

## Identificação e caracterização de hemoparasitos em *Gallus gallus domesticus* na região de Porto Velho, RO

Identification and characterization of hemoparasites in *Gallus gallus domesticus* in the region of Porto Velho, RO

Identificación y caracterización de hemoparásitos en *Gallus gallus domesticus* en la región de Porto Velho, RO

Recebido: 21/10/2022 | Revisado: 01/11/2022 | Aceitado: 06/11/2022 | Publicado: 12/11/2022

### **Nayara Nágila Neves Alves**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1575-2654>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [nayanagilanevesalves@gmail.com](mailto:nayanagilanevesalves@gmail.com)

### **Taiane Nunes Magalhães**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2977-4064>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [taianenunesmagalhaes@gmail.com](mailto:taianenunesmagalhaes@gmail.com)

### **Rebeka Alves Ramos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4325-8410>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [rebekaalves504@gmail.com](mailto:rebekaalves504@gmail.com)

### **Maria Karoline Sales de Sá**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0643-7057>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [mkaroline.sales@gmail.com](mailto:mkaroline.sales@gmail.com)

### **Karen Almeida da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7022-1015>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [karenSilva1999@gmail.com](mailto:karenSilva1999@gmail.com)

### **Ana Livia do Nascimento Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1942-2540>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [liviaana617@gmail.com](mailto:liviaana617@gmail.com)

### **Yara Raphaela Maia dos Santos Gomes**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3850-8139>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [yararaphaella09@gmail.com](mailto:yararaphaella09@gmail.com)

### **Elieth Afonso de Mesquita**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6562-5656>  
Universidade Federal de Rondônia, Brasil  
E-mail: [eliethbio@unir.com](mailto:eliethbio@unir.com)

## **Resumo**

A intensificação das normas sanitárias para granjas avícolas teve a biosseguridade consolidada a partir de instruções normativas cabíveis adicionadas. Esta adequação levou ao reconhecimento internacional da avicultura do Brasil, um dos maiores exportadores de carne de frango do mundo. A implementação de manejo sanitário deve estender-se à frangos de vida livre, considerando a cultura enraizada na proteína caipira, a qual ocupa um grande mercado nacional. Essas medidas diminuem os riscos de infecções, possibilitando a saúde do animal e resguardando a saúde do consumidor. Este estudo teve como objetivo verificar a incidência de hemoparasitos em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criação artesanal comercializadas em feiras livres do município de Porto Velho/RO. A pesquisa experimental ocorreu no período de 2022, a partir de 11 amostras sanguíneas coletadas por punção venosa, após processo de insensibilização. Além de identificação parasitária por morfologia em MO através de esfregaço sanguíneo, também foi realizado hemograma por hemocítômetro (câmara de Neubauer). Três espécies de hemoparasitos foram identificadas: *Leucocytozoon* (82%), Hemogregarina (18%) e *Plasmodium* (18%). A análise diferencial de leucócitos apontou infecção parasitária com elevados índices de monócitos (14%) e heterófilos (51%), confirmando alta parasitemia observadas por microscopia. Os resultados indicam infecções múltiplas por vetores sugerindo que os pequenos criadouros precisam de capacitação de manejo, bem como a espécie abatida pode ser um potencial reservatório comprometendo a saúde de outros animais, como o homem.

**Palavras-chave:** Haemosporida; *Gallus gallus*; Saúde pública.

## Abstract

The intensification of health sanitary standards for poultry farms had biosecurity consolidated from the appropriate normative instructions added. This adaptation led to the international recognition of the poultry industry in Brazil, one of the largest exporters of chicken meat in the world. The implementation of sanitary management should extend to free-range chickens, considering the culture rooted in free-range protein, which occupies a large national market. These measures reduce the risk of infections, enabling the health of the animal and protecting the health of the consumer. This study aimed to verify the incidence of hemoparasites in chickens (*Gallus gallus domesticus*) of artisanal breeding sold in street markets in the city of Porto Velho/RO. The experimental research took place in the period of 2022, from 11 blood samples collected by venipuncture, after the stunning process. In addition to parasite identification by morphology in OM through blood smear, blood count was also performed by hemocytometer (Neubauer chamber). Three species of hemoparasites were identified: *Leucocytozoon* (82%), Hemogregarin (18%) and *Plasmodium* (18%). Differential analysis of leukocytes showed parasitic infection with high rates of monocytes (14%) and heterophils (51%), confirming high parasitemia observed by microscopy. The results indicate multiple infections by vectors, suggesting that small breeding sites need management training, as well as the slaughtered species can be a potential reservoir compromising the health of other animals, such as man.

**Keywords:** Haemosporide; *Gallus gallus*; Public health.

## Resumen

La intensificación de las normas sanitarias para las granjas avícolas consolidó la bioseguridad a partir de las correspondientes instrucciones normativas añadidas. Esta adaptación llevó al reconocimiento internacional de la industria avícola de Brasil, uno de los mayores exportadores de carne de pollo del mundo. La implementación del manejo sanitario debe extenderse a los pollos de corral, considerando la cultura arraigada en la proteína de corral, que ocupa un gran mercado nacional. Estas medidas reducen el riesgo de infecciones, favoreciendo la salud del animal y protegiendo la salud del consumidor. Este estudio tuvo como objetivo verificar la incidencia de hemoparásitos en pollos (*Gallus gallus domesticus*) de cría artesanal vendidos en mercados callejeros en la ciudad de Porto Velho/RO. La investigación experimental se llevó a cabo en el período de 2022, a partir de 11 muestras de sangre recolectadas por punción venosa, luego del proceso de aturdimiento. Además de la identificación del parásito por morfología en MO mediante frotis de sangre, también se realizó hemocitómetro (cámara de Neubauer). Se identificaron tres especies de hemoparásitos: *Leucocytozoon* (82%), Hemogregarina (18%) y *Plasmodium* (18%). El análisis diferencial de leucocitos mostró infección parasitaria con altas tasas de monocitos (14%) y heterófilos (51%), lo que confirma la alta parasitemia observada por microscopía. Los resultados indican múltiples infecciones por vectores, lo que sugiere que los criaderos pequeños necesitan capacitación en manejo, así como las especies sacrificadas pueden ser un reservorio potencial que comprometa la salud de otros animales, como el hombre.

