



DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO DE AVES DOMÉSTICAS E SILVESTRES POR *PLASMODIUM JUXTANUCLEARE*, PARASITO CAUSADOR DA MALÁRIA EM AVES

Autores: Liomar Caetano de Oliveira Júnior; Déllis Márcia Silveira e Silva; Gustavo Augusto Lacorte

Palavras-chave: PARASITOLOGIA, FRANGOS, AVICULTURA, MEDICINA PREVENTIVA

Campus: Bambuí

Área do Conhecimento (CNPq): PARASITOLOGIA ANIMAL

RESUMO

A infecção de aves domésticas pelo parasito *Plasmodium juxtancleare* pode causar problemas a saúde das aves o que implica em perdas no setor produtivo de aves de corte e postura. A utilização de técnicas de diagnóstico molecular de parasitos, tem a vantagem de se avaliar dezenas amostras de uma única vez, sem a utilização de profissionais altamente especializados (raros) na identificação das espécies. Neste contexto, o presente projeto se propõe a desenvolver um diagnóstico molecular, passível de ser utilizado em larga escala, de infecção de aves domésticas e silvestres pelo parasito *Plasmodium juxtancleare*, causador de sintomas da malária aviária em aves. O teste se baseia no desenvolvimento de um sistema de amplificação de sequencias únicas de DNA de *P. juxtancleare* por meio de uma técnica de baixo custo chamada ARMS-PCR. Os experimentos que validaram o teste foram realizados com sucesso. Foi realizada uma triagem de infecção de uma amostra 280 indivíduos, utilizando a técnica de PCR. Os resultados revelaram que a incidência da infecção por malária aviária nos galpões de aves de corte foi de 9,2%. A taxa de incidência indica que existe um considerável risco de infecção para as aves dos galpões aviários do IFMG Campus Bambuí, sobretudo para as aves de ovoposição cuja infecção já foi relacionada com uma queda na produção de ovos em estudos posteriores. O estudo mostra também a necessidade de se estimar a incidência ao longo dos meses do ano para se estimar se a sazonalidade influencia de fato na incidência de infecção por malária aviária.

INTRODUÇÃO

As aves podem se infectar por vários parasitos do gênero *Plasmodium* sendo que a gravidade dos sintomas apresentados pelas aves depende de vários fatores incluindo qual espécie de *Plasmodium* é o agente infeccioso (Valkiunas, 2005). A infecção de aves domésticas pelo parasito *Plasmodium juxtancleare* pode causar problemas a saúde das aves o que implica em perdas no setor produtivo de aves de corte e postura. Desta forma, é de grande importância não só identificar se aves estão infectada, mas também qual espécie de *Plasmodium* está envolvida na infecção para se ter uma estimativa real do estado de saúde do plantel de aves sob avaliação (Souza, 1998).

A identificação usual de qual espécie de *Plasmodium* está infectando uma ave, incluindo aves domésticas, envolve a preparação e análises microscópicas de esfregaços sanguíneos que requerem a *expertise* de profissionais muito treinados na taxonomia diferencial das espécies, uma vez que o diagnóstico específico apresenta poucos caracteres disponíveis e de difícil interpretação (Oliveira, 2001).



A utilização de técnicas de diagnóstico molecular de parasitos, tem a vantagem de se avaliar dezenas amostras de uma única vez, sem a utilização de profissionais altamente especializados (raros) na identificação das espécies de patogenicidade com relevância veterinária e zootécnica (Braga et al., 2011).

Neste contexto, o presente projeto se propõe a desenvolver um diagnóstico molecular, passível de ser utilizado em larga escala, de infecção de aves domésticas e silvestres pelo parasito *Plasmodium juxtannucleare*, causador de sintomas da malária aviária em aves.

METODOLOGIA:

Para o desenvolvimento do teste diagnóstico serão utilizadas 30 amostras de sangue de *Gallus domesticus* infectadas por *P.juxtannucleare*, diagnosticadas através de análise microscópica de esfregaços sanguíneos. O método de preparação dos esfregaços bem como o diagnóstico será feito seguindo descrições de Valkiunas (2005). As amostras são obtidas das aves presentes nos aviários do IFMG-Campus Bambuí. Além das amostras infectadas por *P. juxtannucleare*, para validação do teste serão utilizadas 15 amostras sangue de *Gallus domesticus* infectadas por *P. gallinaceum* e 15 amostras de sangue sem sinais de infecção por espécies de *Plasmodium* (disponíveis no banco de DNA do Laboratório de Biologia Molecular do IFMG-Campus Bambuí).

