0,1 w	0	0
Leucócitos totais (10 <sup>3</sup> /μL)	15	3600 ± 2354,33	15	5133,33 ± 2474,63	0,09 t	1000	8000
Heterófilos (%)	15	37,47 ± 11,39	15	50,27 ± 18,5	0,02 t	19,56	61,52
Bastonetes (%)	15	0 ± 0	15	0,13 ± 0,35	0,35 w	0	0
Linfócitos (%)	15	48,07 ± 13,64	15	34,6 ± 16,41	0,01 t	12,76	67,72
Eosinófilos (%)	15	0	15	0		0	0
Monócitos (%)	15	8,4 ± 4,69	15	9,27 ± 5,95	0,59 t	1	20
Basófilos (%)	15	6,07 ± 3,43	15	5,73 ± 2,34	0,63 t	0	13,32
Heterófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	15	1388 ± 1161,88	15	2520,67 ± 1712,52	0,06 t	134	4678
Bastonetes (10 <sup>3</sup> /μL)	15	0 ± 0	15	8 ± 21,45	0,37 w	0	0
Linfócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	15	1680 ± 1062,46	15	1834 ± 1309,74	0,65 t	368,75	3213,75
Eosinófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	15	0	15	0		0	0
Monócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	15	293,33 ± 227,11	15	481,33 ± 434,21	0,1 t	33,75	1440
Basófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	15	238,67 ± 222,51	15	289,33 ± 199,09	0,48 t	0	760
H:L	15	0,9 ± 0,51	15	2,12 ± 1,62	0,01 t	0,12	2,97
PPT (g/dL)	15	4,28 ± 0,41	15	4,89 ± 0,77	0,01 t	3,28	5,1
Albumina (g/dL)	14	2,04 ± 0,26	15	2,39 ± 0,37	0 t	1,04	2,64
AST (U/L)	14	224,34 ± 203,46	15	181,24 ± 161,5	0,5 w	62,99	485,76
A:G	14	1,16 ± 0,34	15	1,71 ± 0,86	0,04 w	n/a	n/a
Calcio (mg/dL)	14	9,66 ± 0,69	15	11,07 ± 2,96	0,25 w	6,79	10,18
CK (U/L)	15	1610,61 ± 623,15	15	612,41 ± 182,42	0 t	321	3279,51
Colesterol (mg/dL)	14	331,37 ± 66,81	15	385,17 ± 116,95	0,15 t	191,15	446,49
Fósforo (mg/dL)	14	6,51 ± 1,52	15	5,81 ± 1,43	0,28 t	2,67	8,05
GGT (U/L)	14	26,26 ± 8,79	13	21,52 ± 12,92	0,22 t	7,2	29,37
Globulinas (g/dL)	14	1,83 ± 0,35	15	1,61 ± 0,53	0,36 t	1,12	2,05
LDH (U/L)	14	564,54 ± 304,05	15	311,91 ± 99,74	0,01 t	213,78	768,6
Proteína total (g/dL)	15	3,92 ± 0,45	15	4,01 ± 0,62	0,64 t	2,7	4,2
Triglicerídeos (mg/dL)	14	218,41 ± 90,23	15	407,65 ± 557,41	0,71 w	41,1	502,02

VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM, concentração de hemoglobina média, Prec.Eritrócitos, precursores de eritrócitos; H:L, relação heterófilo:linfócito; PPT, proteína plasmática total; AST, Aspartato aminotransferase; A:G, relação albumina:globulina; CK, creatina quinase; GGT, gama glutamiltransferase; LDH, desidrogenase láctica; DP, desvio padrão; Min, mínimo; Max, máximo. Os dados são apresentados como média ± DP por grupo. O valor-p representa o resultado do teste de diferença entre os grupos. Diferentes subscritos (t, w) são usados para indicar se foi utilizado o teste t ou Wilcoxon, de acordo com a normalidade da diferença. Os parâmetros que diferiram significativamente entre as coletas estão destacados em vermelho. Fonte: O autor (2022).

Tabela 3 - Valores dos parâmetros hematológicos e de bioquímica plasmática de machos de *Psittacula krameri* fora da estação reprodutiva e durante a estação reprodutiva