**Palabras clave:** Hemosporida; *Gallus gallus*; Salud pública.

## 1. Introdução

As aves constituem a segunda classe de vertebrados com maior distribuição global, contendo 10.000 espécies mundialmente distribuídas, sendo que destas, cerca de 1.900 espécies habitam ou transitam no território Brasileiro (Avibase, 2022). Alguns detalhes do habitat e hábitos alimentares das aves são relevantes para explicar a possível exposição a vetores responsáveis pela transmissão de hemoparasitos (Tomás, 2014). Estes microrganismos apresentam distribuição global e já foram descritos parasitando diversos grupos de aves em praticamente todas as regiões geográficas (Brum et al., 2016).

Se tratando de hemosporídeos (Classe: Sporozoa, ordem: Haemosporida) os do gênero *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium*, são um dos grupos de protozoários intracelulares de células sanguíneas e tecidos mais bem estudados e conhecidos (Valkiunas, 2005). A transmissão para aves ocorre por meio de dípteros hematófagos que durante o repasto sanguíneo podem transmitir hemoparasitas que infectam diretamente as células sanguíneas e provocam hemólise intravascular ou extravascular (Campbell, 2015). Além destes, os gêneros *Trypanosoma*, *Toxoplasma*, *Hepatozoon* e *Atoxoplasma* podem também ser encontrados nos esfregaços sanguíneos de aves (Clark et al., 2009).

Segundo Filho et al. (2021), a carne de frango foi a fonte de proteína animal que mais cresceu nos últimos 40 anos. O Brasil é um dos mais importantes produtores mundiais sendo superado apenas pelos Estados Unidos e pela China. Em relação ao consumo, tem aumentado progressivamente, tornando-se a segunda carne mais consumida no Brasil, onde a criação de galinhas caipiras (vida livre) é uma das atividades mais tradicionais, visto que necessita de pouca mão de obra, é facilmente praticável, tem um retorno financeiro relativamente rápido e funciona como uma fonte de alimento para a família (Fernandes &

Silva, 2001), porém a falta de um controle sanitário e treinamento técnico de manejo tem tornado a criação de galinhas caipiras (*Gallus gallus domesticus*) um risco à sua comercialização demonstrando a necessidade de uma vigilância sanitária mais ostensiva.

Em 2019 devido a pandemia do SARS-CoV-2 especialistas chamam a atenção de produtores para questões sanitárias importantes na criação de animais que podem ser fontes de doenças infecciosas causadas por vírus, bactérias e parasitos, que podem ter potencial zoonótico (Embrapa, 2020). É necessário reconhecer os hemoparasitos como importantes agentes etiológicos, principalmente devido à importância das infecções transmitidas por aves comercializadas ou destinadas à reintrodução (Belo, 2007). Muitas aves não expressam sinais clínicos até o final da doença e os sinais exibidos podem ser inespecíficos, portanto, o uso de ensaios hematológicos pode auxiliar no reconhecimento precoce da doença, facilitando o manejo e a terapia adequada no tratamento da enfermidade (Clark et al., 2009).

Os estudos epidemiológicos regionais são importantes medidas de controle sanitário, pois diminuem os riscos de infecções, possibilitando a saúde do animal e resguardando a saúde do consumidor. Dessa forma, este estudo teve como objetivo verificar a incidência de hemoparasitos em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criação artesanal comercializadas em feiras livres do município de Porto Velho/RO.

## 2. Metodologia

O método de pesquisa é de natureza básica, abordagem qualitativa com caráter descritivo a partir de estudos experimentais e documentais (Gil, 2010). O projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Rondônia (CEUA-UNIR) sob aprovação de número 011-2022-A.

### Local de coleta

Este estudo foi realizado na cidade de Porto Velho, Rondônia. O município está localizado na região norte do Brasil, na área abrangida pela Amazônia no planalto Sul-Amazônico, uma das parcelas do Planalto Central Brasileiro. Situado a 83 metros de altitude, com as seguintes coordenadas geográficas: Lat. 8° 45' 43" Sul e Long. 63° 54' 7" Oeste (Cidade-Brasil, 2021). A região apresenta um clima tropical, com épocas de intenso calor e algumas vezes, acompanhado por chuva.

As coletas sanguíneas foram realizadas no período de 2022 em três feiras livres distintas, local onde a ave é abatida no momento da compra, as quais são disponibilizadas para consumo da população local. As amostras foram coletadas em tubos estéreis com anticoagulante e encaminhadas ao campus da Universidade Federal de Rondônia para procedimentos histológicos.

### Coleta de sangue

Após contato prévio com os feirantes e explicação sobre o objetivo do estudo, os mesmos contribuíram para as coletas venosas, os quais fizeram a contenção da ave, imobilizando as pernas e abrindo as asas. Foram coletadas amostras de sangue (1 mL) por punção venosa da veia braquial, utilizando seringas de 1 mL e agulhas estéreis descartáveis 25 x 7mm (BD®) em tubos (Vacutainer®) de 1 mL contendo ácido etilenodiaminotetracético-di-sódico (EDTA) (Labor Import®).

