

Parasitas gastrointestinais em produção de frango ao ar livre

Gastrointestinal parasites in free-range chicken production

João M. Pestana Lozano^{1*}, Lídia Gomes², Luís M. Madeira de Carvalho²

¹Instituto Superior de Agronomia - ULisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017, Lisboa;

²Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa (CIISA-FMV-UL), Avenida da Universidade Técnica, Lisboa

Resumo: A investigação em sanidade animal realizada a nível nacional em sistemas extensivos de produção de frango é essencial, atendendo à frequente longa exposição dos animais ao ambiente exterior e aos parasitas que o contaminam. Estudos parasitológicos são extremamente relevantes de forma a conhecer quais as espécies parasitárias mais prevalentes e ajudar os produtores a definirem melhores medidas profiláticas. Esta pesquisa procurou identificar os parasitas gastrointestinais associados a este tipo de produção aviária e ocorreu numa exploração agropecuária localizada na extremidade noroeste do distrito de Lisboa, onde foram avaliados Frangos do Campo através de amostragem fecal aos 75 e 85 dias de idade. O parasitismo gastrointestinal foi analisado através de métodos coprológicos qualitativos, quantitativos e coproculturas para obtenção de oocistos esporulados e larvas L3 de nematodes strongilídeos. Na 1^a amostragem, a prevalência de *Eimeria spp.* totalizou 40,0%, sendo *Eimeria mitis* (13,3%) e *E. maxima* (11,7%) as mais prevalentes, tendo-se identificado também ovos de *Capillaria sp.*, (1,7 % de prevalência). Nas coproculturas de oocistos, esporularam as seguintes espécies: *E. necatrix*, *E. mitis*, *E. praecox*, *E. maxima*, *E. acervulina* e *E. tenella*. Na 2^a amostragem, as coccídeas continuaram a ser o grupo mais prevalente, 90,0% de amostras positivas com oito espécies identificadas, sendo de novo *E. mitis* a espécie mais frequente (41,7%), seguida por *E. acervulina* (26,7%) e *E. tenella* (25%). Foram também observados ovos de *Heterakis sp.* (3,33%) e novamente de *Capillaria sp.* (10,0%) A carga parasitária fecal de oocistos na 1^a e 2^a amostragens foi de $370,8 \pm 2055,3$ OoPG e $599,2 \pm 1289,2$ OoPG, respetivamente, verificando-se um aumento superior a 60% do valor médio deste parâmetro parasitológico da 1^a para a 2^a colheita. O crescimento da erva, a idade e densidade animal, bem como o tempo de

exposição a parasitas com períodos pré-patentes curtos, constituíram fatores chave para o aumento da prevalência de oocistos de *Eimeria spp.* e ovos de helmintes entre as duas amostragens, em particular de espécies com reconhecida patogenicidade. Isto permite-nos concluir que no final da fase de engorda, as cargas parasitárias são as mais elevadas detetadas neste sistema de produção de Frango do Campo, podendo desencadear patologia associada e interferir com a sua performance produtiva.

Summary: Animal health research performed at national level in extensive chicken production is essential, due to the frequently long exposure of animals to the outdoor environment and the parasites contaminating it. Parasitological studies are extremely relevant in order to identify the most prevalent parasitic species and to help producers define the best prophylactic methods. This research aimed the identification of gastrointestinal parasites associated with this avian production and took place in an agricultural, livestock farm located in the northwest end of the Lisbon district, where faecal sampling of Free-Range Chickens at 75 and 85 days of age was performed for its assessment. Gastrointestinal parasitism was analysed by means of coprological methods, namely qualitative, quantitative and faecal cultures for oocyst sporulation and isolation of L3 larvae of strongyle nematodes. In the 1st sampling date, the prevalence of *Eimeria spp.* was 40,0%, being *Eimeria mitis* (13.3%) and *E. maxima* (11.7%) the most prevalent ones, as well as *Capillaria sp.* eggs with 1.7% prevalence. In faecal cultures for oocysts, the following species were isolated after sporulation: *E. necatrix*, *E. mitis*, *E. praecox*, *E. maxima*, *E. acervulina* and *E. tenella*. In the 2nd sampling date, coccidia continued to be the most prevalent group of parasites, 90,0%

positive samples with eight species isolated, being again *E. mitis* the most frequent (41,7%), followed by *E. acervulina* (26,7%) and *E. tenella* (25%). *Heterakis spp.* eggs were also identified (3,33%) and again *Capillaria sp.* (10,0%). The faecal oocysts shedding in the 1st and 2nd samplings were 370.8 ± 2055.3 OoPG and 599.2 ± 1289.2 OoPG, respectively, showing more than 60% increase of this parasitic parameter between the first and second collection dates. Pasture growth, age and animal density, as well as, the time exposure to parasites with short pre-patent periods, were key factors that contributed to the increasing *Eimeria spp.* oocysts and helminth prevalence between the two samplings, particularly by well know pathogenic species. This allows us to conclude that at the end of the fattening phase, the parasitic burdens reported in Free-Range Chicken breeding system are the highest, may trigger associated pathology and interfere with their productive performance.

*Correspondência: joao.lozano@sapo.pt

Introduction

As razões pelas quais a carne de aves e, neste caso específico a carne de frango, é eleita pelo consumidor são várias: a sua fácil confeção, as diversas faixas etárias que podem alimentar-se de carne de aves, os baixos custos associados à sua produção comparativamente com outros segmentos da Produção Animal, a ausência de limitações de carácter religioso e o elevado valor nutritivo desta carne (Lordelo, 2016).

Episódios como a gripe aviária e a crise dos nitrofuranos constituíram dois dos principais motivos que levaram o consumidor a mudar drasticamente a forma como encara a sua alimentação diária e as questões de qualidade e segurança alimentar (Baptista, 2010).

Assim, houve a necessidade de implementar um sistema alternativo à produção de aves em regime intensivo, o qual transmitisse por sua vez maior confiança ao consumidor e a ideologia associada a um produto final mais saudável e natural: o Frango do Campo (Filho et al., 2003).