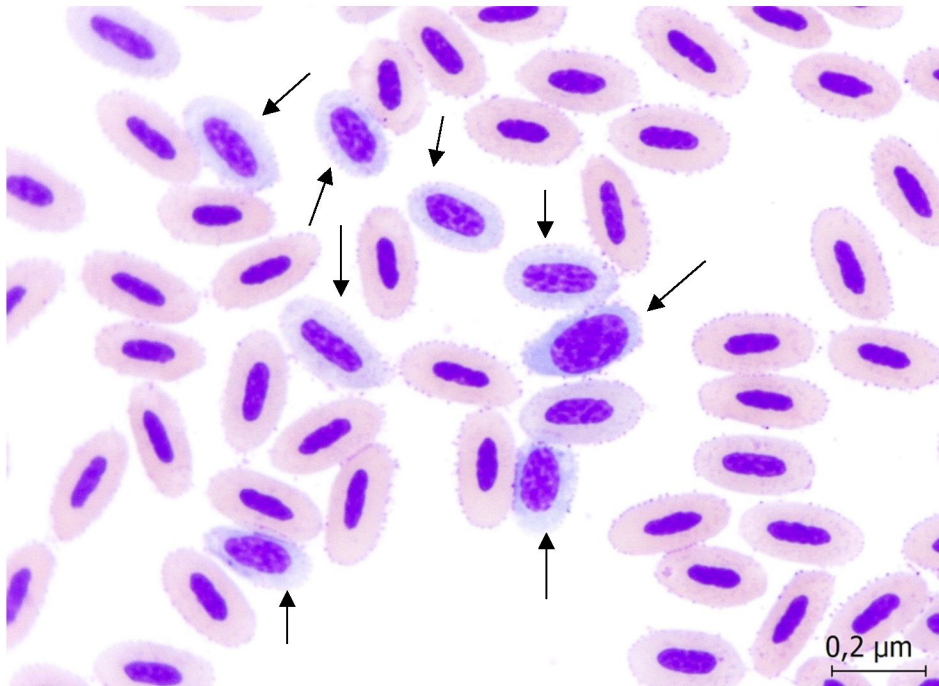
	Fora da estação reprodutiva		Estação reprodutiva		P-valor	Referência		
	N	MÉDIA ± DP	N	MÉDIA ± DP		Min	Max	
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> /μL)	16	3,04 ± 0,37	16	3,06 ± 0,54	0,85	t	1,91	3,64
Hematócrito (%)	16	49,81 ± 3,56	16	46,31 ± 5,12	0,01	w	41,19	53,98
Hemoglobina (g/dL)	16	12,87 ± 1,03	16	13,29 ± 1,54	0,13	w	7,9	16,1
Metarrubrócitos (/campo)	16	0,12 ± 0,5	16	2,81 ± 2,66	0	w	0	0
Policromatófilos (/campo)	16	4,19 ± 1,22	16	5,75 ± 1,91	0,02	t	1	6
VCM (fL)	16	165,38 ± 14,58	16	153,12 ± 13,71	0,02	t	128,4	210,68
CHCM (g/dL)	16	25,88 ± 2	16	28,69 ± 1,35	0	t	19	31,62
HCM (pcg)	16	42,81 ± 5,46	16	43,94 ± 4,49	0,55	w	24,85	56,15
Prec. Eritrócitos (%)	16	0,5 ± 0,82	16	0,62 ± 1,09	0,79	w	0	0
Leucócitos totais (10 <sup>3</sup> /μL)	16	2500 ± 1673,32	16	3187,5 ± 1600,78	0,19	t	1000	8000
Heterófilos (%)	16	27,75 ± 11,85	16	40,25 ± 17,53	0,01	t	19,56	61,52
Bastonetes (%)	16	0 ± 0	16	0,12 ± 0,34	0,35	w	0	0
Linfócitos (%)	16	56,19 ± 14,33	16	35,5 ± 18,31	0	t	12,76	67,72
Eosinófilos (%)	16	0 ± 0	16	0,12 ± 0,5	1	w	0	0
Monócitos (%)	16	10,5 ± 4,18	16	16,62 ± 6,01	0	t	0	26,84
Basófilos (%)	16	5,56 ± 3,2	16	7,38 ± 3,98	0,11	t	0	13,32
Heterófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	16	745,62 ± 720,56	16	1338,12 ± 967,71	0,01	t	134	4678
Bastonetes (10 <sup>3</sup> /μL)	16	0 ± 0	16	3,75 ± 12,58	0,37	w	0	0
Linfócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	16	1339,38 ± 873,44	16	1096,88 ± 921,06	0,45	t	368,75	3213,75
Eosinófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	16	0 ± 0	16	2,5 ± 10	1	w	0	0
Monócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	16	268,75 ± 218,29	16	508,12 ± 296,54	0,01	w	33,75	1440
Basófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	16	146,25 ± 156,2	16	238,12 ± 209,36	0,04	w	0	760
H:L	16	0,61 ± 0,52	16	1,83 ± 1,73	0	w	0,12	2,97
PPT (g/dL)	16	4,8 ± 0,69	16	4,53 ± 0,64	0,15	t	3,28	5,1
Albumina (g/dL)	15	2,14 ± 0,21	16	2,55 ± 0,44	0,01	w	1,04	2,64
AST (U/L)	16	254,67 ± 331,14	16	293,7 ± 255,56	0,5	w	62,99	485,76
A:G	15	1,16 ± 0,15	16	2,49 ± 1,1	0	w	n/a	n/a
Calcio (mg/dL)	15	9,73 ± 0,75	16	8,92 ± 0,82	0,02	t	6,79	10,18
CK (U/L)	16	1350,65 ± 747,67	16	2476,02 ± 3688,93	0,74	w	321	3279,51
Colesterol (mg/dL)	16	418,2 ± 147,78	16	372,96 ± 75,25	0,18	w	191,15	446,49
Fósforo (mg/dL)	15	6,69 ± 2,42	16	4,96 ± 2,52	0,01	w	2,67	8,05
GGT (U/L)	16	23,18 ± 6,34	15	15,27 ± 3,83	0	t	7,2	29,37
Globulinas (g/dL)	15	1,87 ± 0,26	16	1,19 ± 0,42	0	t	1,12	2,05
LDH (U/L)	16	677,22 ± 353,97	16	322,32 ± 92,39	0	t	213,78	768,6
Proteína total (g/dL)	16	4,03 ± 0,41	16	3,74 ± 0,65	0,13	t	2,7	4,2
Triglicerídeos (mg/dL)	16	346,15 ± 286,53	15	174,75 ± 65,76	0,03	w	41,1	502,02

VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM, concentração de hemoglobina média, Prec.Eritrócitos, precursores de eritrócitos; H:L, relação heterófilo:linfócito; PPT, proteína plasmática total; AST, Aspartato aminotransferase; A:G, relação albumina:globulina; CK, creatina quinase; GGT, gama glutamiltransferase; LDH, desidrogenase láctica; DP, desvio padrão; Min, mínimo; Max, máximo. Os dados são apresentados como média ± DP por grupo. O valor-p representa o resultado do teste de diferença entre os grupos. Diferentes sobrescritos (t, w) são usados para indicar se foi utilizado o teste t ou Wilcoxon, de acordo com a normalidade da diferença. Os parâmetros que diferiram significativamente entre as coletas estão destacados em vermelho. Fonte: O autor (2022).

Na avaliação do esfregaço sanguíneo foram observadas alterações como policromasia (Figura 2), presença de metarrubrócitos (figura 3), alterações nucleares (pleomorfismo) em precursores de eritrócitos (figura 4), células precursoras de eritrócitos em diferentes estágios de desenvolvimento (Figura 5 e 6) e figuras de mitose (figura 7), com maior frequência na época de postura. Algumas células precursoras possuíam citoplasma alongado com leve a moderada basofilia citoplasmática e cromatina nuclear mais frouxa (figura 5), outras com citoplasma

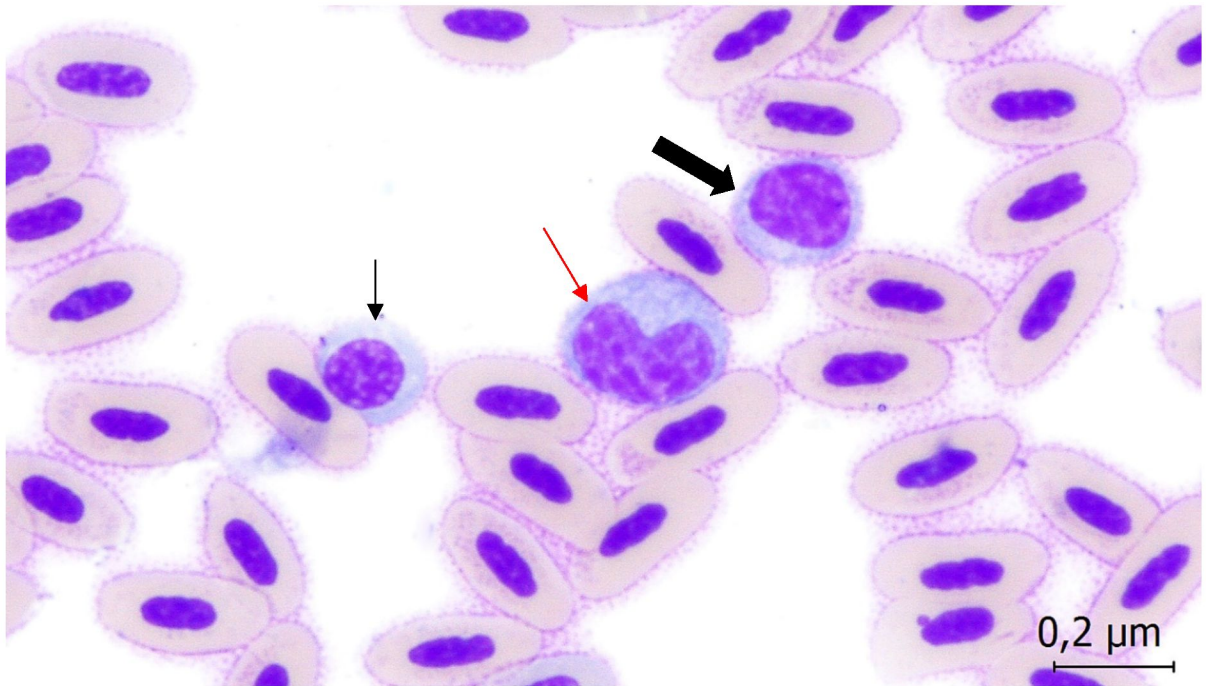
intensamente basofílico, mais arredondadas e cromatina nuclear condensada (figura 6). Durante a estação reprodutiva/postura a presença de policromasia e metarrubrócitos foi constatada em todas as aves (machos e fêmeas). A presença de pleomorfismo nuclear e figuras de mitose foram encontrados em algumas fêmeas, porém não em todas. As células precursoras de eritrócitos em diferentes estágios de desenvolvimento tiveram presença marcante principalmente nas fêmeas durante a postura.