As amostras devidamente identificadas foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e enviadas ao Laboratório de Histoanálise (LABHIS) no Centro de Interdepartamental de Biologia Experimental e Biotecnologia (CIBEBI) da Fundação Universidade Federal de Rondônia (UNIR), onde foram confeccionados os esfregaços sanguíneos e pesquisa de hemoparasitos.

### Análises do resultado a partir do exame direto

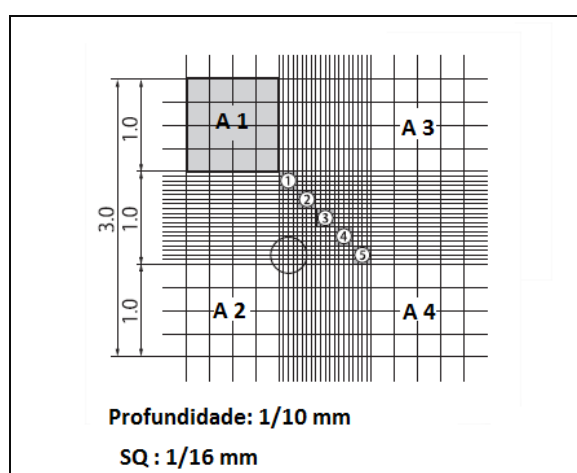
A concentração total de eritrócitos e leucócitos foi obtida pelo método Natt e Herrick (1952) em uma diluição de 1:200. No processo de diluição, 20 µL (microlitro) de sangue é homogeneizado com 4 mL (mililitro) de corante Natt-Herrick

com o auxílio de pipetas diluidoras. O sangue diluído é colocado em câmara de contagem hematimétrica e após um período de 5 min, para que as células se estabilizem sobre a superfície pautada, é levada à microscopia ótica nas objetivas de 40x para análise quantitativa.

Os eritrócitos localizados nos compartimentos 1, 2, 3, 4 e 5 do quadrante central da câmara de Neubauer (Figura 1), são contabilizados de forma manual. Na sequência, multiplica-se o número obtido por 10.000 para calcular o total de eritrócitos por milímetro cúbico ( $\text{mm}^3$ ) de sangue. De acordo com Campbell (2015), a concentração total de leucócitos é obtida pela contagem de todos os leucócitos (células azul-escuras) localizados nos compartimentos A1, A2, A3 e A4 da câmara hematimétrica (Figura 1), utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{LeT}/\text{mm}^3 = (\text{Total de células nos nove quadrados} + 10\%) \times 200$$

**Figura 1** - Câmara hemocitométrica.



Fonte: Kasvi (2022).

A determinação do hematócrito ou volume globular ocorreu pela técnica de micro-hematócrito a partir da transferência do sangue reservado no tubo (Vacutainer®) para um micro capilar (3/4) e centrifugado a 1500 rpm por 5 minutos em uma micro-centrífuga (Excelsa® II centrífuga), os resultados estimados se dão em porcentagem através de tabelas específicas de micro-hematócrito que vem junto com a micro-centrífuga o qual nos possibilita estimar o volume de sangue ocupado pelos eritrócitos em relação ao sangue total.

Os esfregaços sanguíneos foram confeccionados secos à temperatura ambiente, fixados e corados pelo kit panótico rápido (Laborclin®), baseado no método de coloração hematológica estabelecida por Romanowsky. O processo de coloração da lâmina incluiu a ação de um fixador e duas soluções corantes (Solução de triarilmetano a 0,1%; Solução de xantenos a 0,1%; Solução de tiazinas a 0,1%), que são imersas por 5 segundos em cada. Ao fim da última imersão encontra-se pronta para leitura (Laborclin, 2019).

A contagem diferencial leucocitária, determinação morfológica das células sanguíneas da ave e a caracterização dos hemoparasitos ocorreu em esfregaço sanguíneo com uso da microscopia ótica (MO) em objetivas de 40x e 100x, as quais projetam imagem com aumento de 400x e 1000x. Na contagem diferencial leucocitária, 100 células foram contabilizadas e com uma regra de três simples, foram determinados valores relativos e absolutos de linfócitos, heterófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos. A identificação de hemoparasitos se deu por 100 campos analisados no aumento de 1000x (imersão), conforme descrito por Fecchio et al. (2007), com modificações. As estruturas morfológicas dos hemoparasitos foram comparadas com a literatura a partir de estudos publicados na Scientific Electronic Library Online (SciELO).

### Análise estatística

Para tabulação dos dados o *software* utilizado foi o Microsoft Excel/2010, as variáveis quantitativas, que são os parâmetros hematológicos de Eritrócitos, Volume globular (VG), Volume corpuscular médio (VCM), Leucócitos totais, Heterófilos, Eosinófilos, Basófilos, Linfócitos e Monócitos foram organizados em uma tabela e calculadas as médias dos parâmetros para cada amostra, obtendo-se a média amostral que representa a medida de tendência central (Webster, 2006).

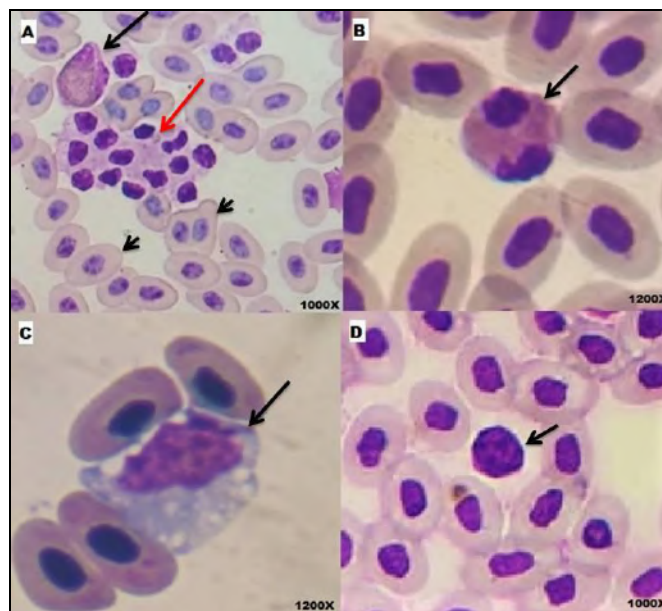
Para a prevalência de hemoparasitos foram utilizados o número 1 para ocorrência de parasito e o número 0 para não ocorrência. A distribuição de frequência absoluta e relativa foi calculada usando a seguinte fórmula no Excel:  $P(\%) = (Ni/He)100$ , onde P é a prevalência, Ni o número de hospedeiros infectados e He o número de hospedeiros examinados (Bush et al., 1997). Os resultados foram expressos em um gráfico de coluna.

