

ANÁLISE DA POSSÍVEL FONTE DE CONTAMINAÇÃO DE *Toxoplasma gondii* PARA QUIRÓPTEROS (MAMMALIA) DE MARINGÁ, PARANÁ

Gustavo Faccin Andreotti (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Daniela Maria Sandoli (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Henrique Ortêncio Filho (Orientador), Débora de Mello Gonçalves Sant'ana (Co-Orientadora) e-mail: henfilhobat@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / Maringá, PR.

Área/Subárea de conhecimento: Ciências Biológicas/Parasitologia

Palavras-chave: Epidemiologia, Morcegos, Infecção.

Resumo:

A infecção por *Toxoplasma gondii* se dissemina entre os animais e humanos diversamente, como, na ingestão de oocistos liberados junto às fezes de felídeos, contaminando água, solo e alimentos. Assim, estudos anteriores registraram positividade de infecção toxoplásmica em morcegos de fragmentos florestais no município de Maringá, Paraná. O presente trabalho objetivou investigar uma possível fonte de contaminação para a infecção desses quirópteros. Foram coletadas bimestralmente amostras de água de 10 mL do lago dos fragmentos florestais Parque do Ingá e Horto Florestal Dr. Luiz Teixeira Mendes, de agosto de 2016 a janeiro de 2017, com padronização de cinco locais de amostragem por lago, visando pontos com maior fluxo de pessoas e animais., Para análise de ocorrência de oocisto, as amostras foram submetidas à extração de DNA e posteriormente, a PCR com uso de iniciadores B1 (B22 - B23) para amplificar 115 pares de bases (pb). Os produtos amplificados foram visualizados em géis de poliacrilamida a 4,5%, revelada por prata e gravados digitalmente. Obteve-se positividade em amostra do Parque do Ingá. Com isso, a infecção observada em morcegos de Maringá pode ocorrer a partir da ingestão de água contaminada, aplicando-se aos morcegos positivos do Horto Florestal, visto que podem se deslocar de um fragmento para o outro com facilidade, contaminação essa suposta pelo trânsito de gatos domésticos pelo fragmento. Dessa forma, foi possível constatar visível envolvimento dos recursos hídricos e dos quirópteros dos fragmentos florestais municipais no ciclo de vida de *T. gondii*.

Introdução

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório de ampla distribuição global (VIDOTTO, 1992), e que tem capacidade de infectar todos os animais homeotérmicos, o que o fez afirmar que o homem vive num mar

de infecção toxoplásmica. Esse protozoário pode parasitar vários tipos de mamíferos, entre eles os da ordem Chiroptera, grupo de mamíferos mais diversificados do mundo, com número aproximado de 1.300 espécies (FENTON; SIMMONS, 2015).

O fato dos quirópteros possuírem grande diversidade trófica, pode servir como uma abertura para serem infectados por *T. gondii* através de ingestão de oocistos presentes no ambiente, água ou principalmente alimentos contaminados por fezes de felinos infectados, pelo consumo de bradizoítos presentes em tecidos de hospedeiros intermediários infectados ou pela transmissão de taquizoítos por via transplacentária (DODD et al., 2014).

A infecção pela via oral é a principal forma de ocorrência e disseminação do protozoário para a população humana e animal (DUBEY; TOWLE, 1986). A água pode servir como uma grande via de transmissão da toxoplasmose, atuando como um veículo dispersor de oocistos para a população que venha a utilizá-la (FUNASA, 2002). Portanto, o trabalho em questão visou investigar as possíveis fontes de contaminação que podem servir para infecção dos morcegos residentes de fragmentos florestais no município de Maringá, Paraná.

Materiais e métodos

O projeto foi realizado em fragmentos florestais e residências, nos quais foram encontrados morcegos com anticorpos séricos anti - *T. gondii*, no município de Maringá, Paraná. Os fragmentos florestais onde ocorreu a coleta de água do lago foram: 1) Parque do Ingá (Bosque I), localizado na área central da cidade; 2) Horto Florestal Dr. Luiz Teixeira Mendes. As amostragens foram realizadas bimestralmente no período de agosto de 2016 a maio de 2017.

Para coleta do material hídrico foi utilizado luvas de látex para segurança do coletor e tubos Falcon. Foram coletadas cinco amostras contendo 10 mL cada. As amostragens foram feitas em cinco pontos de forma padronizada em torno do lago visando locais de maior fluxo de pessoas e animais. Para coleta, criou-se uma corrente superficial através da movimentação do frasco na direção horizontal e também por meio de pipeta, a fim de ressuspender o sedimento do lago. Após coletado, as amostras foram devidamente identificadas e acondicionadas em caixa térmica contendo bolsas térmicas de gel e encaminhadas ao Laboratório de pesquisa em Neurogastroenterologia Experimental, Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá.

