

## ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO POR MALÁRIA AVIÁRIA EM FRANGOS DE CORTE SOB CONFINAMENTO NO IFMG – CAMPUS BAMBUÍ

Lucas T. R. de JESUS<sup>1</sup>; Michelle de O. SANTOS<sup>1</sup>; Déllis M. S. e SILVA<sup>1</sup>; Liomar C. de OLIVEIRA Jr.<sup>1</sup>; Yuri G. S. MOURÃO<sup>2</sup>; Gustavo A. LACORTE<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Estudante de Ciências Biológicas, Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC) - FAPEMIG. Instituto Federal Minas Gerais (IFMG) Campus Bambuí. Rod. Bambuí/Medeiros km 5. CEP: 38900-000. Bambuí-MG. <sup>2</sup>Professor Orientador – IFMG. <sup>3</sup>Estudante de Ciências Biológicas.

### RESUMO

A malária aviária, causada por hemoparasitos do gênero *Plasmodium*, é uma parasitose de alta prevalência em todo o mundo tanto em aves silvestres como em aves domésticas. Esta doença é de grande interesse pela medicina preventiva de animais, pois pode causar problemas à saúde das aves, podendo implicar em perdas no setor produtivo de aves de corte e postura, bem como impactar negativamente populações de aves silvestres. O presente estudo buscou estimar a prevalência de infecção em frangos de corte confinados em galpões aviários do Campus Bambuí do IFMG, como etapa diagnóstica inicial de um projeto que visa a compreensão da dinâmica temporal de infecção de frangos confinados por *Plasmodium*. A prevalência foi estimada pela utilização de um diagnóstico molecular de infecção em amostras de 94 aves do galpão coletadas no inverno de 2013. Observou-se que das 94 amostras analisadas foram identificadas apenas 8% com infecções confirmadas. Comparando-se os dados obtidos na pesquisa com outros estudos de prevalência de infecção, os valores obtidos ficaram muito abaixo dos encontrados para aves silvestres (17 a 54%) e dentro da amplitude de valores encontrados para galinhas sob confinamento (1,5 a 40%). Além disso, os baixos valores de prevalência podem ser devidos ao período no qual as aves foram amostradas, quando as populações de insetos vetores dos parasitos estão menores, reduzindo a transmissão dessa parasitose. Entretanto, a confirmação desta hipótese poderá ser confirmada após um estudo com amostras em todas as estações do ano.

**Palavras-chave:** *Plasmodium* – aves – parasitologia – doenças

### INTRODUÇÃO

Um grande número de espécies de *Plasmodium* já foram caracterizadas infectando aves domésticas em todo o mundo, incluindo *P. durae*, *P. lophurae*, *P. gallinaceum*, *P. hermani* e *P. juxtannucleare*, que já foram encontradas em galinhas domésticas, faisões, codornas e perus (Al-Dabagh 1961, Bennett et al. 1966, Garnham 1966, Krettli 1972, Huchzermeyer 1993, Permim & Juhl 2002, Paulman & McAllister 2005, Silveira et al. 2009a, Vashist et al. 2008, 2011, Macchi et al. 2011). Entretanto, no Brasil, *Plasmodium juxtannucleare* é a única espécie atualmente descrita como responsável pela infecção natural de malária aviária em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*).

## VII Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG campus Bambuí, VII Jornada Científica.

A patogenicidade de *P. juxtenucleare* pode variar de acordo com a cepa do parasito e com a fase da doença, sendo que a fase inicial e aguda da infecção é mais patogênica e apresenta maiores níveis de parasitemia (Itagaki, 1970). As aves infectadas durante a fase aguda da doença podem apresentar perda de apetite, queda na produção de ovos, alterações hematológicas incluindo anemia, hepatoesplenomegalia, sintomas neurológicos tais como a perda de coordenação motora e paresia (Al Dabagh 1961, Serra-Freire & Massard 1979, Souza 1998, Grim et al. 2003, Silveira et al. 2009b). Os sintomas são mais severos em aves mais jovens, sendo que já foi verificada uma alta mortalidade de pintinhos infectados com malária aviária causada por *P. juxtenucleare* (Al Dabagh 1961, Itagaki 1970). Além disso, as aves domésticas são constantemente desafiadas por outros tipos de patógenos presentes nos ambientes confinados, especialmente os vírus de caráter imunodepressor. Estes vírus, como Vírus da Anemia Infecciosa (CAV – Chicken Anemia Virus), retardam o desenvolvimento da resposta inflamatória, aumentando a suscetibilidade do hospedeiro aos hemoparasitos e elevando a severidade dos sintomas da infecção (Silveira et al., 2013).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo principal compreender a dinâmica da infecção por malária aviária em aves domésticas em ambientes tropicais utilizando aves confinadas em galpões aviários como modelo de estudo.