### 3. Resultados e Discussão

As características hematológicas da maioria das aves não foram documentadas. Fatores fisiológicos como idade, sexo, reprodução, estação, nutrição, habitat, migração e fatores patológicos (como doenças infecciosas) impede a padronização de um valor referencial. Com isso a interpretação precisa dos dados eritrocíticos e leucocitários das espécies de aves é observada pelas publicações hematológicas de aves saudáveis (Clark et al., 2009). Dessa forma, os valores referenciais hematológicos para *Gallus gallus* usados no presente estudos são os descritos por Campbell (2015).

No período de 2022 foram coletadas no total 11 amostras sanguíneas de *Gallus gallus domesticus* com faixa etária entre 4 e 8 meses. Durante análise qualitativa dos esfregaços sanguíneos foram observados eritrócitos elípticos com núcleo central, leucócitos com características morfológicas semelhantes as dos mamíferos, com pequenas variações como heterófilos para aves, e trombócitos nucleados com formato elíptico e redondo, nos mamíferos as plaquetas são anucleadas (Figura 2).

**Figura 2** - Células sanguíneas de *Gallus gallus domesticus* do presente estudo.



Legenda: (A) Agregados de Trombócitos, seta vermelha, Heterófilos, seta preta e eritrócitos, ponta de seta; (B) Eosinófilo, seta; (C) Monócito, seta; (D) Linfócito, seta. Fonte: Autores.

Na Figura 2A é possível observar os eritrócitos elípticos com núcleo central corado intensamente com hematoxilina; Heterófilo com grânulos citoplasmáticos corados com eosina e núcleo bilobulado; Figura 2B eosinófilo com núcleo bilobulado

condensado; Figura 2C um monócito com vários vacúolos citoplasmático e núcleo pouco condensado; e Figura 2D um linfócito não reativo com núcleo central.

Em relação a análise quanti-qualitativa dos eritrócitos, VG e VCM (Tabela 1), corroboraram com os intervalos referenciais estabelecidos por Campbell (2015). Porém, a média dos leucócitos totais registrados nas amostras  $4,3 \times 10^3 \mu\ell$ , não convergem estando acima dos registrados, o que caracteriza um quadro de infecção aviária.

**Tabela 1** - Parâmetros eritrocíticos e leucocitários de *Gallus gallus domesticus* do presente estudo.

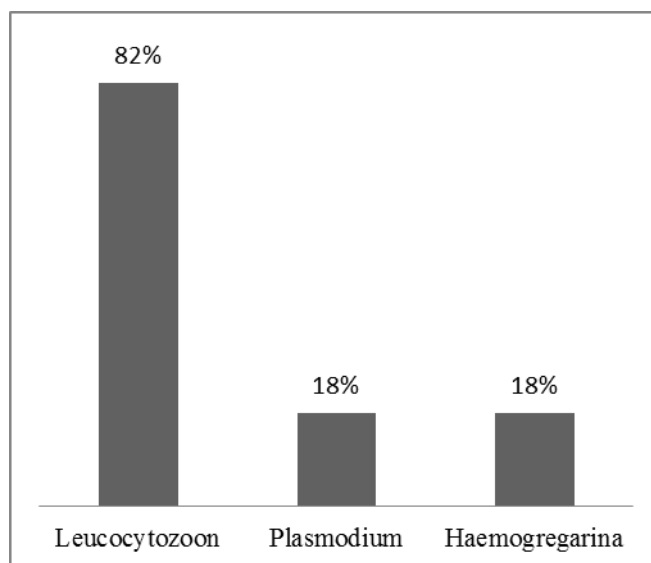
Parâmetros	Eritrócitos (x $10^6 \mu\ell$ )	VG (%)	VCM (fl)	Leucócitos totais (x $10^3 \mu\ell$ )	H (%)	E (%)	B (%)	L (%)	M (%)
Intervalos referenciais*	1,3 a 4,5	23 a 55	100 a 139	0,9 a 3,2	15 a 50	0 a 16	0 a 8	29 a 84	0 a 7
Amostras									
1	3,6	26	72,2	1,8	55	11	4	23	7
2	4,0	25	62,5	2,4	63	2	2	28	5
3	4,3	28	65,9	2,6	65	9	4	16	6
4	4,4	30	68,2	3,3	70	2	1	15	12
5	4,4	27	61,4	5,4	41	5	0	16	38
6	4,0	39	97,4	4,2	32	2	4	43	19
7	4,1	29	71,4	7,6	64	4	0	8	24
8	4,5	29	65,0	5,9	39	3	2	42	14
9	3,6	29	80,6	7,3	47	5	1	34	13
10	2,0	35	175,0	4,2	57	7	1	23	12
11	1,7	37	217,0	3,0	30	15	5	44	6
<b>Média</b>	$3,7 \times 10^6 \mu\ell$	30%	94,2 fl	$4,3 \times 10^3 \mu\ell$	51%	6%	2%	27%	14%

Legendas: \*Valores estabelecidos por Campbell, 2015. Volume globular (VG); Volume corpuscular médio (VCM); Heterófilos (H); Eosinófilos (E); Basófilos (B); Linfócitos (L); Monócitos (M). Fonte: Autores.