A Produção de Frango do Campo define-se com sendo uma atividade económica inserida na Produção Animal, na qual os frangos possuem acesso a espaços exteriores durante pelo menos 50 % do seu tempo de vida. Este abrange cerca de 12 semanas, contrastando com as 5 semanas com que um frango produzido em regime intensivo/industrial é abatido (Lozano & Mourato, 2016).

Desta forma, as questões sanitárias deverão ser mais tomadas em conta, uma vez que ao contactarem em grande parte do seu ciclo produtivo com espaços exteriores, os animais ficam expostos a um grande número parasitas, quer de forma direta (pela ingestão das formas parasitárias no ambiente), quer indireta (pela ingestão de hospedeiros intermediários de potenciais agentes parasitários), contrastando neste aspeto com a produção em sistema intensivo (Baptista, 2010).

O presente trabalho pretendeu estudar o parasitismo gastrointestinal de Frangos do Campo com base em duas amostragens de elementos fecais de animais não-desparasitados e na fase de engorda, numa exploração agropecuária localizada no distrito de Lisboa, alicerçado na utilização de técnicas coprológicas, como forma de avaliar a sua expressão na idade peri-abate.

Material e Métodos

O trabalho de campo foi efetuado numa exploração agropecuária situada no distrito de Lisboa, consistindo em duas amostragens no respetivo parque de engorda, incluindo 60 amostras fecais (40 do exterior do parque e 20 do interior dos alojamentos) a 8 e 17 de Maio de 2017, provenientes de frangos perto da idade de abate, com 75 dias e 85 dias de idade, respetivamente.

A alimentação ingerida pelos animais era à base de milho, cevada e bagaço de soja (regime isento de antimicrobianos), bem como de uma pastagem espontânea. Os cerca de 200 frangos encontravam-se no parque (≈ 1200 m²) desde as 6/7 semanas até à idade de abate (3 meses), sendo que durante o dia frequentavam o exterior e à noite recolhiam para dois alojamentos, cada um com 10 m².

A identificação parasitológica foi realizada através da pesquisa de elementos parasitários nas fezes. As técnicas coprológicas quantitativas e qualitativas realizadas foram as seguintes: método de McMaster para contagem de oocistos e ovos por grama de fezes, flutuação de Willis e Sedimentação Natural para identificação de ovos e oocistos e cálculo da prevalência de género/espécie e coproculturas para obtenção de oocistos esporulados de *Eimeria spp.* e larvas L3 de Estrongilídeos Gastrointestinais.

As técnicas de McMaster, Flutuação e Sedimentação Natural basearam-se no referido por Thienpont et al. (1986) e Fazendeiro (1989), sendo executadas de forma consecutiva.

Para o método de McMaster, a metodologia específica foi adotada a partir de Anastácio (2011) para classificar as cargas parasitárias de oocistos de *Eimeria spp.* expressas em Oocistos

por Grama de fezes (OoPG), adaptando-a a este caso concreto e criando três classes de eliminação: “0-100 OoPG” (eliminação fraca), “100-500 OoPG” (média) e “>500 OoPG” (forte). Este método também permitiu a contagem do número de Ovos por Grama de fezes (OPG) e, de acordo com Thienpont et al (1986), com um limiar de detecção de 50 OPG.

O procedimento adotado para cada elemento fecal consistiu numa primeira homogeneização com solução saturada de açúcar com uma densidade de 1,2, seguida de uma filtração da mistura e sua transferência para uma câmara de McMaster e visualização ao microscópio na objetiva de 10x. Posteriormente, verteu-se a mistura remanescente para um tubo de ensaio, até se observar a formação de um menisco convexo no topo, cobrindo-se de seguida com uma lamela. Depois de retirar a lamela após a flutuação, o sobrenadante remanescente foi eliminado e observou-se o sedimento após coloração com azul de metileno, cerca de 10-20 minutos depois. Tanto as lâminas de flutuação, como as de sedimentação, foram observadas com as objetivas de 10x e 40x.

Para a coprocultura de oocistos de *Eimeria* spp., os autores basearam-se no procedimento realizado por Baptista (2010) e Anastácio (2011), utilizando papel de filtro em placa de Petri, impregnado com dicromato de potássio a 2% (agente microbicida), sobre o qual foram depositadas 5-10g de fezes. O conjunto foi colocado na estufa a 26-27 °C e a sua observação foi efetuada regularmente durante uma semana.

Realizaram-se também coproculturas para obtenção de larvas infetantes L3 de *Strongylidae*, a partir dos ovos presentes nas amostras, em cada uma das datas de amostragem. O procedimento baseou-se no referido por Madeira de Carvalho (2001) e Anastácio (2011), consistindo numa incubação em copo descartável de plástico de 10g de fezes em estufa a 26-27 °C durante 7 dias. Esta cultura incluiu no total 6 copos (4 do exterior do parque e 2 do interior dos alojamentos) por cada data de colheita, secundada pela inversão dos copos após os 7 dias de permanência na estufa, seguindo-se o preenchimento do espaço compreendido entre o bordo dos mesmos e a parede das placas de Petri com água. Decorridas 24 horas, a solução de cada um destes espaços foi transferida para 6 tubos de ensaio e após agitação dos mesmos e transferência para lâminas, efetuou-se a sua observação ao microscópio ótico com as objetivas de 10x e 40x para pesquisa de larvas infectantes de terceiro estágio (L3).

A compilação dos dados obtidos e o cálculo de valores médios e desvio padrão foram

efetuadas com recurso ao *software* gratuito “R” da *R Foundation for Statistical Computing* (<https://www.r-project.org>) e o *software* Microsoft Excel® 2010 da Microsoft Corporation foi utilizado para armazenamento de dados e construção de gráficos e tabelas.

Dado que a exploração na qual foram efectuadas as amostragens se localiza no distrito de Lisboa, foi efectuada uma caracterização climática da região com base em dados extraídos do Portal do Clima (<http://portaldoclima.pt/pt/>).