Figura 2 - Presença de policromatófilos (seta preta) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x.



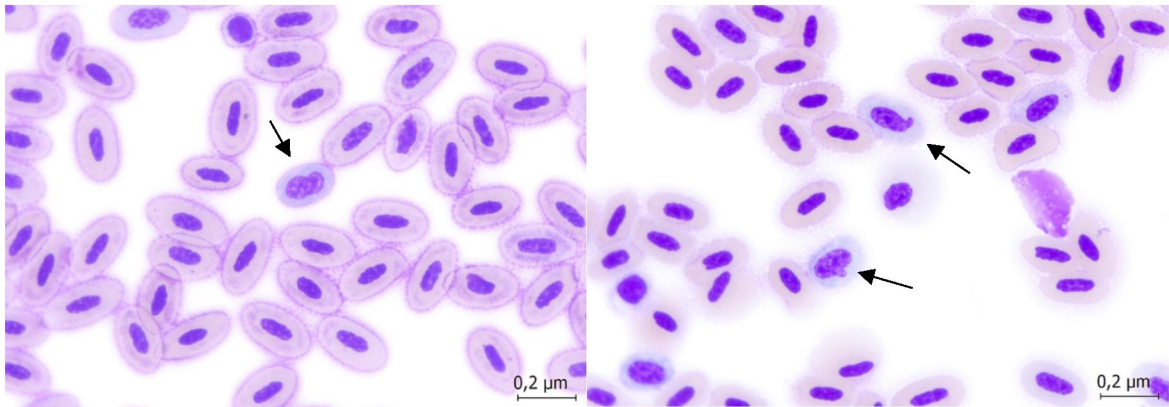
Fonte: O autor (2022).

Figura 3 - Metarrubrócito (seta preta fina), monócito (seta vermelha) e linfócito (seta preta larga) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x.



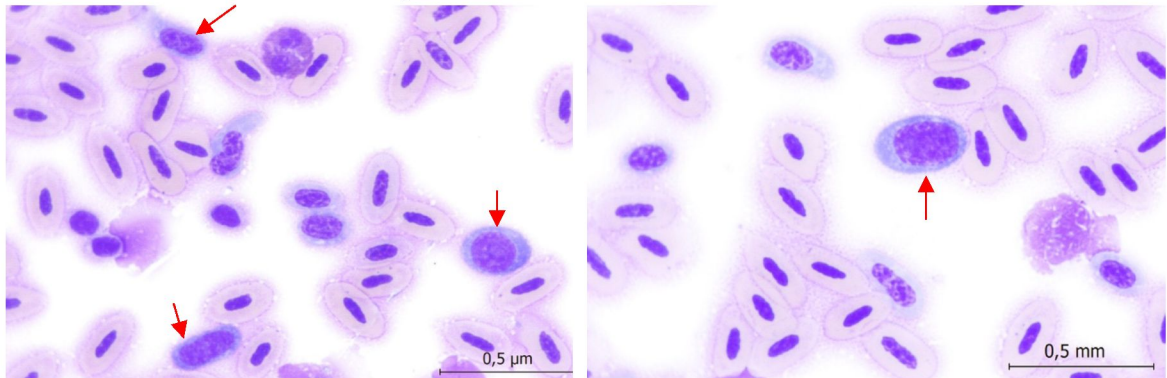
Fonte: O autor (2022).

Figura 4- Presença de pleomorfismo nuclear de policromatófilos (seta preta) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x.



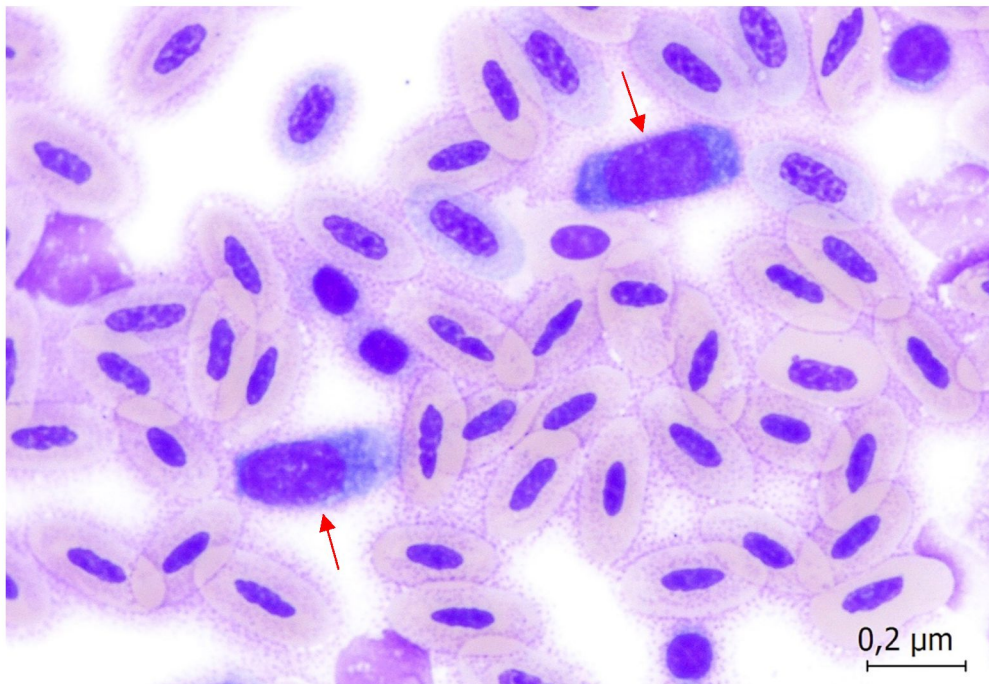
Fonte: O autor (2022).

Figura 5 - Eritrócitos imaturos em diferentes estágios de desenvolvimento (setas vermelhas), encontradas em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x.