Dos leucócitos, a média dos Heterófilos (51%) e Monócitos (14%) estão acima dos intervalos referenciais estabelecidos. Estes resultados indicam alto índice de parasitemia em *Gallus gallus*, uma vez que essas células são responsáveis por englobar e digerir protozoários, células e outros microrganismos. Esses resultados vão de acordo com o publicado por Macchi (2011), no qual houve em sua pesquisa um número maior de Heterófilos e Monócitos em aves com alta parasitemia de *P. gallinaceum*, porém entra em oposição em relação à média de linfócitos.

A positividade geral de hemoparasitos nas amostras examinadas foi alta. As infecções com parasitas do gênero *Leucocytozoon* foram os mais predominantes representando 82% das 11 amostras, seguido por Hemogregarina (18%), achado novo em aves para região e *Plasmodium* (18%) (Figura 3).

**Figura 3** - Percentual de hemoparasitos nas 11 amostras analisadas do presente estudo.



Fonte: Autores.

A Figura 3 apresenta um gráfico de coluna com percentual da presença de cada parasito encontrado em relação ao total de amostras. A presença desses parasitos é expressa nas alterações leucocitárias de *Gallus gallus*. Além disso, grande parte das aves apresentou a incidência de dois ou mais hemoparasitos. Essa coinfeção pode estar relacionando com o compartilhamento do ambiente com outros animais estando a mercê de dípteros hematófagos que fazem contaminação cruzada de um hospedeiro para outro. Essas infecções múltiplas de diferentes patógenos tornam-se cada vez mais graves quando comparadas as infecções causadas por um único patógeno (Liang et al., 2013; Silveira, 2013).

A presença de *Leucocytozoon* é um achado comum em aves. As espécies *L. caulleryi*, descrita no sudoeste Asiático, e *L. sabrezezi* são conhecidos por infectar galinhas. Os seus vetores conhecidos são mosquito-borrachudo (*Simulium*) e mosquito-pólvora (*Culicoides*), incidente em nossa região devido ao clima tropical com áreas úmidas (Taylor et al., 2017; Carvalho, 2016).

A identificação de *Leucocytozoon* nos esfregaços sanguíneos foi realizada a partir da literatura, podendo ser caracterizada duas formas de seu ciclo parasitológico, as formas arredondadas (Figura 4E) e as formas alongadas (Figura 4F), ambas em leucócitos. As formas arredondadas surgem no início da infecção e as formas fusiformes com extremidades alongadas, macrogametas que habitam leucócitos, surgem mais tarde sendo extremamente frágeis podendo sofrer ruptura durante os esfregaços sanguíneos (Taylor et al., 2017; Valkiunas, 2005). Esses gametócitos se diferem dos de *Plasmodium* por não conterem grânulos pigmentados e por distorcer consideravelmente a célula hospedeira (Bowman, 2010).

O percentual total de *Leucocytozoon spp.* nas 11 amostras (82%), foi superior ao encontrado por Filho (2014), em *Galliformes* (10,20%) em São José de Ribamar, Maranhão. Essas variações podem estar relacionadas com as condições climáticas, a região de Porto Velho, Rondônia apresenta maior período de chuva com isso há uma maior proliferação do vetor transmissor do parasita. Os sinais clínicos de leucocitozoonose variam de assintomático e sintomático, que incluem anemias severas podendo leva-las a prostração, perda de peso e morte (Campbell, 2015; Valkiunas, 2005).

O hemoparasito *Leucocytozoon* é responsável por infectar leucócitos de aves, que são as células de defesa com características morfológicas bem próximas as dos mamíferos, portanto, uma vez bem instalado em um ambiente adequado para sua multiplicação e reprodução, a adaptação para um novo hospedeiro é possível. A proximidade do ser humano com animais domésticos e silvestres aumenta a probabilidade de transmissão de doenças zoonóticas (Torres et al., 2016).

Em relação ao *Plasmodium sp.*, duas espécies têm sido associadas à malária aviária em *Gallus gallus* que são *P. juxtannucleare* e *P. gallinaceum*. Sendo que a espécie *P. juxtannucleare* infecta galinhas no Brasil e possui como vetor mosquitos do gênero *Culex*, enquanto a infecção por *P. gallinaceum* se encontra restrita a alguns países asiáticos, seu vetor são dípteros das tribos Culicini e Anophelini (Silveira, 2013; Garnham, 1966).

O ciclo biológico do *Plasmodium* é constituído por três fases: exoeritrocítica, eritrocítica e esporogônica (Vilela, 2015). Na fase eritrocítica o parasita pode ser identificado por meio de esfregaços sanguíneos, no qual, no presente estudo, as formas trofozoítos (Figura 4A) e esquizontes (Figura 4B) foram caracterizados no interior das hemácias. Neste estudo observa-se um declínio de *Plasmodium spp.*, 18% das amostras, quando comparado com os resultados de Santos-Prezoto et al. (2004), no qual verificaram a prevalência de *P. juxtannucleare* em *Gallus gallus* em 100% das análises na cidade de Minas Gerais e Oliveira et al. (2020), no qual relatam uma prevalência de 55,5% de *Plasmodium* em *Tachyphonus coronatus* na Mata Atlântica, Brasil. Esses resultados podem estar relacionados com a baixa incidência do vetor nos períodos coletado.

