

INFECÇÃO POR *Leishmania* EM QUATIS (*Nasua nasua*) DE UM FRAGMENTO FLORESTAL URBANO EM CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL

Henrique Pinto Gomes¹, Carina Elisei de Oliveira², Geovanna Silva dos Santos²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul –
Campo Grande - MS

²Universidade Católica Dom Bosco - UCDB – Campo Grande - MS

henrique.gomes3@estudante.ifms.edu.br, carinaelisei@ucdb.br,

geovanna.sd.santos@gmail.com

Área/Subárea: CBS - Ciências Biológicas e da Saúde: Parasitologia

Tipo de Pesquisa: Científica

Palavras-chave: Leishmaniose, Diagnóstico molecular, Animais silvestres.

Introdução

A leishmaniose é uma doença zoonótica causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que parasitam uma variedade de mamíferos, como os cães, o ser humano e alguns animais silvestres, e possui como vetor os dípteros do gênero *Lutzomyia*, conhecidos popularmente como ‘mosquito-palha’ (Azevedo et al., 2019). No Brasil, destacam-se dois tipos principais: a Leishmaniose Tegumentar e a Leishmaniose Visceral. A principal diferença entre eles é o impacto que causam no hospedeiro. A Leishmaniose Tegumentar, predominantemente em áreas rurais, provoca lesões problemáticas ou mucosas, mas não é letal. Já a Leishmaniose Visceral afeta órgãos internos, como o fígado, o baço e a medula óssea, e, se não tratadas especialmente, pode ser fatal (Ministério da Saúde do Brasil, 2021).

Já foi descrito um número notável de infecções por *Leishmania* spp. em animais silvestres, como os quatis-de-cauda-anelada (*Nasua nasua*), inclusive, em parques urbanos de Campo Grande, região endêmica para Leishmaniose Visceral (Macedo et al., 2023). Estudos apontam que uma maneira eficaz para identificação da infecção nestes animais é por meio da Reação em Cadeia da Polimerase convencional (cPCR), como em um estudo desenvolvido na cidade de Foz do Iguaçu, Paraná, utilizando 284 amostras de carnívoros selvagens e detecção por cPCR, onde foram apontadas a infecção de 74,3% das amostras analisadas (Moraes et al., 2020).

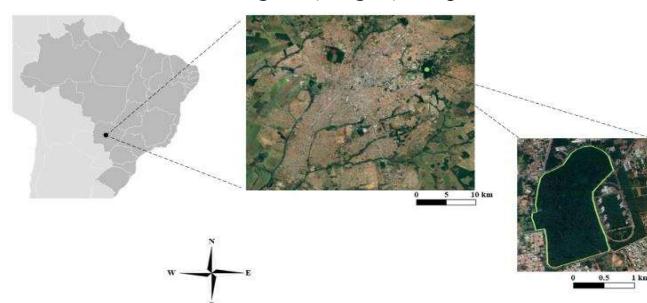
Metodologia

O estudo foi realizado a partir da análise da presença *Leishmania* sp. em amostras de sangue quatis-de-cauda-anelada (*Nasua nasua*), coletadas no Parque estadual do Prosa, um fragmento florestal urbano localizado na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul (Fig. 1). As amostras foram armazenadas em -20°C até o processo de triagem. Todo o material pertence ao banco de amostras do grupo INSANA HUNA da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), com respaldo da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) de

nº 004/2023. A extração de DNA foi realizada com kit *DNeasy Blood & Tissue* (Qiagen), seguindo as diretrizes do fabricante. A concentração e integridade do DNA extraído foram avaliadas com um espectrofotômetro (*Nanodrop*).

Para a triagem das amostras via Reação em Cadeia da Polimerase convencional (cPCR), foram utilizados os primers RV1 e RV2, que geram um fragmento de aproximadamente 145pb da sequência LT1, localizada no DNA do cinetoplasto (kDNA) de *Leishmania* spp. A reação de PCR foi performada utilizando 5U/µL de Taq DNA polymerase (Thermo Fisher), Buffer 10x, MgCl2 50mM, (dNTP) 10mM, 10pmol de cada primer, 150ng de DNA de cada indivíduo, controle positivo contendo isolado de *Leishmania infantum* e controle negativo contendo água ultrapura, ajustados em um volume final de 20µL de reação. O protocolo foi adaptado de estudo publicado por Bigeli et al. (2012), em ciclagem se iniciando com desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, 35 ciclos de desnaturação por 94°C, anelamento a 58°C, extensão inicial a 72°C, extensão final a 72°C por 10 minutos, e 4°C por 10 minutos. Os produtos de PCR amplificados foram observados em gel de agarose a 1,5%.