### MATERIAL E MÉTODOS

Na primeira etapa, que abrange os resultados apresentados neste resumo, foi realizado um teste piloto no qual foram amostradas 94 amostras de aves confinadas nos galpões no mês de julho de 2013, com o objetivo de se avaliar se infecção por malária aviária estaria presente nos galpões do IFMG.

Amostras de sangue de 94 aves dos galpões aviários foram obtidas após o abate das aves na Unidade de Processamento de Carnes do IFMG – Campus Bambuí, utilizando um pedaço de papel filtro (2 cm<sup>2</sup>) e imediatamente armazenadas num microtubo de centrifugação. A extração de DNA foi realizada utilizando um protocolo que extração de DNA de sangue periférico pelo método de fenol/clorofórmio/álcool isoamílico adaptado de Sambrook et al. (2001).

A detecção da infecção das amostras por espécies de *Plasmodium* foi realizada utilizando reações em cadeia da polimerase (PCR). Esta abordagem baseia-se na amplificação de uma região altamente conservada do gene mitocondrial SSU utilizando oligonucleotídeos (primers) específicos descritos por Fallon et al. (2003). Os produtos de PCR foram visualizados em géis de poliacrilamida, corados com nitrato de prata, em que a presença de uma banda única correspondente ao tamanho do produto amplificado foi considerada como infecção positiva.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise dos géis de poliacrilamida, observou-se que das 94 amostras analisadas foram identificadas apenas 8% com infecções confirmadas (figura 1). Comparando-se os dados obtidos na pesquisa com outros estudos de prevalência de infecção, os valores obtidos ficaram muito abaixo dos encontrados para aves silvestres (17 a 54%) e dentro da amplitude de valores encontrados para galinhas sob confinamento (1,5 a 40%) (Lacorte et al., 2013; Santos-Prezoto et al., 2004). Além disso, os baixos valores de prevalência podem estar refletindo o período no qual as aves foram amostradas, na qual se espera que as populações de insetos vetores dos parasitos estão menores e por consequência diminuindo a transmissão (Valkiunas, 2005). Entretanto, a confirmação desta hipótese poderá apenas ser corroborada com um estudo com amostras em todas as estações do ano.

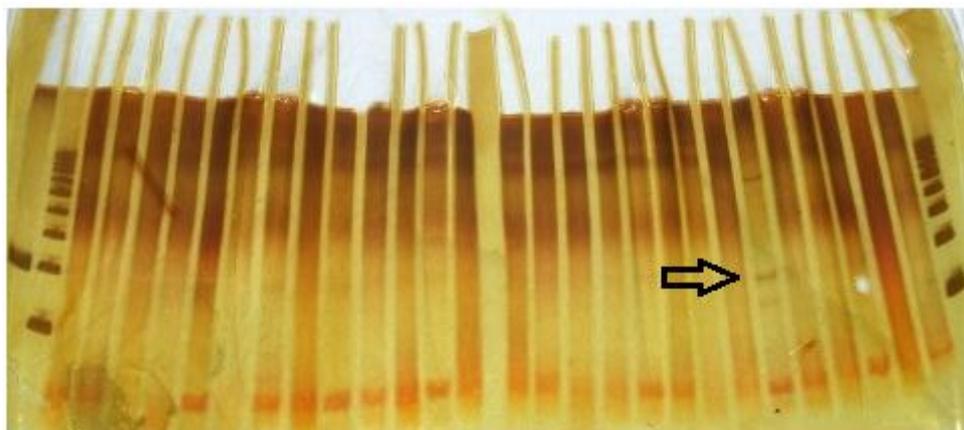


Figura 1. Figura de um gel de poliacrilamida utilizado na triagem das amostras infectadas. A seta na figura destaca uma amostra identificada como infectada.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no teste piloto revelaram que a infecção por malária aviária está presente nos galpões aviários e em níveis similares aos encontrados em outros estudos envolvendo aves domésticas confinadas. Desta forma, as demais amostragens estão em andamento.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à equipe da Unidade de Processamento de Carnes do IFMG – Campus Bambuí, por nos permitir amostrar as aves abatidas. Agradecemos também ao Laboratório de Malária da UFMG pelo treinamento dos alunos e a colaboração com alguns materiais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al Dabagh MA (1961) Syntomatic partial paralysis in chicks with *Plasmodium juxtannucleare*. *J Comparative Pathology*. 71: 217-221.