Os dados meteorológicos afectos a cada dia do mês de Maio de 2017, tendo em conoto período de amostragens e a região onde se localiza a exploração agropecuária, foram extraídos do website da *AccuWeather Inc.* (<https://www.accuweather.com>).

Resultados

Segundo dados obtidos a partir da Estação Meteorológica de Lisboa para o período entre 1971-2016, a precipitação média mensal observada para o mês de Maio totalizou 55,64 mm, com mínimo de 0,3 mm e máximo de 156 mm. Já a temperatura média mensal observada igualmente para o mês de Maio foi de 17,38 °C, com mínimo de 14,85 °C e máximo de 19,6 °C.

Entre as duas amostragens (8 e 18 de Maio de 2017) verificaram-se os maiores índices de precipitação, sendo que o máximo foi atingido no dia 11 de Maio. Ao nível das temperaturas máximas e mínimas, constatou-se um carácter ameno das mesmas, sendo que o 2º maior valor de temperatura máxima para o mês de Maio foi atingido no dia 16 (31°C) (Gráficos 1 e 2).

Na 1ª amostragem foram identificadas cinco espécies diferentes de coccídeas do género *Eimeria*, sendo as mais prevalentes *Eimeria mitis* (13,3 %) e *E. maxima* (11,7%), tanto na totalidade da amostra, como também no exterior do parque de engorda. Já no interior dos alojamentos, somente foram identificadas estas duas espécies. A Tabela 1 ilustra os resultados obtidos para este parâmetro na 1ª amostragem.

Os resultados obtidos para o parâmetro “Prevalência de coccídeas na 1ª amostra” foram subdivididos nos dois domínios amostrados, sendo que para o exterior do parque e interior dos alojamentos, as prevalências foram respetivamente 50,0% e 20,0%, com o total da 1ª amostra a atingir uma prevalência de coccídeas igual a 40,0 %.

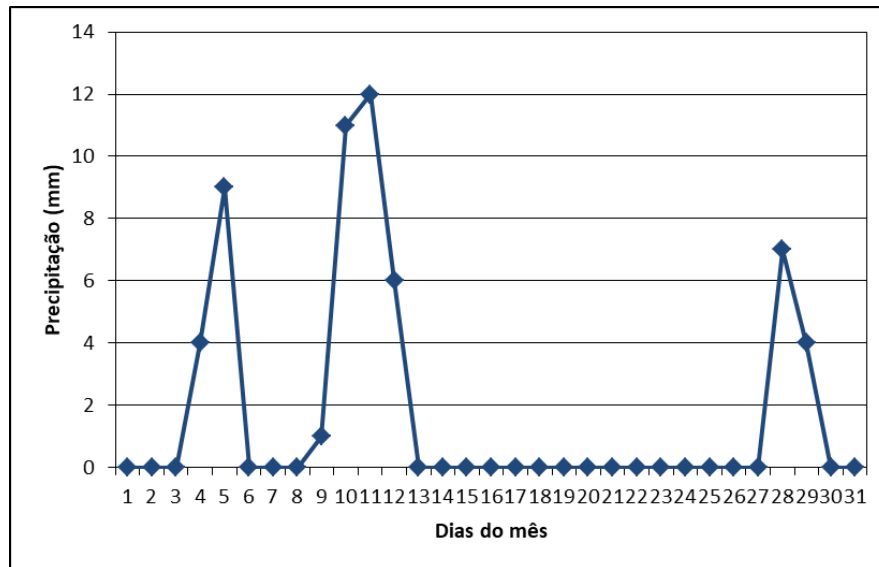


Gráfico 1 – Precipitação (mm) verificada no mês de Maio de 2017.

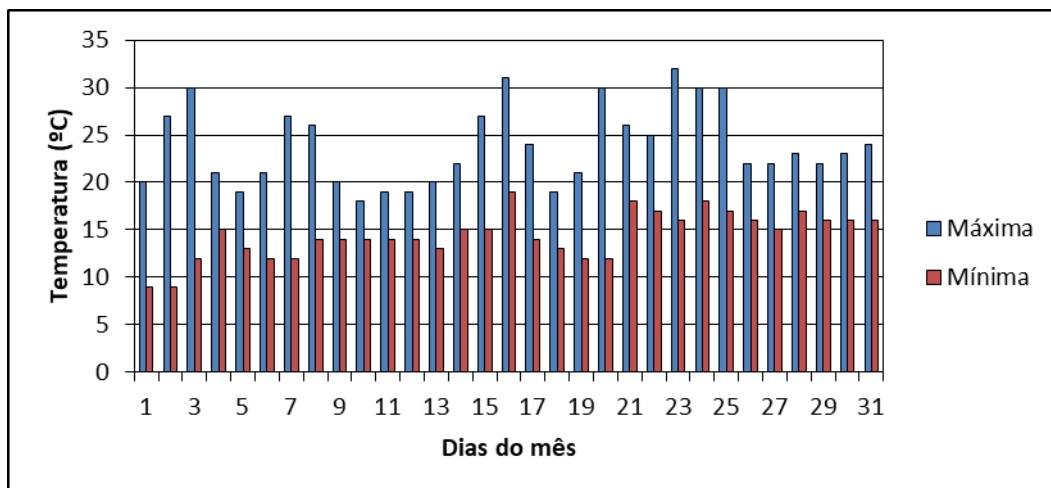


Gráfico 2 – Temperaturas Máximas e Mínimas (°C) verificadas no mês de Maio de 2017

Tabela 1 – Prevalência de casos positivos para coccídeos, incluindo a sua prevalência total e por domínio, na 1ª amostragem (N=60).