Os sinais clínicos associados à malária aviária incluem anemia, anorexia, redução na produção de ovos, atrofia da crista, diarreia com fezes esverdeadas, fraqueza, prostração e morte. No entanto, muitas espécies são assintomáticas e não desenvolvem a fase clínica da doença fazendo a manutenção do parasito (Campbell, 2015). O *Plasmodium* possui alta capacidade de infectar diferentes hospedeiros com transmissão interespecífica (Valkiunas, 2005), portanto é de suma importância seu estudo como modelo da malária humana, proporcionando conhecimento da relação parasito-hospedeiro e formas eritrocíticas.

A presença hemogregarinas em 18% das amostras é um achado na região de Porto Velho, Rondônia para *Gallus gallus*, uma vez que esse parasito comumente é encontrando parasitando quelônios, crocodilianos e serpentes (Correa, 2020; Alves-Júnior et al., 2010; Úngari, 2017). Em relação às formas encontradas, no presente estudo, foram similares as de As van et al. (2020), e Aragort et al. (2005). As hemogregarinas podem ser identificadas devido à presença de gametócitos intracitoplasmáticos em forma de salsicha nos eritrócitos (Figura 4D). Esses gametócitos distorcem a célula hospedeira criando uma protuberância no citoplasma (Campbell, 2015).

O gênero *Haemogregarina* é comumente observado em testudines aquáticos e são considerados não patogênicos tendo como hospedeiro definitivo as sanguessugas. Já o gênero *Hepatozoon* tem sido relatado em mamíferos, répteis e aves. Os hospedeiros definitivos incluem carrapatos, ácaros, mosquitos-pólvora, moscas-tsé-tsé, mosquitos, pulgas, piolhos, insetos e sanguessugas (Taylor et al., 2017). A transmissão ocorre por meio da ingestão de oocistos de *Hepatozoon*, pelo hospedeiro intermediário (Campbell, 2015). Em relação aos sintomas, em infecções severas causa anemia e lesões inflamatórias por esquizontes em uma variedade de órgãos (Alves-Júnior et al., 2010; Campbell, 2015).

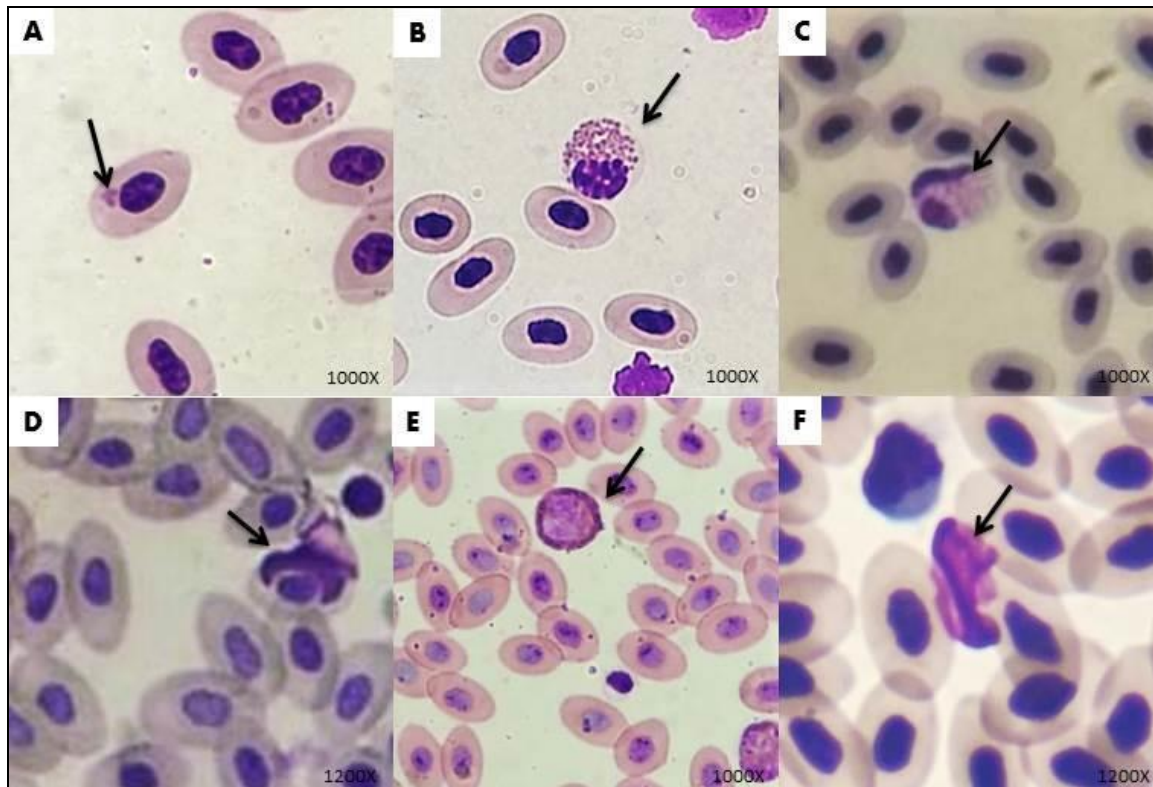
Picelli et al. (2020), analisaram amostras sanguíneas de 72 lagartos *Ameiva ameiva* das florestas de terra firme na Amazônia Central e encontrou o gênero *Hepatozoon* em 55,5% das amostras. Úngari (2017), analisou o sangue de répteis de vida livre e cativeiro provenientes dos estados de Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás. E das 222 amostras de répteis coletadas, 102 (45,94%) foram positivas para hemogregarinas, sendo 46,15% (36/78) testudines, 70,68% (41/58) crocodilianos e 29,06% (25/86) serpentes. Braz e Umeda (2015), durante a pesquisa de hemoparasitas observaram gametócito de *Hepatozoon spp.* em neutrófilo e monócito de *Leopardus pardalis* no Mato Grosso Do Sul. Lima et al. (2021), analisaram 15 amostras sanguíneas de duas espécies de lagartos do semiárido brasileiro e encontrou o gênero *Hepatozoon* em 6% das amostras. Estes resultados mostram que esse hemoparasito encontra-se consolidado no Brasil, porém há poucos relatos de ocorrência em aves sendo este estudo o primeiro a ser relatado para a cidade de Porto Velho, Rondônia. Ainda são necessários mais estudos a fim de verificar os sintomas que causam em *Gallus gallus* assim como sua frequência ao longo do tempo.