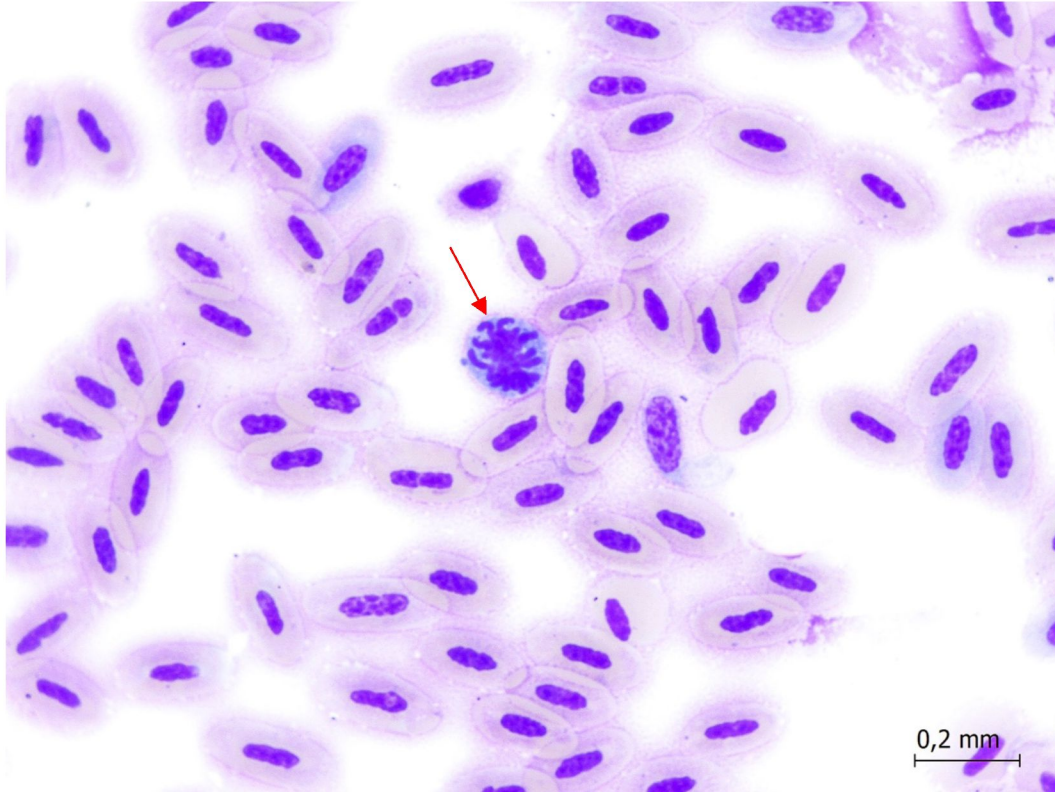
Fonte: O autor (2022).

Figura 6 - Células precursoras de eritrócitos com intensa basofilia citoplasmática (seta vermelha) em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x.



Fonte: O autor (2022).

Figura 6 - Figura de mitose (seta vermelha) encontrada em esfregaço sanguíneo de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva, coloração de May Grünwald Giemsa, aumento de 100x.



Fonte: O autor (2022).

### 3.4 DISCUSSÃO

No presente estudo os valores de hematócrito diminuíram durante a postura, nas fêmeas e nos machos. Outros estudos relataram a diminuição do hematócrito durante a postura de ovos em fêmeas da espécie *Taeniopygia guttata* (Mandarim) (WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008), *Sturnus vulgaris linnaeu* (Estorninhos europeus) (WILLIAMS *et al.*, 2004), *Quelea quelea* (Tecalão-de-bico-vermelho) (JONES, 1983), *Zonotrichia leucophrys oriantha* (Pardal-de-cara-branca-da-montanha) (MORTON, 1994), *Phasianus colchicus* (Faisão-comum) (HRABČÁKOVÁ *et al.*, 2014; SCHUMANN *et al.*, 2014) e *Columba livia* (Pombo doméstico) (GAYATHRI & HEGDE, 2006).

Foram propostos mecanismos para explicar a diminuição do hematócrito durante a produção de ovos. Um efeito indireto da produção hepática de precursores de gema dependente de estrogênio e mobilização de íons de cálcio explicariam a diminuição do hematócrito (WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008). Durante a produção de ovos, compostos osmoticamente ativos são transportados no sangue em grandes concentrações, podendo assim estimular um aumento no volume plasmático devido ao movimento osmótico de água nos espaços extracelulares para o sangue afim de manter a osmolaridade ou viscosidade plasmática em um nível constante, diminuindo assim o hematócrito, mas não o número total de células (MORTON, 1994; WILLIAMS

*et al.*, 2004; WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008). Essa hemodiluição ocorre devido ao aumento plasmático de vitelogenina e lipoproteínas de baixa densidade (VLDL), os quais são transportados pelo sangue até o ovário (JOHNSON, 1999; WILLIAMNS *et al.*, 2004; CAMPBELL, 2012). Sugere-se ainda que a diminuição do hematócrito refletiria uma supressão transitória da eritropoiese durante a produção de ovos, direcionando assim a energia para atender às demandas metabólicas dos órgãos reprodutivos, ou ainda, que os fatores essenciais necessários para a eritropoiese seriam preferencialmente destinados para a produção dos componentes do ovo (WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008). Acredita-se também o estresse da postura dos ovos possa contribuir para essa diminuição do hematócrito (GAYATHRI & HEGDE, 2006).

No presente estudo não houve presença de anemia. Mas nos estudos com *Taeniopygia guttata* (WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008) e *Phasianus colchicus* (HRABČÁKOVÁ *et al.*, 2014; SCHUMANN *et al.*, 2014) foi relatado diminuição da concentração de eritrócitos e hemoglobina. A presença de anemia pode resultar de um efeito pleiotrópico direto e negativo do estrogênio, o qual está presente em altos níveis durante a produção de ovos e desempenha papel importante nas funções reprodutivas. O estrogênio inibe a diferenciação, proliferação e sobrevivência de precursores de eritrócitos e leucócitos na medula óssea (WILLIAMS *et al.*, 2004; WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008).

Os precursores eritróides foram observados no sangue periférico das fêmeas e dos machos, sendo em maior número durante a postura nas fêmeas. Os eritrócitos maduros são elípticos e possuem citoplasma laranja-rosa claro e núcleo condensado de cor roxa, quando utilizadas colorações de Romanowski ou de Wright (CAPITELLI & CROSTA, 2013; MITCHELL & JOHNS, 2008), já os eritrócitos imaturos são arredondados e com citoplasma basofílico, o núcleo é redondo e a cromatina nuclear é mais frouxa (MITCHELL & JOHNS, 2008).

Foram observados também a presença de células precursoras de eritrócitos em diferentes estágios de desenvolvimento, figuras de mitose e pleomorfismo nuclear em policromatófilos. A presença de policromasia e recitocitose e aumento de eritrócitos imaturos no sangue periférico indicam eritropoiese ativa (CAPITELLI & CROSTA, 2013). A reticulocitose e policromatofilia identificadas em nosso estudo podem ter ocorrido devido aos efeitos estimuladores da eritropoietina em resposta à hipóxia tecidual devido à diminuição do hematócrito (JONES, 2015; WAGNER, STABLES & WILLIAMS, 2008). Wagner, Stables & Williams (2008), também observaram reticulocitose em seu estudo realizado com *Taeniopygia guttata* (Mandarim).

A eritropoietina é produzida nos rins, e estimula a eritropoiese em resposta ao nível de oxigênio do sangue, níveis de hormônios corticais, estrógenos e andrógenos (CAPITELLI & CROSTA, 2013). Apesar de ocorrer um declínio nos valores do hematócrito nas aves do presente estudo, não foi verificado a ocorrência de anemia.

Essas alterações encontradas sugerem que a estimulação do tecido hematopoiético após um insulto anóxico ou de toxicidade pode ser decorrente da ação dos hormônios reprodutivos (CAPITELLI & CROSTA, 2013). As células precursoras encontradas variavam de tamanho e

formato, algumas mais alongadas, outras mais redondas e algumas com formato irregulares, o núcleo também apresentou variações (figura 3). Essas alterações são sugestivas de maturação assíncrona associada à eritropoiese acelerada (JONES, 2015).