Espécie	Casos Positivos	Prevalência Total (N=60)	Casos Positivos Exterior	Prevalência Exterior (N=40)	Casos Positivos Interior	Prevalência Interior (N=20)
<i>E. mitis</i>	8	13,3%	6	15,0%	2	10,0%
<i>E. maxima</i>	7	11,7%	5	12,5%	2	10,0%
<i>E. necatrix</i>	4	6,7%	4	10,0%	0	0,0%
<i>E. tenella</i>	4	6,7%	4	10,0%	0	0,0%
<i>E. brunetti</i>	3	5,0%	3	7,5%	0	0,0%
Coccídeos*	24	40,0%	20	50,0%	4	20,0%

Na 2ª amostragem, constatou-se uma alteração no panorama de agentes parasitários identificados, sendo que apesar de *E. mitis* continuar a ser a coccídea mais prevalente (41,7%), outras espécies surgiram e com prevalências consideráveis, nomeadamente *E. acervulina* (26,7%) e *E. tenella* (25,0%). Realça-se também que enquanto na 1ª amostragem foram assinaladas cinco espécies, na 2ª foram identificadas oito. Os resultados obtidos para este parâmetro na 2ª amostra encontram-se na Tabela 2.

Capillaria sp. e ovos de ácaros, bem como ovos de *Heterakis sp.*, género helmíntico que não foi identificado na 1ª colheita.

As prevalências de helmintes na 2ª amostragem foram superiores às que se verificaram na 1ª, levando a que globalmente a prevalência de *Capillaria sp.* atingisse aproximadamente 6 % e a dos ovos de *Heterakis spp.* cerca de 2 % (Tabela 4).

Tabela 2 – Prevalência de casos positivos encontrados para cada espécie de *Eimeria* no total e por domínio, na 2ª amostragem (N=60).

Espécie	Casos Positivos	Prevalência Total (N=60)	Casos Positivos Exterior	Prevalência Exterior (N=40)	Casos Positivos Interior	Prevalência Interior (N=20)
<i>E. mitis</i>	25	41,7%	20	50%	5	25,0%
<i>E. acervulina</i>	16	26,7%	16	40%	0	0,0%
<i>E. tenella</i>	15	25,0%	14	35,0%	1	5,0%
<i>E. praecox</i>	9	15,0%	9	22,5%	0	0,0%
<i>E. necatrix</i>	4	6,7%	2	5,0%	2	10,0%
<i>E. maxima</i>	2	3,3%	1	2,5%	1	5,0%
<i>E. mivati</i>	2	3,3%	1	2,5%	1	5,0%
<i>E. brunetti</i>	1	1,7%	1	2,5%	0	0,0%
Coccídeas*	54	90,0%	38	95,0%	16	80,0%

Na totalidade da 2ª amostragem, a prevalência de coccídeas foi de 90%, com o exterior a totalizar 95,0% de casos positivos e o interior dos alojamentos 80,0%.

A nível global (Tabela 3), *E. mitis*, *E. tenella* e *E. acervulina* foram as espécies mais prevalentes (27,5%, 15,8% e 13,3%, respetivamente) e a frequência de coccídeas atingiu no total 65,0% (72,5% no exterior e 50,0% no interior dos alojamentos).

Apesar de na 1ª amostragem e comparativamente com as prevalências obtidas para as diferentes espécies de coccídeas, os valores obtidos para os ovos de helmintes e pseudoparasitas serem quase desprezíveis, merece especial atenção o facto de apenas terem sido encontrados casos positivos no exterior do parque, resultando em prevalências iguais a 1,7 %, tanto para *Capillaria sp.*, como também para os ovos de ácaros.

Já na 2ª amostragem (Tabela 4), foram identificados também casos positivos de

Em termos de carga parasitária fecal (OoPG e OPG), na 1ª amostragem não foram encontrados ovos de helmintes na câmara de McMaster. Já na 2ª amostragem, apenas se encontrou um caso positivo de *Capillaria sp.* na câmara de McMaster e o helminte *Heterakis sp.* foi detectado na Coprocultura para obtenção de oocistos esporulados. As cargas parasitárias fecais calculadas para estes dois nematodes gastrointestinais foram 400 OPG e <50 OPG, respetivamente.

Para além da distribuição dos valores de OoPG pelas três classes estipuladas, encontram-se presentes os valores médios e desvio padrão obtidos para a 1ª e 2ª amostragem, bem como para a amostra total (Tabelas 5 e 6).

Verifica-se pela observação destas tabelas um aumento do número de casos positivos para classes de OoPGs mais elevadas e dos OoPGs médios, da 1ª para a 2ª colheita.

Tabela 3 – Prevalência de casos positivos encontrados para cada espécie de *Eimeria* no total e por domínio, na amostragem total (N=120).

Espécie	Casos Positivos	Prevalência Total (N=120)	Casos Positivos Exterior	Prevalência Exterior (N=80)	Casos Positivos Interior	Prevalência Interior (N=40)
<i>E. mitis</i>	33	27,5%	26	32,5%	7	17,5%
<i>E. tenella</i>	19	15,8%	18	22,5%	1	2,5%
<i>E. acervulina</i>	16	13,3%	16	20,0%	0	0,0%
<i>E. necatrix</i>	10	8,3%	6	7,5%	4	10,0%
<i>E. maxima</i>	9	7,5%	6	7,5%	3	7,5%
<i>E. praecox</i>	9	7,5%	9	11,3%	0	0,0%
<i>E. brunetti</i>	4	3,3%	4	5,0%	0	0,0%
<i>E. mivati</i>	2	1,7%	1	1,3%	1	2,5%
Coccídeas*	78	65,0%	58	72,5%	20	50,0%

* Casos positivos de Coccídeas no Total, Exterior e Interior dos alojamentos, independentemente da espécie.

Tabela 4 – Prevalências de ovos de helmintes e pseudoparasitas identificados, no total e por domínio, na 2ª amostragem.

