

RESUMO - CIÊNCIAS AGRÁRIAS - MEDICINA VETERINÁRIA

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE AGENTES DA FAMÍLIA PLASMODIIDAE  
EM MAMÍFEROS SILVESTRES NOS BIOMAS MATA ATLÂNTICA E  
PANTANAL DO ESTADO DO PARANÁ**

*Victor Silva De Souza (vicctorsilva21@gmail.com)*

*Isaac Leandro Lira Pinto (isaac.ufrj@gmail.com)*

*Eduarda De Oliveira Silva Lima Machado (eduardamachadovet@gmail.com)*

*Laís Da Silva De Oliveira (sialais98@gmail.com)*

*Thiago Dutra Dias (thiagodd15@gmail.com)*

*Larissa Costa Dos Santos (lara\_acacias@hotmail.com)*

*Laís Feliciano De Souza (laisfelicici@gmail.com)*

*Letícia Pereira Da Silva (leticiapsilva@ufrj.br)*

*Tatiana Pádua Tavares De Freitas (tat.padua@gmail.com)*

*Bernardo Rodrigues Teixeira (bernardoteixeira@gmail.com)*

*Huarrisson Azevedo Santos (huarrisson@yahoo.com.br)*

*Carlos Luiz Massard (carlosmassard@ufrj.br)*

*Maristela Peckle Peixoto (maristelapeckle@gmail.com)*

A intensificação das interações entre ambientes urbanos, rurais e silvestres, consequência de processos históricos como a Revolução Industrial, tem favorecido a disseminação de patógenos zoonóticos e o surgimento de

doenças emergentes. Entre esses agentes, destacam-se protozoários do gênero *Plasmodium* spp., causador da Malária, doença relevante para a saúde animal, humana e ambiental. Este estudo avaliou a ocorrência do parasito em pequenos mamíferos silvestres provenientes do Paraná e Rio de Janeiro, utilizando métodos de diagnóstico molecular (Nested PCR). O trabalho foi submetido e aprovado pelo comitê de ética na Utilização de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA/IOC) L036/2018. Foram coletadas e analisadas amostras de fígado de 101 mamíferos silvestres, previamente identificados taxonomicamente, sendo 89,1% roedores (n=90) e 10,9% marsupiais (n=11). A extração de DNA foi realizada a partir de 25 mg de amostras de fígado dos animais, seguindo o protocolo de "Dneasy Blood and Tissue Kit" (Qiagen, Hilden, Alemanha). A quantificação e a avaliação da qualidade do DNA extraído foi realizada utilizando o espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Foi realizada Nested PCR para detecção do DNA de *Plasmodium* spp., utilizando o protocolo de Mapua et al. (2016). O par de primers DW2 e DW4 foi utilizado na primeira etapa da reação, os quais foram projetados para regiões conservadas do gene *cytB* que, de acordo com consultas ao banco de dados "National Center for Biotechnology Information" (NCBI), apresentam homologia com várias espécies do gênero *Plasmodium*, incluindo *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. yoelli*, entre outros. Os primers escolhidos amplificam um fragmento de aproximadamente 1260 pb, conforme descrito na metodologia original. Para a segunda reação da Nested PCR, foram utilizados os primers *cytb1* e *cytb2*, que amplificam um fragmento de aproximadamente, 939 pb. O controle positivo utilizado nas reações de PCR foi de uma amostra de DNA de sangue de um paciente humano positivo para *Plasmodium falciparum*, fornecida pelo IOC/FIOCRUZ/RJ. Os produtos de PCR gerados ao final da segunda reação de Nested PCR foram submetidos a eletroforese (125V, 400mA, 45 minutos), na qual o produto de PCR foi adicionado a um gel de Agarose 1,5%, e após a corrida foi adicionado a uma solução de brometo de etídio, utilizado como corante intercalante de DNA. Após a corrida, os produtos foram visualizados utilizando fotodocumentador. Todas as 101 amostras avaliadas apresentaram resultado negativo para *Plasmodium* spp.. Apesar da ausência de positividade, o controle positivo e negativo utilizados em todas as reações funcionaram adequadamente. Este resultado negativo pode refletir características ecológicas, comportamentais, e de ciclo biológico específicas das espécies de hospedeiros amostradas, bem como a baixa prevalência local deste gênero de parasito em mamíferos. Além disso, este resultado pode ser explicado pela falta de descrição das espécies

de Plasmodium em pequenos mamíferos silvestres, havendo a hipótese portanto, dos primers utilizados não serem adequados para a busca deste parasito nesses animais. Esses resultados demonstram-se relevantes, pois constrói o conhecimento, ainda escasso, sobre Plasmodiidae em pequenos mamíferos silvestres, um grupo ainda pouco investigado.

Palavras-chave: plasmodium; roedores; marsupiais; diagnóstico molecular.