

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).

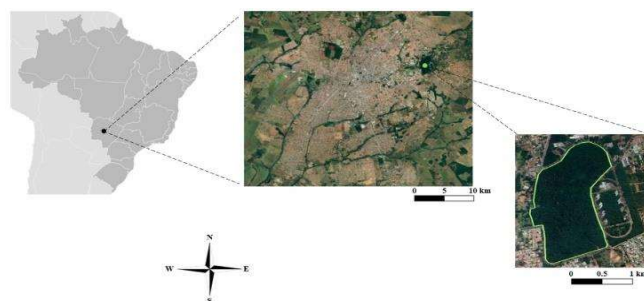
Metodologia

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 performeda 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.

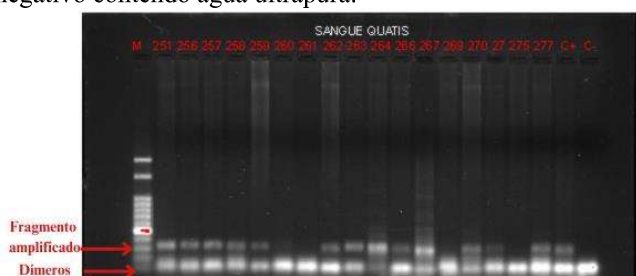


Fonte: Próprio Autor (2024).

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.; CHIARAVALLOTI-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.