

RESUMO - CIÊNCIAS AGRÁRIAS - MEDICINA VETERINÁRIA

**DETECÇÃO MOLECULAR DE PROTOZOÁRIOS DA ORDEM
PIROPLASMIDA EM PEQUENOS MAMÍFEROS SILVESTRES DA MATA
ATLÂNTICA E DO PANTANAL NO ESTADO DO PARANÁ E RIO DE
JANEIRO**

Victor Silva De Souza (vicctorsilva21@gmail.com)

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

Isaac Leandro Lira Pinto (isaac.ufrj@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)

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)

Parasitos da ordem Piroplasmida são protozoários do filo Apicomplexa que afetam animais domésticos, selvagens e os seres humanos. Seu ciclo biológico envolve o parasitismo de células sanguíneas e, em animais domésticos, tem

como consequência alterações hematológicas, como a anemia hemolítica. A principal via de transmissão é o repasto sanguíneo de carrapatos infectados e as alterações hematológicas e clínicas em animais variam de acordo com o estágio da doença e o status imunológico do animal. Esse estudo buscou a detecção molecular de parasitos da ordem Piroplasmida através da amplificação de um fragmento do gene 18S rDNA em pequenos mamíferos silvestres dos estados do Paraná e Rio de Janeiro. O trabalho foi submetido e aprovado pelo comitê de ética na Utilização de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA/IOC) L036/2018. Foram coletados fígado e baço de 112 animais do estado do Paraná e do Rio de Janeiro, sendo 40,2% (n=45) de Balsa Nova (PR), 38,4% (n=43) de Volta Redonda (RJ) e 21,4% (n=24) de Nova Friburgo (RJ). Os animais foram posteriormente identificados através de técnicas de taxonomia integrativa e classificados nas ordens Rodentia (n=100/112) e Didelphimorphia (n=12/112). As amostras de tecido coletadas foram armazenadas a -20°C e enviadas ao Laboratório de Hemoparasitos e Vetores (LHV) da UFRRJ. O DNA foi extraído a partir das amostras utilizando kits comerciais (Promega®), seguindo as instruções do fabricante. Para a detecção de DNA de piroplasmas nas amostras biológicas, foi realizada uma Nested PCR com alvo no gene 18S rDNA, utilizando na primeira reação o par de primers BTR1 e BTF1 (Jefferies et al., 2007), que amplificam um fragmento de aproximadamente 930 pb do gene alvo. Na segunda reação da Nested PCR foram utilizados os primer BTR2 e BTF2 (Jefferies et al., 2007), que amplificam um fragmento de aproximadamente 825 pb do gene 18S rDNA. 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. Das 45 amostras de baço oriundas do município de Balsa Nova, 46,6% (n=21/45) amplificaram o DNA de protozoários da ordem Piroplasmida, enquanto 24,4% (n=11/45) das amostras de fígado amplificaram, sendo todos oriundos de roedores. Dentre as 43 amostras de baço de Volta Redonda, 4,6% (n=2/43) foram consideradas positivas pela Nested PCR, sendo um roedor e um marsupial. Em contrapartida, 9,3% das amostras de fígado foram consideradas reagentes (n=4/43), sendo todas de roedores. Em Nova Friburgo, 33,3% (n=8/24) das amostras de baço foram positivas para piroplasmas, enquanto 25% (n=6/24) das amostras de fígado foram positivas para parasitos da mesma ordem taxonômica, sendo todas provenientes de pequenos

roedores. Os resultados desse estudo indicam uma prevalência expressiva de parasitos da ordem Piroplasmida em pequenos roedores do estado do Paraná e Rio de Janeiro, e demonstram que amostras provenientes de baço e fígado apresentam boa sensibilidade para a detecção de desses agentes, sendo o baço, nesse trabalho, um órgão que se mostrou mais sensível para detecção molecular desses protozoários. O estudo ressalta a possível atuação de pequenos mamíferos silvestres como hospedeiros de protozoários da ordem Piroplasmida nos estados do Paraná e Rio de Janeiro. Além disso, evidencia a necessidade de estudos filogenéticos que elucidem as espécies em circulação nesse habitat, bem como as dinâmicas de transmissão e os potenciais riscos zoonóticos.

Palavras-chave: piroplasmas; roedores; marsupiais; biologia molecular.