Para identificação da ocorrência de oocisto de *T. gondii*, uma parcela de 250 µL da amostra inicial foi submetida à extração de DNA a qual foi congelada em nitrogênio líquido (-196°C) durante cinco minutos, seguido de descongelamento num banho seco a 65°C durante 5 minutos. Este ciclo foi repetido cinco vezes. A extração realizou-se utilizando o kit comercial (Axy Prep sangue DNA genômico, Axygen Biosciences®). Posteriormente, as amostras foram analisadas por PCR utilizando os iniciadores B1 (B22 - B23) para amplificar 115 pares de bases (pb).

Em cada reação, um controle negativo (sem misturar DNA) e um controle positivo (DNA extraído a partir de Me-49 estirpe) foi processada. Os produtos amplificados foram visualizados em géis de poliacrilamida a 4,5%, revelados por prata e gravados digitalmente. Os dados foram analisados por estatística descritiva e representação em percentuais.

Resultados e Discussão

Foram analisadas 50 amostras de água totais, 25 amostras para cada fragmento. Com a análise laboratorial constatou-se positividade de DNA de *Toxoplasma gondii* na água coletada no lago do Parque do Ingá por meio de PCR, na segunda amostragem (outubro de 2016), não havendo positividade para a água do lago do Horto Florestal ou nas demais coletas realizadas no primeiro fragmento florestal.

Outro ponto, é que apesar dos quirópteros do Horto Florestal Dr. Luiz Teixeira Mendes terem registros de positividade de infecção por esse protozoário, e o lago do mesmo não ter apresentado DNA de *T. gondii*, os mesmos podem ser infectados pela água do outro fragmento, visto que os morcegos podem voar dezenas de quilômetros em uma noite (MENEZES, 2008), sendo que a distância entre os parques é de 4 km, assim, quirópteros conseguem se deslocar com facilidade de um para o outro.

É sabido que os oocistos infectantes de *T. gondii* são expelidos apenas por seus hospedeiros definitivos, os felídeos. Em relação a esse grupo, as espécies silvestres relatadas em Maringá são: *Herpailurus yagouaroundi* (gato-mourisco) e *Leopardus pardalis* (jaguatirica) (Maringá, 2010). Porém, quando presentes no Parque do Ingá, eram mantidos em cativeiro, não sendo mais encontrados atualmente. Dessa forma, sugere-se que a dispersão dos oocistos na água, dê-se por meio dos gatos domésticos (*Felis catus*), que transitam livremente pela cidade.

Conclusões

Os morcegos de fragmentos florestais urbanos de Maringá encontram-se infectados com o protozoário *T. gondii*, infecção a qual, pode ocorrer a partir da ingestão de água contaminada com oocistos do parasito, já que foi encontrado seu DNA nas amostras de água. Contudo, os resultados não trazem preocupação, pois não apontam possibilidade de risco para os humanos uma vez que os quirópteros não compartilham as mesmas fontes de infecção com o homem, sendo que não há consumo ou contato direto da água dos respectivos parques com a população humana de Maringá, além de que os morcegos da região não servem de alimento para os habitantes.

Agradecimentos

Os responsáveis pelo presente estudo agradecem à CNPq, em parceria com a Fundação Araucária, pelo financiamento através do Programa de Bolsas

de Iniciação Científica – PIBIC. Agradecem também aos membros do GEEMEA (Grupo de Estudo em Ecologia de Mamíferos e Educação Ambiental), pelo auxílio no desenvolvimento das atividades.

Referências

- DODD, S. N.; LORD, S. J.; JEHLE, R.; PARKER, S.; PARKER, F.; DARREN R.; BROOKS G. H. ***Toxoplasma gondii*: Prevalence in species and genotypes of British bats (*Pipistrellus pipistrellus* and *P. pygmaeus*)**. Experimental Parasitology, v. 139, p. 6-11, 2014.
- DUBEY, J. P.; TOWLE, A. **Toxoplasmosis in sheep**. St. Albans: Commonwealth Institute of Parasitology, 1986.
- FENTON, M. B.; SIMMONS, N. B. **Bats: A World of Science and Mystery**. University of Chicago Press, 2015.
- MENEZES, J. L. F.; et al. **Deslocamento de *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) (Mammalia, Chiroptera) entre ilha e continente no Estado do Rio de Janeiro, Brasil**. Bio. Neo., v. 8 (2): p.243-245, 2008.
- VIDOTTO, O. **Toxoplasmose: epidemiologia e importância da doença na saúde animal**. Semina: Ciências Agrárias. Londrina, v. 13, n. 1, p. 69-75, 1992.