Durante a postura ocorreu aumento da porcentagem de heterófilos e consequentemente a diminuição dos linfócitos em ambos os sexos, ocasionando um aumento da proporção H:L. A relação H:L é um indicador fisiológico de resposta ao estresse (LENTFER *et al.*, 2015). Nos machos ocorreu também aumento do número de monócitos e basófilos. Essas alterações ocorrem devido ao estresse, que pode ter ocorrido em consequência à reprodução, devido à liberação de glicocorticoides (ROZEMPOLSKA-RUCIHSKA, 2020; VAZ *et al.*, 2016a; JONES 2015). Há relatos de aumento do número de monócitos e basófilos em decorrência do estresse (ROZEMPOLSKA-RUCIHSKA, 2020; MAXWELL *et al.*, 1990). Outro fator que pode ter causado estresse nas aves foi a alteração dos recintos, pois na primeira coleta as aves estavam alojadas no viveiro e na segunda coleta elas estavam nas gaiolas de reprodução.

No perfil bioquímico, os parâmetros observados nos dois períodos estavam dentro dos valores normais de referência à espécie (segundo os dados obtidos no CAPÍTULO 1), exceto o cálcio que ficou um pouco acima do valor de referência nas fêmeas, durante a postura.

A proteína plasmática total é utilizada para estimar o estado de saúde e nutricional de aves silvestres, pois a proteína total é considerada um indicador de estado nutricional. Valores diminuídos de proteína total podem indicar uma doença crônica, fome ou estresse (MASELLO & QUILLFELDT, 2004).

No presente estudo observou-se o aumento da concentração de albumina plasmática nas fêmeas durante a postura. Durante a produção de ovos, podem ocorrer alterações nas concentrações de proteínas totais (albumina e globulinas), pois essas proteínas são precursoras da gema (vitelogenina e lipoproteínas) (SCHMIDT *et al.*, 2007; LUMEIJ, 2008). Isso se deve à vitelogênese (GAYATHRI & HEGDE, 2006). Essas proteínas são produzidas no fígado e transportadas no sangue até os ovários. Nos machos o aumento da albumina pode ter ocorrido por desidratação (CAMPBELL, 2012). A relação A:G aumentou significativamente devido ao aumento da albumina em ambos os casos.

Nas aves, até um terço do cálcio circulante está ligado às proteínas. Portanto, a concentração de cálcio total varia de acordo com a concentração plasmática de proteínas (LUMEIJ, 2008). No presente estudo, nos machos, ocorreu uma diminuição do cálcio na estação reprodutiva. Foi constatado a diminuição das globulinas também, o que pode ter levado à diminuição da circulação do cálcio. Nas fêmeas verificou-se aumento da albumina e cálcio durante a postura, porém apesar das concentrações de cálcio plasmático ter elevado entre a coleta fora da postura e na postura, esse aumento não foi significativo. Provavelmente ocorreu um aumento significativo de cálcio nas fêmeas nos dias que antecederam a ovulação, mas no momento da coleta os valores já estavam normalizados.

O fósforo plasmático nos machos apresentou diminuição significativa no período da estação reprodutiva. A diminuição do fósforo pode estar associada à deficiência dietética de cálcio e vitamina D3, má absorção e fome (CAMPBELL, 2012). Uma hipótese que foi levantada para a diminuição das globulinas, cálcio e fósforo nos machos na estação reprodutiva, seria porque as fêmeas demandam de maior aporte energético para a formação e postura dos ovos, assim elas podem ter ingerido uma quantidade maior de alimento, privando os machos da ingestão adequada de nutrientes. Porém não foram avaliados neste estudo a quantidade de alimento ingerido por cada animal.

No perfil muscular foram avaliados a CK e AST. A enzima CK é músculo específica, utilizada para avaliar danos musculares (SCHMIDT *et al.*, 2007). Nas fêmeas do presente estudo houve diminuição significativa nos valores da CK durante a postura, porque na primeira coleta as aves encontravam-se soltas no viveiro, e na coleta da postura elas estavam presas nas gaiolas, o que contribuiu para uma captura mais rápida e mais tranquila. Os valores da AST não apresentaram grandes variações.

No perfil hepático foram avaliadas as enzimas GGT, AST e LDH. Nas fêmeas a AST teve uma leve diminuição durante a época de postura, mas não foi significativa. A GGT apresentou diminuição significativa na estação reprodutiva nos machos e a LDH diminuiu significativamente na estação reprodutiva nos machos e nas fêmeas. Porém os valores encontrados permaneceram dentro do intervalo de referência para a espécie.

No presente estudo os valores de triglicerídeos nos machos diminuiu significativamente na estação reprodutiva. Os triglicerídeos são indicadores de estado de saúde e reserva de gordura. Níveis mais altos de triglicerídeos plasmático podem indicar um estado nutricional de reabsorção, onde a gordura é depositada no tecido adiposo e níveis diminuídos são indicativos de um estado de jejum (MASELLO & QUILLFELDT, 2004). Em um estudo realizado com *Cyanoliseus patagonus* (Papagaio-da-patagônia) ocorreu diminuição dos níveis plasmáticos de triglicerídeos nos machos adultos, o qual foi relacionado ao esforço reprodutivo (MASELLO & QUILLFELDT, 2004).

### 3.5 CONCLUSÃO

Os resultados do estudo fornecem os primeiros dados sobre hematologia e bioquímica de *Psittacula krameri* durante a estação reprodutiva e postura de ovos. Apesar da mudança de alguns fatores ambientais e de manejo entre as coletas, os resultados encontrados indicam que ocorre influência do período reprodutivo nos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Psittacula krameri*. É importante considerar o *status* reprodutivo nas avaliações hematológica e bioquímica dessas aves.

## REFERÊNCIAS

- CAMPBELL, T.W. Clinical Chemistry of Birds. In: Thrall, M.A. *et al.* **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2nd Ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2012. p.582-598.
- CAPITELLI, R. & CROSTA, L. Overview of Psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected Psittacine species. **Vet Clin Exot Anim.**, v.16, n.1, p.71-120, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2012.10.002>
- GAYATHRI, K.L. & HEGDE, S.N. Alteration in haematocrit values and plasma protein fractions during the breeding cycle of female pigeons, *Columba livia*. **Animal Reproduction Science**, v.91, n.1-2, p.133-141, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.03.006>
- GRESPLAN, A. & RASO, T.F. Psittaciformes (araras, papagaios, periquitos, calopsitas e cacatuas). In: Cubas, Z.S.; Silva, J.C.R. & Catão-Dias, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2014. p.614.
- HARR, K.E. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. **Veterinary Clinical Pathology**, v.31, p.140-151, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2002.tb00295.x>
- JOHNSON, A.L. Reproduction in the female. In: Whittow, G.C. **Sturkie's avian physiology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1999. p.569-595.
- JONES, M.P. Avian hematology. **Vet Clin Exot Anim.**, v.18, n.1, p.51-61, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2015.05.013>
- JONES, P.J. Haematocrit values of breeding Red-billed queleas *Quelea quelea* (Aves: Ploceidae) in relation to body condition and thymus activity. **Journal of Zoology**, v.201, n.2, p. 217-222, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1983.tb04271.x>
- LENTFER, T.L. *et al.* H/L ratio as a measurement of stress in laying hens – methodology and reliability. **Br Poult Sci.**, v.56, n.2, p.157-163, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2015.1008993>
- LIERZ, M. (2003). Avian renal disease: pathogenesis, diagnosis, and therapy. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, n.6, v.1, p.29–55, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1094-9194\(02\)00029-4](https://doi.org/10.1016/S1094-9194(02)00029-4)
- LUMEIJ, J.T. Avian Clinical Biochemistry. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. San Diego: Academic Press, 2008. p.839-872.
- MASELLO, J.F. & QUILLFELDT, P. Are haematological parameters related to body condition, ornamentation and breeding success in wild burrowing parrots *Cyanoliseus patagonus*? **Journal of Avian Biology**, v.35, n.5, p.445-454, 2004. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3677613>
- MAXWELL, M.H. *et al.* Comparison of haematological values in restricted-and ad libitum-fed domestic fowls: White blood cells and thrombocytes. **British Poultry Science**, v.31, n.2, p.399–405, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00071669008417270>