Espécie	2ª Amostragem					
	(+)	Prevalência Total (N=60)	(+) Exterior	Prevalência Exterior (N=40)	(+) Interior	Prevalência Interior (N=20)
Ácaros	9	15,0%	8	20,0%	1	5,0%
<i>Capillaria sp.</i>	6	10,0%	2	5,0%	4	20,0%
<i>Heterakis sp.</i>	2	3,33 %	0	0,0 %	2	10,0%
Espécie	Amostra Total					
	(+)	Prevalência Total (N=120)	(+) Exterior	Prevalência Exterior (N=80)	(+) Interior	Prevalência Interior (N=40)
Ácaros	10	8,3%	9	11,3%	1	2,5%
<i>Capillaria sp.</i>	7	5,8%	3	3,8%	4	10,0%
<i>Heterakis sp.</i>	2	1,7%	0	0,0%	2	5,0%

* (+) - Casos Positivos

A tabela 7 revela a evolução das espécies de coccídeas que esporularam ao longo dos sete dias de coprocultura, nas duas amostras. A 1ª amostragem revelou que as espécies de *Eimeria spp.* presentes esporularam a partir de 1,5 dias de Coprocultura, embora a maioria tenha esporulado só ao fim de 7 dias. Em contrapartida, na 2ª colheita, todas as espécies assinaladas do género *Eimeria* apresentaram esporulação ao fim do 1º dia de cultura.

Relativamente às coproculturas para nematodes, não foram encontradas larvas L3 de strongilídeos gastrointestinais (EGI) nas duas amostras. Somente se visualizaram larvas e adultos de nematodes de vida livre.

Discussão

O presente trabalho de cariz parasitológico mostrou que os animais podem apresentar neste sistema de produção avícola um parasitismo gastrointestinal maioritariamente composto por coccídeas do género *Eimeria* e nematodes como os dos géneros *Capillaria* e *Heterakis*, em particular no término da sua vida produtiva.

Na 1ª amostragem foram identificadas cinco espécies de coccídeas (*Eimeria tenella*, *E. brunetti*, *E. mitis*, *E. maxima* e *E. necatrix*), sendo que a totalidade de casos positivos identificados nesta amostra foi de 40 %. No entanto, averiguou-se uma divergência considerável a nível da prevalência de oocistos no exterior do parque (50,0% e interior dos alojamentos (20,0%). A espécie de coccídea mais prevalente na 1ª amostra foi *E. mitis* (13,3 %) seguida por *E. maxima* (11,7 %).

Tabela 5 – Frequências Absolutas e Relativas de Oocistos por Grama de Fezes na 1ª e 2ª amostragem no total, exterior do parque e interior dos alojamentos.

Frequências		Classes de OoPG		
		0-100	100-500	> 500
Frequência Absoluta Total	1ª	48	8	4
	2ª	29	20	11
	T	77	28	15
Frequência Relativa Total	1ª	80,0 %	13,3 %	6,7 %
	2ª	48,3 %	33,3 %	18,33 %
	T	64,2 %	23,3 %	12,5 %
Frequência Absoluta Exterior	1ª	28	8	4
	2ª	15	14	11
	T	43	22	15
Frequência Relativa Exterior	1ª	46,7 %	13,3 %	6,7 %
	2ª	25,0 %	23,3 %	18,33 %
	T	35,8 %	18,3 %	12,5 %
Frequência Absoluta Interior	1ª	20	0	0
	2ª	14	6	0
	T	34	6	0
Frequência Relativa Interior	1ª	33,3 %	0,0 %	0,0 %
	2ª	23,3 %	10,0 %	0,0 %
	T	28,3 %	5,0 %	0,0 %

* 1ª – 1ª Amostragem; 2ª – 2ª Amostragem; T – Total.

Tabela 6 – Valor Médio e Desvio Padrão de OoPG no total, exterior do parque e interior dos alojamentos, na 1ª e 2ª amostragem, bem como na amostra total.

Domínio	1ª Amostragem	2ª Amostragem	Total
Geral	370,83 ± 2055,29	599,167 ± 1289,215	489,06 ± 1718,80
Exterior	556,25 ± 2506,867	855 ± 1519,27	705,63 ± 2065,07
Interior	0	87,5 ± 99,835	46,05 ± 84,13

Tabela 7 – Evolução das espécies que esporularam ao longo dos 7 dias de ensaio, utilizando elementos fecais da 1ª e 2ª amostragem.

Espécie	Dias após o início do ensaio – 1ª Amostragem						Dias após o início do ensaio – 2ª Amostragem					
	1	1,5	2	5	6	7	1	1,5	2	5	6	7
<i>E. tenella</i>	-	-	-	X	-	X	X	X	-	-	X	-
<i>E. brunetti</i>	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-
<i>E. acervulina</i>	-	-	-	-	-	X	X	-	X	-	-	-
<i>E. mitis</i>	-	-	-	-	-	X	X	X	X	-	-	-
<i>E. maxima</i>	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. necatrix</i>	-	-	-	-	-	X	X	X	-	-	-	-
<i>E. praecox</i>	-	-	-	-	-	X	X	X	-	-	-	X
<i>E. mivati</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Especial destaque para *E. necatrix* que, tal como *E. tenella*, é extremamente patogénica e responsável por causar hemorragias intestinais e, por conseguinte, uma prevalência de 6,7 % não deverá ser subvalorizada (Moyle et al., 2014).

Conway & McKenzie (2007) constataram que determinadas espécies de *Eimeria* apenas eram identificadas em animais mais adultos, tais como *E. necatrix* e *E. brunetti*. Por conseguinte, uma vez que os frangos já se encontram em fase de engorda e com cerca de 75 dias de idade, os resultados obtidos encontram-se em conformidade com os obtidos por estes autores.

Verificou-se também que a prevalência no exterior superou a do interior dos alojamentos, sendo que nestes últimos apenas se identificaram *E. mitis* e *E. maxima*.

Poucos foram os ovos de helmintos, tais como *Capillaria sp.* e *Heterakis sp.*, e de ácaros, identificados nestas amostras, sendo que a prevalência de ambos totalizou 1,7 %. Apesar de apenas ter sido encontrado um caso positivo de *Capillaria sp.* na 1ª amostragem, constata-se que o mesmo apareceu no exterior do parque. O facto de os animais passarem a maior parte do tempo no exterior, e portanto, contactando com anelídeos, hospedeiros intermediários de *Capillaria sp.*, apoia o resultado obtido para este helminte na 1ª amostragem. Radfar et al. (2012) concluíram no seu trabalho em frangos produzidos ao ar livre Irão, que elevadas prevalências de determinados parasitas em Frangos do Campo, tais como céstodes do género *Raillietina*, poderão ter como principal causa a elevada dispersão dos seus hospedeiros intermediários, mais acessíveis para a sua respetiva ingestão pelas aves.