O desenvolvimento de um sistema de amplificação de sequencias únicas de DNA de *P. juxtannucleare* será baseado numa técnica chamada ARMS-PCR. Neste sistema, a amplificação só será possível se a amostra conter DNA de *P. juxtannucleare*, ou seja, infecção por este parasito. Caso inexista infecção ou infecção por outra espécie de *Plasmodium* não haverá amplificação do fragmento. Dessa forma, a detecção da infecção por meio de verificação da presença de uma banda de tamanho específico corada em gel de poliacrilamida após eletroforese.

Para validação do teste, serão submetidas a reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando os iniciadores específicos uma amostra 280 amostras de sangue das aves dos galpões aviários a fim de se realizar uma triagem da infecção nos galpões.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os experimentos que validaram o teste foram realizados com sucesso. Através da análise dos géis de poliacrilamida, observou-se que das 280 amostras analisadas foram identificadas apenas 26 amostras com infecções confirmadas (Figura 1), configurando uma incidência de 9,2%.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A TRIAGEM

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, de 17 a 54%, e dentro da amplitude de valores encontrados para galinhas sob confinamento, de 1,5 a 40% (LACORTE et al., 2013; SANTOS-PREZOTO et al., 2004). Os resultados mostram a diferença entre estimativas de incidência e prevalência de infecção. Quanto mais tempo vive a ave hospedeira, mais tempo ela tem para se infectar e, ao longo do tempo o número de indivíduos infectados na população vai aumentando, e por consequência, a prevalência também aumenta.

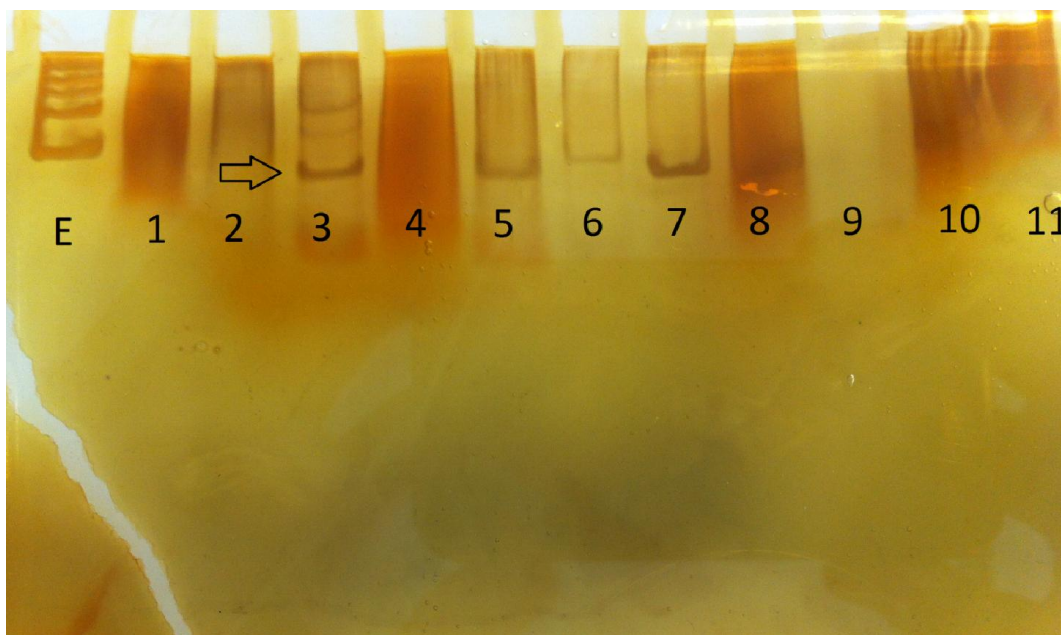


Figura 1. Gel de poliacrilamida de triagem de amostras infectadas. E: Escada alélica; Amostras 1, 4, 9, 10 e 11 representam indivíduos não infectados. Amostras 3, 5, 6, 7 e 8 representam indivíduos infectados. A ponta da seta indica a banda de DNA que caracteriza a infecção.

