

RESUMO - PROTOZOOLOGIA E PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR VETORES

OBTENÇÃO DE OOCISTOS ÚNICOS DO GÊNERO EIMERIA POR MICROMANIPULAÇÃO COM AUXÍLIO DA CÂMARA ISOPAR

Bruno Ferraz Itoyama (bruno.itoyama@unesp.br)

Giovanna Fernandes Esteves (giovanna.esteves@unesp.br)

Mariana Pavão Saraiva Da Silva (mariana.pavao@unesp.br)

Lucas Mapeli Ribeiro (lucas.mapeli@unesp.br)

Marcelo Vasconcelos Meireles (m.meireles@unesp.br)

As galinhas domésticas são infectadas por 10 espécies de Eimeria, geralmente em infecções por múltiplas espécies. Os dados morfológicos e morfométricos de oocistos e de suas estruturas internas são essenciais para definição da espécie de Eimeria. A câmara ISOPAR foi desenvolvida com o objetivo de viabilizar a obtenção de um único oocisto visando sua caracterização morfológica e morfométrica, a propagação por inoculação em aves e a extração de DNA para realização de testes moleculares. Amostras fecais de galinhas domésticas foram utilizadas para análise do uso da câmara ISOPAR. As amostras correspondem a dois pools de fezes, colhidos de forma aleatória em dez propriedades de subsistência de dois municípios localizados no interior de

São Paulo, nas quais foram diagnosticadas infecções por múltiplas espécies de *Eimeria*. As amostras foram purificadas por centrífugo-flutuação em solução salina saturada e armazenadas em dicromato de potássio 2,5% a 4°C. Um volume de 100 microlitros da amostra foi posicionado em uma lâmina para microscopia de 26 x 76mm para visualização e obtenção de um único oocisto por micromanipulação, usando um capilar de vidro modificado acoplado a uma micropipeta, em aumento de 10X. Após a captura, cada oocisto foi posicionado na parte inferior da câmara ISOPAR; em seguida, a câmara invertida e o oocisto foi observado em objetivas de 40X e 100X para visualização do formato e mensuração de: oocisto e esporocistos; micrópila; grânulo polar; resíduo do esporocisto; e corpos de Stieda e sub-Stieda. Após a determinação das características morfológicas e morfométricas, cada oocisto foi recuperado da câmara ISOPAR, inserido em uma cápsula de gelatina P.A. 10% e inoculado em uma ave por via oral. Foram usadas duas aves por espécie de *Eimeria*, cada uma inoculada com cinco oocistos. Os oocistos foram colhidos de acordo com o período pré-patente de cada espécie, purificados por centrífugo-flutuação em solução de Sheather e armazenados em dicromato de potássio 2,5%. A identificação da espécie de *Eimeria* e a confirmação da ausência de múltiplas espécies na suspensão de oocistos foi realizada por PCRs espécie-específicas para as 10 espécies da galinha doméstica. Com o uso da câmara ISOPAR, foi possível a obtenção de isolados puros de *Eimeria brunetti*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mitis* e *Eimeria necatrix*. A câmara ISOPAR foi desenvolvida para análise e obtenção de oocistos de *Eimeria* da galinha doméstica, porém a técnica poderia ser utilizada para obtenção de oocistos de outros gêneros de coccídios e de ovos de parasitos.

Palavras-chave: apicomplexa; morfologia; galinha doméstica; coccidiose.