Ashenafi & Eshetu (2004) identificaram uma prevalência de ovos de *Capillaria spp.* igual a 1,58 %, no seu trabalho efetuado com frangos de diversas idades e também produzidos ao ar livre, em explorações na Etiópia, constatando-se que este valor não diferiu muito do obtido neste trabalho para a 1ª amostragem.

Em termos de carga parasitária fecal, verificou-se que 80% dos valores da 1ª amostra se inseriam na classe “0-100 OoPG”. No entanto, é necessário realçar que dos 48 elementos pertencentes a esta classe, 42 eram nulos. Os restantes 20 % correspondiam a elementos fecais com mais de 100 OoPG. Destaca-se os quase 7% com mais de 500 OoPG, com um elemento a apresentar 15900 OoPG.

Ainda analisando este parâmetro, verifica-se que os maiores valores foram identificados no exterior do parque, comparativamente com o que se verificou nos alojamentos. Assim como Baptista (2010) referiu no seu trabalho com

Frangos do Campo, ou seja, que os animais contactam com espaços exteriores em grande parte do ciclo produtivo e por conseguinte com maior exposição a um grande número parasitas, no presente trabalho verificou-se também que foi precisamente no exterior do parque que se obtiveram os maiores valores de OoPG. De realçar que as formas parasitárias do género *Eimeria* possuem um ciclo de vida monóxeno ou direto, não necessitando de um hospedeiro intermediário para completarem o seu ciclo de vida, perpetuando-se rapidamente pelo bando.

O valor de OoPG médio total da 1ª amostra foi de $370,83 \pm 2055,29$ OoPG, sendo que apenas o exterior ($556,25 \pm 2506,867$ OoPG) foi alvo de avaliação neste parâmetro, devido ao facto de a técnica de McMaster ter dado resultados negativos no interior dos alojamentos.

O elevado desvio padrão obtido tanto para o total como também para o exterior, poderá ter sido influenciado pela elevada frequência de elementos fecais com valor nulo de OoPG.

Ao nível da coprocultura para oocistos, verificou-se que apenas nas 36 horas após o início do ensaio é que começaram a surgir casos positivos de coccídeos esporulados (*E. maxima*). De notar que se confirma o valor mínimo de 30 horas para a esporulação desta espécie referido por Kaufmann (1996). Segundo o referido autor, o período mínimo de esporulação das restantes espécies isoladas na 1ª amostra varia entre 12 e 18 horas. No entanto, *E. maxima*, com um período mínimo de esporulação superior às restantes coccídeos isoladas, esporulou primeiro.

Na 2ª amostragem, o panorama parasitário sofreu grandes modificações, registando-se diferenças tanto ao nível dos parasitas identificados como também das suas prevalências. A espécie *E. mitis* continuou a ser a mais prevalente (41,7%), sendo que a sua frequência sofreu um aumento de mais de 200 % relativamente à 1ª amostragem. Já a espécie *E. maxima* passou a ser uma das menos prevalentes (3,3%).

Destaque para outras espécies que apenas foram identificadas na 2ª amostra, sendo as prevalências de duas delas extremamente interessantes e de relevar, nomeadamente *E. acervulina* (26,7%) e *E. praecox* (15,0%). Este facto corrobora os resultados obtidos por Baptista (2010), na medida em que também na sua investigação determinadas espécies parasitárias apenas surgiram em animais com uma idade mais avançada.

Ao nível da prevalência total de coccídeos, este parâmetro atingiu 90 % na 2ª amostragem. Kaboudi et al. (2016) identificaram no seu trabalho com frangos do campo uma maior

prevalência de coccídeas em frangos mais jovens (idade < 10 semanas), comparativamente com o que se verificou em frangos mais adultos (idade > 10 semanas). A sua principal explicação assentou na aquisição de imunidade para coccídeas ao longo do ciclo produtivo. No entanto, o presente trabalho foi efetuado em frangos na mesma faixa etária (\approx 3 meses), sendo que as duas amostragens foram realizadas com um espaçamento de 10 dias. Neste caso, o aumento da prevalência de coccídeas para 90% poderá ser explicado sobretudo pelas condições climáticas que se verificaram entre as duas amostragens (temperaturas amenas e elevados índices de precipitação), bem como pelo tempo de exposição dos animais às coccídeas.

Também se constatou que a prevalência de coccídeas continuou a ser superior no exterior do parque, apesar de se registar um aumento percentual de coccídeas no interior dos alojamentos, nomeadamente *E. mitis* e *E. necatrix*, da 1ª para a 2ª amostragem.

Analisando os ovos de helmintes e ácaros identificados na 2ª amostragem, também se constata grandes diferenças em relação ao verificado na 1ª colheita.

Foi identificada uma prevalência de ovos de *Capillaria sp.* e ácaros igual a 10,0% e 15,0 %, respetivamente. No entanto, detetaram-se ovos de *Heterakis sp.* com uma prevalência reduzida, mas não negligenciável, de 3,33 % (dois casos positivos no interior dos alojamentos), helminte não identificado em animais 10 dias mais jovens.

Em termos de carga parasitária fecal, 18% dos elementos inseriram-se na classe “>500 OoPG”, revelando uma vez mais que o tempo de exposição, a densidade de elementos parasitários no parque de engorda e a idade dos animais, poderão ser fatores explicativos da maior prevalência e carga parasitária dos parasitas identificados.

Na 2ª amostragem, a média de OoPG calculada tanto para o total como para o exterior do parque foram superiores às que se verificaram na 1ª colheita ($599,167 \pm 1289,215$ OoPG e $855 \pm 1519,27$ OoPG, respetivamente) e, contrariamente ao obtido nesta, o valor médio de OoPG no interior dos alojamentos não foi nulo, atingindo $87,5 \pm 99,835$ OoPG.