- MITCHELL, E.B. & JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. **Vet Clin Anim**, v.11, n.3, p.501-522, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.004>
- MORTON, M.L. Hematocrits in montane sparrows in relation to reproductive schedule. **The Condor**, v.96, n.1, p.119-126, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1369069>
- OSTROWSKI, D.; BANASZEWSKA, D. & BIESIADA-DRZAZGA, B. Assessment of reproductive parameters of privately bred ring-necked parakeets (*Psittacula krameri*). **Scientific Annals of Polish Society of Animal Production**, v.15, n.3, p.41-50, 2019. DOI: 10.5604/01.3001.0013.5132
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>
- RAIDAL, S. Laboratory Diagnostics for Birds. In: Heatley, J.J, Russel, K.E, editors. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**, Wiley-Academy, 2020. P.429–436. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119108610.ch23>
- ROCHA, R. *et al.* Introduced population of ring-necked parakeets *Psittacula krameri* in Madeira Island, Portugal – Call for early action. **Management of Biological Invasions**, v.11, n.3, p.576-587, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3391/mbi.2020.11.3.15>
- ROZEMPOLSKA-RUCIHSKA, I. *et al.* Behavior and stress in three breeds of laying hens kept in the same environment. **S. Afr. Anim. Sci.**, v.50, n.2, p.272-280, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i2.10>
- SCHMIDT, E.M.S. *et al.* Patologia clínica em aves de produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3. p.9-20, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v12i3.10906>
- SCHWARTZ D. *et al.* Morphologic and quantitative evaluation of bone marrow aspirates from Hispaniolan Amazon parrots (*Amazona ventralis*). **Vet Clin Pathol.**, v.48, n.4, p.645-651, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vcp.12799>
- VAZ F.F. *et al.* Hematologic and Biochemical Values of Wild Red-Tailed Amazon Parrot (*Amazona brasiliensis*) Nestlings With Abnormal Clinical Examination in Rasa Island, Brazil. **J Avian Med Surg.**, v.30, n.4, p.350-356, 2016a. Disponível em: <https://doi.org/10.1647/2015-119>
- VAZ, F.F. *et al.* Reference intervals for biochemical analytes of captive Black-Fronted Piping-Guan (*Aburria jacutinga*). **Vet Clin Pathol.**, v.45, n.2, p.347-351, 2016b. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vcp.12356>
- WAGNER, E.C.; STABLES, C.A. & WILLIAMS, T.D. Hematological changes associated with egg production: direct evidence for changes in erythropoiesis but a lack of resource dependence? **The Journal of Experimental Biology**, v.211, n.18, p.2960-2968, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/jeb.017897>
- WILLIAMS, T.D. *et al.* What causes the decrease in haematocrit during egg production? **Functional Ecology**, v.18, n.3, p.330-336, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00829.x>

## ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO COMITE DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 030/2021, referente ao projeto de pesquisa “Valores hematológicos e bioquímicos de periquito-de-colar (*Psittacula krameri*) saudáveis adultos na época de reprodução e alterações hematológicas na estação reprodutiva”, sob a responsabilidade de Rosângela Locatelli Dittrich – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em 07/06/2021.

Finalidade	Pesquisa
Vigência da autorização	Junho/2021 até Fevereiro/2022
Espécie/Linhagem	Periquito-de-colar ( <i>Psittacula krameri</i> ) - ave
Número de animais	58
Peso/Idade	100 g-250 g/adultos
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Laboratório de Criação e Incubação de Animais Alternativos, Silvestres e Exóticos da UFPR, Pinhais, Paraná, Brasil

\*A autorização para início da pesquisa se torna válida a partir da data de emissão deste certificado.

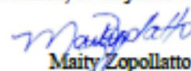
CERTIFICATE

We certify that the protocol number 030/2021, regarding the research project “Hematological and biochemical values of ring-neck (*Psittacula krameri*) healthy adults at the time of reproduction and hematological changes in the reproductive station” under Rosângela Locatelli Dittrich – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, on June 7<sup>th</sup>, 2021.

Purpose	Research
Validity	June/2021 until February/2022
Specie/Line	Ring neck ( <i>Psittacula krameri</i> ) - bird
Number of animals	58
Weight/Age	0.22 lb to 0.55 lb/adults
Sex	Male and female
Origin	Laboratory of Creation and Incubation of Alternative, Wild and Exotic Animals of UFPR, Pinhais, Paraná, Brazil.

\*The authorization to start the research becomes valid from the date of issue of this certificate.

Curitiba, 07 de junho de 2021

  
Maity Zopollatto

Coordenadora pro-tempore  
CEUA/AG/UFPR

**ANEXO 2 – TABELA COMPARATIVA COM OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS  
E BIOQUÍMICOS DE *Psittacula krameri* DO PRESENTE ESTUDO E DEMAIS  
AUTORES**