A análise de dados de prevalência em populações de espécies silvestres é muito comum em estudos sobre o efeito da infecção nas populações, sobretudo daquelas ameaçadas. Entretanto, se objetivo é estimar o risco atual de sobrevivência da população devido às infecções, o cálculo da prevalência não é o mais indicado, pois considerará infecções adquiridas em outras fases da vida das aves. Nestes casos, a incidência seria o mais indicado pois revela o risco atual das aves sadias de se infectarem (NEVES, 2011).

Considerando o manejo das aves nos galpões, os valores de incidência revelam que os galpões aviários do IFMG Campus Bambuí apresentam risco para as aves se infectarem por parasitos causadores da malária aviária. Embora o estudo tenha sido realizado nos galpões de aves de corte, o mesmo risco se aplica aos galpões de aves de postura, uma vez que a falta de um mecanismo de controle de entrada de mosquitos em ambos os galpões é o mesmo. O risco de infecção por malária aviária em aves de postura tem maior relevância uma vez que já foi comprovado que a infecção por malária em aves pode levar a uma queda na produção de ovos (ITAGAKI, 1970).

O número de indivíduos infectados encontrados nas amostras pode estar indiretamente relacionado à sazonalidade, pois o período no qual ocorreu a coleta das amostras corresponde ao final da estação seca, período no qual se espera que a população dos insetos vetores do parasito estejam menores, consequentemente havendo uma menor taxa de transmissão (VALKIUNAS, 2005). Entretanto, para que esta hipótese possa ser confirmada é necessário que se faça um estudo a longo prazo, analisando amostras coletadas em todas as estações do ano, considerando a sazonalidade do inseto vetor.



CONCLUSÕES

Os experimentos que validaram o teste foram realizados com sucesso. Foi realizada uma triagem de infecção de uma amostra 280 indivíduos, utilizando a técnica de PCR. Os resultados revelaram que a incidência da infecção por malária aviária nos galpões de aves de corte foi de 9,2%. A taxa de incidência indica que existe um considerável risco de infecção para as aves dos galpões aviários do IFMG Campus Bambuí, sobretudo para as aves de ovoposição cuja infecção já foi relacionada com uma queda na produção de ovos em estudos posteriores. O estudo mostra também a necessidade de se estimar a incidência ao longo dos meses do ano para se estimar se a sazonalidade influencia de fato na incidência de infecção por malária aviária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BRAGA, Érika Martins et al. Recent advances in the study of avian malaria: an overview with an emphasis on the distribution of *Plasmodium* spp in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 3-11, 2011.

ITAGAKI, K. An avian malaria in Japan. **J Parasitol**, v. 56, p. 164, 1970.

LACORTE, Gustavo A. et al. Exploring the diversity and distribution of neotropical avian malaria parasites—a molecular survey from Southeast Brazil. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e57770, 2013.

NEVES, David Pereira. **Parasitologia humana**. Atheneu, 2002.

OLIVEIRA, C. E. Criopreservação e caracterizações morfológica, morfométrica e ultra-estrutural de *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* Versiani & Gomes, 1941 (Apicomplexa: Plasmodiidae). **Criopreservação e caracterizações morfológica, morfométrica e ultra-estrutural de Plasmodium (Novyella) juxtannucleare Versiani & Gomes, 1941 (Apicomplexa: Plasmodiidae)**, 2001.

SANTOS-PREZOTO, Helba Helena; DAGOSTO, Marta; DAEMON, Erik. Prevalência e variação dos estádios eritrocíticos do *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* em *Gallus gallus* sob condições naturais, no período de um ano. **Parasitología latinoamericana**, v. 59, n. 1-2, p. 14-20, 2004.

SOUZA, P. C. A. Malária Aviária: Parasitismo por *Plasmodium (Novyella) 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. **Malária Aviária: Parasitismo por Plasmodium (Novyella) 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**, 1998.

VALKIUNAS, Gediminas. **Avian malaria parasites and other haemosporidia**. CRC press, 2004.

Participação em Congressos, publicações e/ou pedidos de proteção intelectual:

Os dados ainda não foram apresentados ou publicados.