Esta diferença poderá ser explicada não só devido à maior densidade parasitária no parque e idade dos animais, como também fruto da elevada precipitação ocorrida entre as duas amostragens, a qual levou a que os frangos estivessem alojados mais tempo. Tal como mostra o Gráfico 1, verificaram-se nos dias 10 e 11 do mês de Maio, os maiores índices de precipitação.

Para além destes dois fatores, o decorrer do tempo de permanência dos hospedeiros infetados no mesmo ecossistema e uma densidade animal elevada, terão contribuído para a contaminação ambiental e, por conseguinte, para uma maior infeção dos hospedeiros suscetíveis. Segundo Baba et al. (1982) e Singla et al. (2007), a densidade animal constitui um fator chave para o aumento do número de casos de coccidiose num bando.

O crescimento da pastagem também poderá ter contribuído para este aumento na prevalência de coccídeas e helmintes, sendo que na 2ª amostragem a altura do coberto vegetal era superior, fruto não só da precipitação ocorrida entre as duas amostragens, como também das temperaturas amenas registadas. Ao alimentarem-se da pastagem, os animais provavelmente acabaram por ingerir oocistos de coccídeas e hospedeiros intermediários de helmintes, tornando-se assim mais uma fonte de infeção parasitária no exterior. Num estudo efetuado por Percy et al. (2012) em Frangos do Campo no Zimbabué, os autores concluíram que os parasitas e respetivas prevalências associadas variavam consoante a estação do ano, sendo que no Verão, fruto do aumento no número de hospedeiros intermediários e sua ingestão por parte dos animais, as prevalências de determinadas formas parasitárias foram superiores.

O período pré-patente dos parasitas (período que decorre desde a infeção dos hospedeiros até estes começarem a emitir os seus ovos nas fezes) é variável. O de *Heterakis sp.* ronda os 24-30 dias e o de *Capillaria sp.* totaliza 3 semanas (Permin et al., 1998). Este facto poderá explicar também o incremento verificado na prevalência de helmintes em animais com cerca de 3 meses de idade.

Na coprocultura de oocistos da 2ª colheita, verificou-se a esporulação de *E. tenella*, *E. brunetti*, *E. acervulina*, *E. mitis*, *E. necatrix* e *E. praecox*, sendo que não foi identificado qualquer oocisto esporulado de *E. maxima*, bem como foram necessárias apenas 24 horas de incubação para que todas as espécies referidas esporulassem.

Possivelmente a precipitação conjugada com temperaturas amenas poderão ter estimulado o desenvolvimento precoce dos oocistos, bastando apenas 24 horas para induzir a esporulação. Segundo Fanatico (2006), condições meteorológicas medianas, em termos de temperatura e humidade relativa, poderão favorecer a esporulação dos oocistos no terreno, pelo que no decorrer da coprocultura de oocistos na 2ª amostragem, era expectável que fosse preciso menos tempo de ensaio para se isolarem as primeiras espécies esporuladas.

Em ambas as amostragens não foram encontradas larvas L3 de estrongilídeos, sendo que somente se identificaram larvas e adultos de nematodes de vida livre. No seu trabalho com Frango Campestre, Baptista (2010) também não encontrou quaisquer formas larvares L3 no grupo de frangos com idade compreendida entre 76 e 91 dias (idade de abate).

Globalmente, a espécie mais prevalente foi *E. mitis* (27,5%), seguida por *E. tenella* (15,8%) e *E. acervulina* (13,3%). Estes resultados corroboram os obtidos por Baptista (2010), o qual no seu trabalho também realizado com Frangos do Campo, concluiu que *E. mitis* era a espécie mais prevalente.

A prevalência total de coccídeos no exterior e interior dos alojamentos foi de 72,5% e 50,0%, respetivamente, sendo que estes resultados estão em conformidade com o facto de os frangos contactarem com o exterior em mais de metade do seu tempo de vida, alimentarem-se de uma pastagem que entre as duas amostragens cresceu de forma considerável, devido à precipitação e a temperaturas amenas. Além disso, a não desparasitação dos frangos e um regime alimentar desprovido de antimicrobianos, também proporcionaram os resultados parasitológicos obtidos.

Por último, a prevalência global de *Capillaria sp.* e *Heterakis sp.* foi de 5,8% e 1,7%, respetivamente, resultados estes que foram fortemente influenciados pelos fatores já mencionados previamente à 2ª colheita, os quais culminaram num aumento do número de hospedeiros intermediários e consequentemente na infeção dos frangos. Como já foi referido anteriormente, estes resultados corroboram a constatação que Percy et al. (2012) efetuaram, na medida em que as condições climáticas constituem um fator chave na dispersão das espécies parasitárias no bando.

O sistema de produção de Frangos do Campo estudado pelos autores demonstrou um parasitismo dominado pelas coccídeos do género *Eimeria* e por alguns nematodes gastrointestinais. Este panorama tende a agravar-se no final da vida produtiva destes animais, com aumento das prevalências e cargas parasitárias dos agentes referidos, estando associado em grande medida às características extensivas deste tipo de exploração aviária.

A não-desparasitação dos frangos, poderá ter sérias consequências zootécnicas num futuro próximo, na medida em que os animais poderão começar a não atingir as performances expectáveis, traduzindo-se num agravamento do índice de conversão global e, por conseguinte, em perdas económicas para a exploração.

Verificou-se que foram precisos apenas 10 dias entre as duas amostragens para que houvesse uma mudança substancial no panorama parasitário gastrointestinal. A idade dos animais e sua densidade, bem como as condições climáticas, reuniram as condições ideais para que os frangos se infetassem com helmintes e coccídeos.

Destaca-se também o aumento da prevalência de coccídeos que se verificou no interior dos alojamentos entre as duas amostragens, alertando para a necessidade de se executarem vazios sanitários mais frequentes e eficazes.

Em relação à pastagem espontânea, até que ponto é que compensa mantê-la e obter um produto final diferenciado, mas em simultâneo surgirem agravamentos na performance dos frangos e, por conseguinte, aumentando as perdas económicas?