	Pinto <i>et al.</i> , 2022		Nazifi & Vesal, 2003 <sup>1</sup>		Mehmood <i>et al.</i> , 2003 <sup>2</sup>		Enam <i>et al.</i> , 2018 <sup>3</sup>		Williams <i>et al.</i> , 2012 <sup>4</sup>	
	N	MÉDIA ± DP	N	MÉDIA ± DP	N	MÉDIA ± DP	N	MÉDIA ± DP	N	Intervalo de referência
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> /μL)	56	2,77 ± 0,44	16	4,68 ± 0,68		n/a		n/a		n/a
Hematócrito (%)	56	47,58 ± 3,26	16	48,24 ± 1,24		n/a		n/a		n/a
Hemoglobina (g/dL)	54	10,84 ± 1,89	16	16,53 ± 0,53	20	13,20 ± 0,83		n/a		n/a
Policromatófilos (/campo)	55	3,72 ± 1,42		n/a		n/a		n/a		n/a
VCM (fL)	54	169,53 ± 20,99	16	103,51 ± 19,17		n/a		n/a		n/a
CHCM (g/dL)	54	23,01 ± 3,35	16	34,29 ± 4,56		n/a		n/a		n/a
HCM (pcg)	56	39,92 ± 8,58	16	35,44 ± 6,98		n/a		n/a		n/a
Leucócitos totais (10 <sup>3</sup> /μL)	56	3875 ± 1038,82	16	4,02 ± 0,88		n/a		n/a		n/a
Heterófilos (%)	54	40,53 ± 10,70	16	38,18 ± 7,91		n/a		n/a		n/a
Bastonetes (%)	58	0	16	n/a		n/a		n/a		n/a
Linfócitos (%)	54	40,24 ± 14,02	16	58,43 ± 7,78		n/a		n/a		n/a
Eosinófilos (%)	56	0	16	0,43 ± 0,34		n/a		n/a		n/a
Monócitos (%)	55	10,83 ± 7,13	16	2,63 ± 0,55		n/a		n/a		n/a
Basófilos (%)	56	6,16 ± 3,65	16	0,32 ± 0,36		n/a		n/a		n/a
Heterófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	57	1637,36 ± 1094,0		n/a		n/a		n/a		n/a
Bastonetes (10 <sup>3</sup> /μL)	58	0		n/a		n/a		n/a		n/a
Linfócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	54	1637,36 ± 1094,0		n/a		n/a		n/a		n/a
Eosinófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	58	0		n/a		n/a		n/a		n/a
Monócitos (10 <sup>3</sup> /μL)	54	417,40 ± 373,08		n/a		n/a		n/a		n/a
Basófilos (10 <sup>3</sup> /μL)	55	230,63 ± 190,97		n/a		n/a		n/a		n/a
H:L	56	1,13 ± 0,72		n/a		n/a		n/a		n/a
PPT (g/dL)	55	4,18 ± 0,46		n/a		n/a		n/a		n/a
Ácido úrico	56	7,54 ± 4,21		n/a		n/a		n/a		n/a
Albumina (g/dL)	56	1,84 ± 0,40		n/a		n/a	20	3,85 ± 0,11		n/a
AST (U/L)	56	213,90 ± 114,82		n/a		n/a		n/a	30	182-282
Calcio (mg/dL)	54	8,48 ± 0,86		n/a		n/a	20	2,52 ± 0,04		n/a
CK (U/L)	54	1255,34 ± 776,46		n/a		n/a		n/a	30	3-5
Colesterol (mg/dL)	56	318,81 ± 65,13		n/a		n/a		n/a	15	307-367
Fósforo (mg/dL)	56	5,36 ± 1,37		n/a		n/a	20	1,05 ± 0,03		n/a
GGT (U/L)	35	18,28 ± 5,65		n/a		n/a		n/a	30	3-5
Globulinas (g/dL)	55	1,58 ± 0,23		n/a		n/a	20	2,89 ± 0,05		n/a
LDH (U/L)	54	424,84 ± 141,79		n/a		n/a		n/a	30	73-103
Proteína total (g/dL)	57	3,38 ± 0,41		n/a		n/a	20	6,73 ± 0,12		n/a
Triglicerídeos (mg/dL)	55	207,74 ± 122,71		n/a		n/a		n/a		n/a

VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM, concentração de hemoglobina média; H:L, relação heterófilo:linfócito; PPT, proteína plasmática total; AST, Aspartato aminotransferase; A:G, relação albumina:globulina; CK, creatina quinase; GGT, gama glutamiltransferase; LDH, desidrogenase láctica; n/a, não avaliado. (1) Aves adultas aparentemente saudáveis, 10 machos e 6 fêmeas. Não há dados sobre manejo. Shiraz, Iran. (2) 10 machos e 10 fêmeas. Não há dados sobre idade, estado de saúde e manejo. Faisalabad, Paquistão. (3) Aves selvagens de vida livre, aparentemente saudáveis. Zária, Nigéria. (4) *Psittacula krameri manillensis*. Aves clinicamente saudáveis, de cativeiro, sexo desconhecido. Dieta: sementes comerciais, frutas e sementes de milho.

## REFERÊNCIAS

- BIRDLIFE INTERNATIONAL. *Psittacula krameri*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T22685441A132057695. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22685441A132057695.en>. Acesso em 04 jul. 2021.
- BRASIL. Instrução Normativa IBAMA n.3, de 1 de abril de 2011. Dispõe sobre a criação amadora e comercial de fauna silvestre exótica pertencente às ordens Passeriformes, Psitaciformes e Columbiformes. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Disponível em: [https://www.ibama.gov.br/phocadownload/fauna/fauna\\_exotica/2011\\_ibama\\_in\\_03\\_2011\\_e\\_alteracoes\\_criacao\\_de\\_fauna\\_exotica\\_amadora.pdf](https://www.ibama.gov.br/phocadownload/fauna/fauna_exotica/2011_ibama_in_03_2011_e_alteracoes_criacao_de_fauna_exotica_amadora.pdf). Acesso em 04 de julho de 2021.
- CAMPBELL, T.W. Bioquímica clínica de aves. In: Thrall, M.A.; Weiser, G.; Alisson, R.W.; Campbell, T.W., eds. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p.508-521.
- CAMPBELL, T.W. Hematologia das aves. In: Thrall, M.A.; Weiser, G.; Alisson, R.W.; Campbell, T.W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015b; p.507-593.
- CAPITELLI, R. & COSTA, L. Overview of Psittacine Blood Analysis and Comparative Retrospective Study of Clinical Diagnosis, Hematology and Blood Chemistry in Selected Psittacine Species. **Vet Clin Exot Anim**, v. 16, p.71-120, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2012.10.002>.
- CLARK, P.; BOARDMAN, W. & RAIDAL, S. Physiological and pathological influences on the hematological characteristics of birds. In: **Atlas of Clinical Avian Hematology**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2009; p.97-124.
- CLARK, P. Observed variation in the heterophil to lymphocyte ratio values of birds undergoing investigation of health status. **Comparative Clinical Pathology**, v.24, p.1151-1157, 2015.
- ECHOLS, M.S. Evaluating and treating the kidneys. In: Harrison, G.J. & Lighfoot, T.L., **Clinical Avian Medicine**, v. 2, Palm Beach, Fla.: Spix Pub., 2006. p451-492.
- ENAM, S.J. *et al.* Serum biochemical values of some species of apparently healthy free-living wild birds in Zaria, Nigeria. **Comparative Clinical Pathology**, v.27, p.477-481, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00580-017-2616-y>
- FINNEGAN, D. ReferenceIntervals: Reference Intervals. R package version 1.2.0. 2020. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=referenceIntervals>. Acesso em: 15 jul. 2021.
- FLORY, A. "*Psittacula krameri*" (On-line), Animal Diversity Web. 2019. Disponível em: [https://animaldiversity.org/accounts/Psittacula\\_krameri/](https://animaldiversity.org/accounts/Psittacula_krameri/).
- GAYATHRI, K.L. & HEGDE, S.N. Alteration in haematocrit values and plasma protein fractions during the breeding cycle of female pigeons, *Columba livia*. **Animal Reproduction Science**, v.91, n.1-2, p.133-141, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.03.006>