Figura 1. Mapa de localização do Parque Estadual do Prosa (PEP), em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Local de coleta de material biológico (sangue) de quatis.



Fonte: Próprio Autor (2024).

APOIO



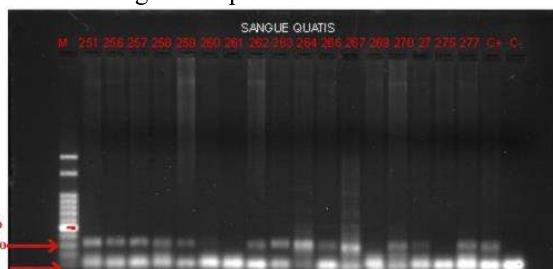
REALIZAÇÃO



Resultados e Análise

Entre as 19 amostras analisadas, 16 foram identificadas como positivas para *Leishmania* sp., utilizando os primers RV1 e RV2 para a região dos minicírculos de DNA do cinetoplasto (kDNA). Um número alarmante, totalizando uma prevalência de 84,2% de indivíduos positivos dentre a população de quatis amostrada. Por sexo, no entanto, não houve diferença entre os animais positivos, com o mesmo número (8) de machos e fêmeas parasitados dentre a população, equalizando os positivos em 50%. Na **figura 2**, é possível observar em gel de agarose a 1,5% as amplificações, indicando as amostras positivas. Observa-se também a presença de dímeros, processo onde o primer selecionado acaba por se anelar no primer correspondente (forward e reverse).

Figura 2. Gel de agarose a 1,5% com amplificações de *Leishmania* sp. via cPCR. M: Marcador de peso molecular de 50pb Ludwig; 251 até 277: amostras de sangue de quatis; C+: controle positivo de isolado de *L. infantum*; C-: controle negativo contendo água ultrapura.



Fonte: Próprio Autor (2024).

Os primers utilizados no estudo (RV1 e RV2), apresentaram alta sensibilidade na detecção, já tendo sido utilizados em estudos que possuíam cães domésticos como hospedeiros (Gonçalves et al., 2016). Os resultados obtidos indicam que a cPCR é uma ferramenta eficaz na detecção de *Leishmania* spp., mesmo em amostras de sangue.

Considerações Finais

Descrito como área endêmica, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, demonstra grande preocupação com a infecção em quatis. Neste trabalho, observamos uma alta prevalência de quatis infectados por *Leishmania* sp. no Parque Estadual do Prosa. Considerando que os fragmentos florestais urbanos são encontrados próximos a habitações humanas, e até mesmo propicia o contato direto de humanos com os animais infectados (como o contato obtido em parques urbanos), os animais infectados influenciam para a maior infecção em animais domésticos, como cães, que consequentemente influenciam no aumento de casos de infecção em humanos. Outrossim, a PCR Convencional se mostrou uma excelente ferramenta na detecção de DNA de *Leishmania*, mesmo que o sangue não seja considerado o melhor tipo de material biológico para tal análise. Os primers utilizados, RV1 e RV2, são altamente sensíveis e corroboram nossos

resultados, indicando a relevância do diagnóstico molecular e proporcionando um olhar mais amplo para os mamíferos silvestres atuando como reservatórios da leishmaniose na capital.

Agradecimentos

Agradecimentos ao grupo INSANA HUNA da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB).

Referências

AZEVEDO, T. S. D.; LORENZ, C.; CHIARAVALLOTTI-NETO, F. Risk mapping of visceral leishmaniasis in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, p. e20190240, 2019. DOI 10.1590/0037-8682-0240-2019.

BIGELI, J. G.; OLIVEIRA JÚNIOR, W. P. D.; TELES, N. M. M. Diagnosis of Leishmania (Leishmania) chagasi infection in dogs and the relationship with environmental and sanitary aspects in the municipality of Palmas, state of Tocantins, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 1, p. 18–23, fev. 2012.

GONÇALVES, R. D. S. et al. Association between *Leishmania infantum* DNA in the hair of dogs and their infectiousness to *Lutzomyia longipalpis*. **Veterinary Parasitology**, v. 232, p. 43–47, dez. 2016.

MACEDO, G. C. et al. *Leishmania infantum* infecting the carnivore Nasua nasua from urban forest fragments in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazilian Midwest. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 12, p. 1050339, 2023.

MORAES, M. F. D. [UNESP. Carnívoros selvagens generalistas como sentinelas para filariose e leishmaniose visceral no Parque Nacional do Iguaçu. 23 jun. 2020.

Saiba quais são os tipos, os sintomas e a transmissão das leishmanioses em humanos. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2021/10/saiba-quais-sao-os-tipos-os-sintomas-e-a-transmissao-das-leishmanioses-em-humanos>>. Acesso em: 9 set. 2024.

APOIO



REALIZAÇÃO