Neste caso concreto, a manutenção da pastagem apenas será viável se forem tomadas medidas profiláticas como a monitorização regular do parasitismo nos frangos por intermédio da colheita e exame de amostras fecais, a fim de se analisarem as respetivas cargas parasitárias, pois com base nos resultados obtidos, o produtor deverá decidir se os limiares de patogenicidade foram ultrapassados e, em caso afirmativo, recorrer aos serviços médico-veterinários.

Futuros estudos são necessários neste sistema de produção, como forma de se obterem mais dados de carácter epidemiológico destas e outras parasitoses em Frangos do Campo, alertando os produtores para esta temática e visando o alcance de melhores eficiências produtivas.

Agradecimentos: Em primeiro lugar, gostaríamos de agradecer à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa e ao seu Presidente, Professor Doutor Luís Manuel Morgado Tavares, pelo facto de ter permitido a execução deste trabalho no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias e ao Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA) por ter financiado esta componente laboratorial através da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) e do Projecto UID/CVT/00276/2013 (CIISA, FMV, Universidade de Lisboa).

Um agradecimento ao Dr. António Miguel Palomero, da Faculdade de Veterinária de Lugo (Universidade de Santiago de Compostela), pela leitura, apreciação crítica e conselhos para a melhoria do manuscrito.

Um obrigado especial também à exploração agropecuária e seus técnicos que colaboraram

conosco, os quais se demonstraram prontamente disponíveis para nos receber e cooperar com a realização das amostragens.

References

- Anastácio, Pedro (2011). Parasitoses Gastrointestinais em ovinos em regime extensivo e intensivo em explorações do Ribatejo – Portugal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária. 57 + 82 + 86 + 87 pp.
- Ashenafi, H. & Eshetu, Y. (2004). Study on Gastrointestinal Helminths of Local Chickens in Central Ethiopia. *Revue Méd. Vét.*, 2004, 155, 10, 504-507.
- Baba E., Fukata T., Arakawa A. (1982). Establishment and persistence of *Salmonella typhimurium* infection stimulated by *Eimeria tenella* in chickens. *Res. Vet. Sci.* 33(1):95-98.
- Baptista, A.F. (2010). Perfil parasitológico em frangos do campo. Dissertação de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, Portugal. 11-12 pp. + 80-103 pp.
- Conway, Donal P.; McKenzie, M. Elizabeth (2007). *Poultry Coccidiosis – Diagnostic and Testing Procedures*. 3ª Edição. Blackwell Publishing. Oxford, Reino Unido. 7-48 pp.
- Fanatico, Anne (2006). *Parasite Management for Natural and Organic Poultry: Coccidiosis*. A Publication of ATTRA - National Sustainable Agriculture Information Service. National Centre for Appropriate Technology (NCAT). Montana, USA.
- Fazendeiro, M.I. (1989). *Manual Prático de Técnicas Laboratoriais de Parasitologia*. Unidade de Parasitologia/Estação Zootécnica Nacional e Centro de Emprego de Santarém. Edição policopiada. 166 pp.
- Filho, P. H., Menten, J. F. M., Neves da Silva, M.A., Coelho, A.A.D. & Savino, V.J.M. (2003). Efeito de Genótipo e do Sistema de Criação sobre o Desempenho de Frangos Tipo Caipira. *Revista Brasileira Zootécnica*. 32(6) 1883-1889.
- Kaboudi, K., Umar, S. & Munir, M.T. (2016). Prevalence of Coccidiosis in Free-Range Chicken in Sidi Thabet, Tunisia. *Hindawi Publishing Corporation, Scientifica*, Volume 2016, Article ID 7075195.
- Kaufmann, Johannes (1996). *Parasitic Infection of Domestic Animals*. Birkhäuser Verlag. Basileia, Suíça. 338-370 pp.
- Lordelo, Madalena (2016). *Aves de Interesse Zootécnico*. Produção de Aves e Suínos. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa. Lisboa, Portugal.
- Lozano, J. & Mourato, J. (2016). *Produção de Frango do Campo – Relatório da Visita a uma exploração avícola*. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa. Lisboa, Portugal. 1-8 pp.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2001). *Epidemiologia e controlo da estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal*. Tese de Doutoramento. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa. xxii + 445 pp.
- Radfar, Mohammad H., Khedri, J., Adinehbeigi, K., Nabavi, R., Rahmani K. (2012). Prevalence of parasites and associated risk factors in domestic pigeons (*Columba livia domestica*) and free-range backyard chickens of Sistan region, east of Iran. *Journal of Parasitic Diseases*. (July-Dec 2012) 36(2):220–225.
- Moyle, Kayleigh; Dustan Clark, F.; Moyle, Jonathan; Tabler, Tom; Barber, Scharidi (2014). *Coccidiosis in Chickens*. Agriculture and Natural Resources. University of Arkansas System - Division of Agriculture: Research & Extension. Arkansas, EUA.
- Percy, J., Pias, M., Enetia, Bobo D., Lucia, T. (2012). Seasonality of parasitism in free-range chickens from a selected ward of a rural district in Zimbabwe. *African Journal of Agricultural Research*. Vol. 7(25), pp. 3626-3631.
- Permin, Anders; Hansen, JØrgen W. (1998). *Epidemiology, Diagnosis and Control of Poultry Parasites – FAO Animal Health Manual*. Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO). Roma, Itália. 48-54 pp.
- Singla LD, Pangasa A, Juyal PD (2007). Caecal coccidiosis: efficacy of ayurvedic and allopathic coccidiostats in immunomodulated broiler chicks. *Proceedings of the 12th International Conference of the Association of Institutions of Tropical Veterinary Medicine held from August 19-22, 2007 at Montpellier, France*. 89-93 pp.
- Thienpont, D.; Rochette, F.; Vanparijs, O.F.J. (1986). *Diagnóstico de las Helminthiasis por medio del Examen Coprológico*. Janssen Research Foundation. Beerse, Bélgica. 129-145 pp.