Bennett FG, Warren M (1966). Biology of the Malaysian strain of *Plasmodium juxtannucleare* Versiani and Gomes, 1941.I. Description of the stages in the vertebrate host. *Journal of Parasitology*. 52: 565-569.

Fallon SM, Ricklefs RE, Swanson EB (2003) Detecting avian malaria: an improved polymerase chain reaction diagnostic. *Journal of Parasitology*. 89: 1044-1047.

Garnham PCC 1966. Malaria parasites and other haemosporidia. Blackwell Sci. Public. Oxford. 1114 pp.

## VII Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG campus Bambuí, VII Jornada Científica.

Grim KC, van der Merwe E, Sullivan M, Parsons N, Mc Cutchan TF, Cranfield M (2003) *Plasmodium juxtannucleare* associated with mortality in black-footed penguin (*Spheniscus demersus*) admitted to a rehabilitation center. *J. Zoo Wild. Med.*. 34: 250-255.

Huchzermeyer FW (1993) A host-parasite list of the haematozoa of domestic poultry in sub-Saharan Africa and the isolation of *Plasmodium durae* Herman from turkeys and francolins in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 60:15-21.

Itagaki K (1970) An avian malaria in Japan. *Journal of Parasitology*. 56: 164.

Krettli AU (1972) *Plasmodium juxtannucleare* in the state of Minas Gerais, Brazil. Studies on its prevalence and some aspects of its biology. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 14: 235-245.

Lacorte GA, Félix GMF, Pinheiro RRB, Chaves AV, Almeida-Neto G, Neves FS, Leite LO, Santos FR, Braga EM (2013) Exploring the Diversity and Distribution of Neotropical Avian Malaria Parasites – A Molecular Survey from Southeast Brazil. *Plos One*. 8(3): e57770. doi:10.1371/journal.pone.0057770.

Macchi BM, Quaresma JAS, Herculano AM, Crespo-López M, DaMatta RA, Nascimento JLM (2010) Pathogenic action of *Plasmodium gallinaceum* in chickens: Brainhistology and nitric oxide production by blood monocyte-derived macrophages. *Vet. Parasitol.*. 172:16–22.

Paulman A, McAllister MM (2005) *Plasmodium gallinaceum*: clinical progression, recovery, and resistance to disease in chickens infected via mosquito bite. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 73: 1104–1107.

Permin A, Juhl J (2002) The development of *Plasmodium gallinaceum* infections in chickens following single infections with three different dose levels. *Veterinary Parasitology*.105: 1-10.

Sambrook J, Russel DW, Sambrook J (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, CHSL Press, New York.

Santos-Prezoto HH, D'Agosto M, Daemon E (2004) Prevalência e variação dos estádios eritrocíticos do *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* em *Gallus gallus* sob condições naturais, no período de um ano. *Parasitologia Latinoamericana*. 59: 14-20.

Serra-Freire NM, Massard CL (1979) *Plasmodium juxtannucleare* Versiane & Gomes, 1941, parasito de *Gallus gallus* L. , *Meleagris gallopavo* L. e *Crysolophus spp.* na região do Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul. *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*, 20: 45-48.

Silveira P, Damatta RA, D'Agosto M (2009b) Hematological changes of chickens experimentally infected with *Plasmodium (Bennettinia) juxtannucleare*. *Veterinary Parasitology*.162: 257-62.

## VII Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG campus Bambuí, VII Jornada Científica.

Silveira P, Marin SYG, Moreira PA, Tocantins BB, Lacorte G, Paixão TA, Martins NRS, Braga EM (2013) Interactions of *Plasmodium juxtannucleare* and chicken anaemia virus: establishing a model. *Parasitology*.140: 1777-1788.

Silveira P, Vashist U, Cabral A, Amaral K B, Soares GLG, D'Agosto M (2009a). Effect of Rutin and Chloroquine on White Leghorn chickens infected with *Plasmodium (Bennettinia) juxtannucleare*. *Tropical Animal Health and Production*. 41:1319-1323.

Souza, PCA (1998) Malária aviária: parasitismo por *Plasmodium juxtannucleare* Versiani & Gomes, 1941 em *Gallus gallus* L. de criações rústicas, nas mesorregiões do estado do Rio de Janeiro e aspectos Clínicos e patológicos de sua infecção experimental Ph.D. Tese. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Brasil, 137p.

Valkiunas G (2005) Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Vashist U, Silveira P, Cabral A, Amaral KB, Soares GLG, D'Agosto M (2008) Atividade malaricida da quercetina em *Gallus gallus* L., 1758 imunossuprimidos infectados por *Plasmodium (Bennettinia) juxtannucleare* Versiani e Gomes, 1941. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 17: 220-223.