- GRESPLAN, A. & RASO, T.F. Psittaciformes (araras, papagaios, periquitos, calopsitas e cacatuas). In: Cubas, Z.S.; Silva, J.C.R. & Catão-Dias, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2014. p.614.
- GROSS, W.B. & SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, v.27, n.4, p.972-979, 1983..
- HARR, K.E. Diagnostic value of biochemistry. In: Harrison, G.J. & Lighfoot, T.L., **Clinical Avian Medicine**, v.2, Palm Beach, Fla.: Spix Pub., 2006. p611-630.
- HARR, K.E. Clinical Chemistry of Companion Avian Species: A Review. **Veterinary Clinical Pathology**, v.31, n.3, p.140–151, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2002.tb00295.x>
- HERNÁNDEZ, M. & MARGALIDA, A. Hematology and blood chemistry reference values and age-related changes in wild bearded vultures (*Gypaetus barbatus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v.46, n.2, p.390–400, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.2.390>
- HOCHLEITHNER, M. Biochemistries. In: Ritchie, B.W.; Harrison, G.J. & Harrison, L.R. **Avian medicine: principles and application**. Wingers Publishing, INC.: Lake Worth, Florida, 1994. p.223-245.
- HRABČÁKOVÁ, P. *et al.* Haematological and Biochemical Parameters during the Laying Period in Common Pheasant Hens Housed in Enhanced Cages. **The Scientific World Journal**, v.2014; 2014: 364602. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/364602>
- JOHNSON, A.L. Reproduction in the female. In: Whittow, G.C. **Sturkie's avian physiology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1999. p.569-595.
- JONES, P.J. Haematocrit values of breeding Red-billed queleas *Quelea quelea* (Aves: Ploceidae) in relation to body condition and thymus activity. **Journal of Zoology**, v.201, n.2, p. 217-222, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1983.tb04271.x>
- LENTFER, T.L. *et al.* H/L ratio as a measurement of stress in laying hens – methodology and reliability. **Br Poult Sci.**, v.56, n.2, p.157-163, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2015.1008993>
- LIERZ, M. (2003). Avian renal disease: pathogenesis, diagnosis, and therapy. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, n.6, v.1, p.29–55, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1094-9194\(02\)00029-4](https://doi.org/10.1016/S1094-9194(02)00029-4)
- LUMEIJ, J.T. Avian Clinical Biochemistry. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. San Diego: Academic Press, 2008. p.839-872.
- MASELLO, J.F. & QUILLFELDT, P. Are haematological parameters related to body condition, ornamentation and breeding success in wild burrowing parrots *Cyanoliseus patagonus*? **Journal of Avian Biology**, v.35, n.5, p.445-454, 2004. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3677613>
- MAXWELL, M.H. *et al.* Comparison of haematological values in restricted-and ad libitum-fed domestic fowls: White blood cells and thrombocytes. **British Poultry Science**, v.31, n.2, p.399–405, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00071669008417270>

- MEHMOOD, I.; KHAN, A.H. & SIDDIQUE, T. Impact of Novastar on the haematological profiles of the Rose-ringed parakeet. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.23, n.6, p.1928-1929, 2003.
- MELROSE, W.D.; BROWN, P.B.; HOLDSWORTH, M.C. & BRYANT, S.L. Haematology and Red Cell Enzymes of the Australian Orange-Bellied Parrot, *Neophema chrysogaster*. **Comp Haematol Int.**, v.5, p-7-9, 1995.
- MENCHETTI, M.; MORI, E. & ANGELICI, F.M. Effects of the recent world invasion by ring-necked parakeets *Psittacula krameri*. In: Angelici, F.M. **Problematic wildlife**, Springer, Cham., 2016. p.253-266. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-22246-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-22246-2_12)
- MITCHELL, E.B. & JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. **Vet Clin Anim**, v.11, n.3, p.501-522, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.004>
- MORTON, M.L. Hematocrits in montane sparrows in relation to reproductive schedule. **The Condor**, v.96, n.1, p.119-126, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1369069>
- MURER, L. *et al.* Investigação de Salmonella spp. em Psittaciformes exóticos e nativos mantidos em cativeiro na região central do Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.70, n.3, p.815-822, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9794>
- NAZIFI, S. & VESAL, N. Hematological Values of Healthy Roseringed Parakeets (*Psittacula krameri*). **Journal of Applied Animal Research**, v.24, n.2, p.165-168, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09712119.2003.9706452>
- OSTROWSKI, D.; BANASZEWSKA, D. & BIESIADA-DRZAZGA, B. Assessment of reproductive parameters of privately bred ring-necked parakeets (*Psittacula krameri*). **Scientific Annals of Polish Society of Animal Production**, v.15, n.3, p.41-50, 2019. DOI: 10.5604/01.3001.0013.5132
- OWEN, J.C. Collecting, processing, and storing avian blood: a review. **J. Field Ornithol.**, v.82, n.4, p.339–354, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1557-9263.2011.00338.x>
- PINTO, F.E.; DE ANDRADE, T.U.; ENDRINGER, D.C. & LENZ, D. Haematological and serum biochemical reference values for captive blue-fronted amazon parrot. **Comparative Clinical Pathology**, v.25, n.3, p.519–524, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2215-8>
- POLO, F.J. *et al.* Hematologic and Plasma Chemistry Values in Captive Psittacine Birds. **Avian Diseases**, v.42, n.3, p. 523-535, 1998. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/1592679>
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.
- RAIDAL, S. Laboratory Diagnostics for Birds. In: Heatley, J.J, Russel, K.E, editors. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**, Wiley-Academy, 2020. P.429–436. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119108610.ch23>
- ROCHA, R.; REINO, L.; SEPÚLVEDA, P. & RIBEIRO, J. Introduced population of ring-necked parakeets *Psittacula krameri* in Madeira Island, Portugal – Call for early action. **Management of**

- Biological Invasions**, v.11, n.3, p.576–587, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3391/mbi.2020.11.3.15>
- ROZEMPOLSKA-RUCIHSKA, I. *et al.* Behavior and stress in three breeds of laying hens kept in the same environment. **S. Afr. Anim. Sci.**, v.50, n.2, p.272-280, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i2.10>
- SCHMIDT, E.M.S. *et al.* Patologia Clínica em Aves de Produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3, p.9-20, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v12i3.10906>
- SCHUMANN, J. *et al.* Biochemical and haematological profile of pheasant hens during the laying period. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v.17, n.1, p.47-52, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0006>
- SCHWARTZ D. *et al.* Morphologic and quantitative evaluation of bone marrow aspirates from Hispaniolan Amazon parrots (*Amazona ventralis*). **Vet Clin Pathol.**, v.48, n.4, p.645-651, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vcp.12799>
- SCOPE, A.; SCHWENDENWEIN, I.; ENDERS, F.; GABLER, C.; SEIDL, E.; FILIP, T. & SOKLARIDIS, U. Hematologic and Clinical Chemistry Reference Values in Red Lories (*Eos spp.*). **Avian Diseases**, v.44, p.885-890, 2000.
- TRAJANO, M. de C. & CARNEIRO, L.P. Diagnóstico da Criação Comercial de Animais Silvestres no Brasil. Brasília: Ibama, 2019. p.56p. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/centrais-de-conteudo/2019-ibama-diagnostico-criacao-animais-silvestres-brasil-pdf>
- VAZ, F.F. *et al.* Hematologic and Biochemical Values of Wild Red-Tailed Amazon Parrot (*Amazona brasiliensis*) Nestlings With Abnormal Clinical Examination in Rasa Island, Brazil. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.30, n.4, p.350–356, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1647/2015-119>
- VAZ, F.F. *et al.* Reference intervals for biochemical analytes of captive Black-Fronted Piping-Guan (*Aburria jacutinga*). **Vet Clin Pathol.**, v.45, n.2, p.347-351, 2016b. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vcp.12356>
- WAGNER, E.C.; STABLES, C.A. & WILLIAMS, T.D. Hematological changes associated with egg production: direct evidence for changes in erythropoiesis but a lack of resource dependence? **The Journal of Experimental Biology**, v.211, n.18, p.2960-2968, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/jeb.017897>
- WILLIAMS, T.D. *et al.* What causes the decrease in haematocrit during egg production? **Functional Ecology**, v.18, n.3, p.330-336, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00829.x>
- WILLIAMS, S.M.; HOLTHAUS, L.; BARRON, H.W.; DIVERS, S.J.; MCBRIDE, M.; ALMY, F.; BUSH, S.; LATI-MER, K.S. Improved clinicopathologic assessments of acute liver damage due to trauma in Indian Ring-necked Parakeets (*Psittacula krameri manillensis*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.26, n.2, p.67-75, 2012.