Na história da parasitologia várias doenças emergentes surgiram a partir da evolução de parasitos de outras classes de vertebrados em humanos. A proximidade com animais permite que esses microrganismos se desenvolvam, adaptem-se, sofram



mutações e sejam introduzidos em humanos, como exemplo o SARS-CoV-2 que inicialmente era parasito somente de morcegos. Outro exemplo é o *Plasmodium knowlesi*, parasito até então conhecido como causador de malária unicamente em macacos, mas em 2008 foi observado em casos complicados de infecção humana e passou a constituir a quinta espécie de *Plasmodium* capaz de infectar o homem (Daniel-Ribeiro et al., 2010). Sendo assim, a incidência de hemosporídeos em aves demonstra a importância desse vertebrado como bioindicador de doenças emergentes, uma vez que o parasito do gênero *Plasmodium* é endêmico na região.

**Figura 4** - Hemoparasitas de *Gallus gallus domesticus* encontradas no presente estudo.



Legenda: (A-D) parasitas de hemácias; (E-F) parasitas de leucócitos. (A) Trofozoíto de *Plasmodium* sp., seta; (B) Esquizonte de *Plasmodium* sp.; (C) Hemogregarina em reticulócito; (D) Hemogregarina parasitando hemácia; (E) estágio de desenvolvimento *Leucocytozoon*; (F) gametócitos de *Leucocytozoon*. Fonte: Autores.

#### 4. Conclusão

As amostras sanguíneas de *Gallus gallus domesticus* comercializadas em feiras livres na cidade de Porto Velho, Rondônia, apresentam altos índices de parasitemia por estarem infectadas por *Plasmodium*, *Leucocytozoon* e Hemogregarina. Esses microrganismos encontram-se bem descritos na literatura, porém Hemogregarina é um achado novo para aves em Rondônia.

A saúde de animais oriundas da avicultura doméstica apresentou elevado índice de infecção parasitária, representados pela resposta imune inata. As infecções múltiplas por vetores sugere que os pequenos criadouros precisam de capacitação de manejo, bem como a espécie abatida pode ser um potencial reservatório comprometendo a saúde de outros animais, como o homem.

#### Agradecimentos

Ao Programa Institucional de Bolsas em Iniciação Científica da Universidade Federal de Rondônia (PIBIC-UNIR).

## Referências

- Alves-Júnior, J. R. F., Silva, H. C., Lustosa, A. P. G., Linhares, G. F. C., Santana, A. E., Magajevski, F. S., & Giro, R. J. S. (2010). *Haemogregarina* sp. Em tartarugas-da-amazônia (*Podocnemis expansa*) de vida livre. In XVI Congresso brasileiro de parasitologia veterinária, Campo Grande, MS.
- Aragort, W., Alvarez, M. F., Leiro, J. L., & Sanmartín, M. L. (2005) Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). *Diseases of aquatic organisms*, 65 (1), 63–68. 10.3354/dao065063
- As van, M., Netherlands, E. C., & Smit, N. J. (2020). Molecular characterization and morphological description of two new species of *Hepatozoon* Miller, 1908 (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) infecting leukocytes of African leopards *Panthera pardus pardus* (L.). *Parasites Vectors*, 13 (222), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3933-6>
- Avibase. (2022). Avibase – The world Bird Database. <<https://avibase.bsc-eoc.org/avibase.jsp?lang=PT>>.
- Belo, N. (2007). Ocorrência de *Plasmodium* Spp. em aves silvestres a família Psittacidae mantidas em cativeiro no Brasil (Dissertação de Mestrado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, BH.
- Bowman, D. D. (2010). *Georgis Parasitologia Veterinária* (9a ed.). Tradução: Sudré, Adriana P. Elsevier.
- Braz, P. H., & Umeda, L. M. L. (2015). Primeiro relato de *Hepatozoon* spp. em jaguatir. *Acta Veterinaria Brasilica*, 9 (2), 176-179.
- Brum, W. M., Costa Pereira, M. A. V., Vita, G. F., Ferreira, I., Mello, E. R., Aurnheimer, R. C. M., Sanavria, A., & Padua, E. D. (2016). Parasitismo em aves silvestres residentes e migratórias da Ilha da Marambaia, Estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36 (11), 1101-1108. 10.1590/S0100-736X2016001100008
- Bush A. O., Lafferty K. D., Lotz J. M., & Shostak A.W., (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*. 83 (4), 575-583.
- Campbell, T. W. (2015). Hematologia das Aves. in Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W. & Campbell, T. W (Org.), *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária* (2ª ed., Cap. 19, p. 507-593). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Carvalho, L. P. C. (2016). Fauna de Culicídeos (Diptera: Ceratopogonidae) do Estado de Rondônia, Brasil (Dissertação de Mestrado). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM.
- Cidade-Brasil. (2021). Município de Porto Velho. <<https://www.cidade-brasil.com.br/municipio-porto-velho.html>>.
- Clark, P., Boardman, W., & Raidal, S. (2009). *Atlas of clinical avian hematology*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Correa, J. K. C. (2020). Caracterização morfológica e molecular de hemoparasitos (Protozoa: Apicomplexa) em quelônios de água doce (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Amapá, Macapá, AP.
- Daniel-Ribeiro, C. T., Brasil, P., & Lacerda, M. V. G. (2010). Malária no Brasil: novos desafios para uma velha doença. <<http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=1066&sid=32>>.
- Embrapa. (2020). Arvore do Conhecimento: frango de corte. <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/frango\\_de\\_corte/arvore/CONT000fy1j9mko02wx5ok0pvo4k3z9kscuy.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/frango_de_corte/arvore/CONT000fy1j9mko02wx5ok0pvo4k3z9kscuy.html)>.
- Fecchio, A., Marini, A. M., & Braga, M. E. (2007). Baixa de hemoparasitos em aves silvestres no Cerrado do Brasil Central. *Biologia Neotropical e Conservação*, 2 (3), 127-135.
- Fernandes, C. M., & Silva, M. (2001). Implantação do sistema alternativo de engorda de aves caipiras através de técnicas de agricultura familiar e associativismo. In: Encontro técnico científico de ciências exatas e da terra, Campo Grande: UFMS.
- Filho, J. B. da S. (2014). Ecobiologia de hemospórídeos em aves silvestres coabitando com aves domésticas em povoados adjacentes ao sítio migratório de panaquatira, município de São José de Ribamar – MA (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA.
- Filho, J. I. S., Miele, M., Martins, F. M., & Talamini, D. J. D. (2021). Mercado. <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/criacoes/frango-decorte/preproducao/socioeconomia/mercado#:~:text=Em%20volume%20de%20produ%C3%A7%C3%A3o%2C%20os,dados%20de%202011%20para%20estes>>.
- Garnham, P. C. C. (1966). *Malaria parasites and other haemosporidia*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Gil, A. C. (2010). *Como elaborar projetos de pesquisa* (5a ed.): Editora Atlas.
- Kasvi. (2022). Como é realizada a Contagem de Células? <<https://kasvi.com.br/como-e-realizada-contagem-de-celulas/>>.
- Laborclin. (2019). Panótico rápido. <<https://www.laborclin.com.br/panotico-rapido/>>.
- Liang, M., Zhao, Q., Liu, G., Yang, S., Zuo, X., Cui, G., Zhong, S., Sun, J., Liu, J., & Zhu, R. (2013). Pathogenicity of *Bordetella avium* under immunosuppression induced by *Reticuloendotheliosis virus* in specific-pathogen-free chickens. *Microbial Pathog.*, 54, 40-45. 10.1016/j.micpath.2012.09.003
- Lima, I. G. S., Felix-Nascimento, G., Picelli, A. M., & Ribeiro, L. B. (2021). Contagem diferencial e morfometria de células sanguíneas nos lagartos *Ameivula ocellifera* (Squamata: Teiidae) e *Tropidurus hispidus* (Squamata: Tropiduridae) do semiárido brasileiro, com análise dos efeitos por hemoparasitos. *Cuadernos de herpetologia*, 35 (1): 109-119. 10.31017/CdH.2021.(2020-066)
- Macchi, B. de M. (2011). Alterações hematológicas, bioquímicas e histopatológicas no modelo de malária aviária *Gallus gallus* por *Plasmodium gallinaceum*: papel do óxido nítrico (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Pará, Pará, Brasil.

- Natt, M. P., & Herrick, C. A. (1952). A New blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of chickens. *Poultry Science*, 31, 182-8.
- Oliveira, L., Dias, R. J. P., Rossi, M. F., D'Agosto, M., & Santos, H. (2020). A. Molecular diversity and coalescent species delimitation of avian haemosporidian parasites in an endemic bird species of South America. *Parasitology Research*, 119, 4033-4047. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06908-9>
- Picelli, A. M., Silva, M. R. L. da, Ramires, A. C., Silva, T. R. R. da, Pessoa, F. A. C., Viana, L. A., & Kaefer, I. L. (2020). Redescription of *Hepatozoon ameivae* (Carini and Rudolph, 1912) from the lizard *Ameiva ameiva* (Linnaeus, 1758). *Pesquisa de Parasitologia*, 119, 2659-2666. 10.1007/s00436-020-06760-x
- Santos-Prezoto, H. H., 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 (1-2), 14-20. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122004000100003>
- Silveira, P. (2013). *Plasmodium juxtannucleare* (Apicomplexa: Plasmodiidae) Versiani & Gomes 1941 e Vírus da Anemia Infecciosa das Galinhas (CAV) Yuasa 1979: modelo de estudo da interação parasito-hospedeiro (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2017). *Parasitologia veterinária* (4ª ed.). Tradução: Fagliari, J. J., & Rocha, T. G. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Tomás, A. F. V. (2014). Rastreamento parasitológico em aves selvagens de zonas periurbanas do Litoral e Interior de Portugal (Dissertação de Mestrado). Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Torres, A. C. D., Hass, D. J., & D'aparecida, S. N. (2016). Principais zoonoses bacterianas de aves domésticas e silvestres. *Veterinária em Foco*, 14 (1), 47-59.
- Úngari, L. P. (2017). Caracterização morfológica, morfométrica e molecular de hemogregarinas (Apicomplexa: Adeleina) presentes em répteis de vida livre e cativo (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.
- Valkiunas, G. (2005). *Avian malaria parasites and other Haemosporidia*. CRC Press.
- Vilela, T. S. (2015). Estudos experimentais de *Plasmodium juxtannucleare* Versiani e Gomes, 1941 em *Gallus gallus* utilizando as técnicas microscópicas e moleculares com ênfase na padronização de PCR em tempo real para o diagnóstico (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Rio de Janeiro, Brasil.
- Webster, A. L. (2006). *Estatística Aplicada à Administração e Economia*. McGraw-Hill.