

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Toxoplasma gondii* EM MAMÍFEROS E AVES MARINHAS DE VIDA LIVRE NO LITORAL SUL DE SANTA CATARINA, BRASIL ¹

Felipe Rieth de Lima², Francieli Maria Wilhelms³, Ana Paula Remor Sebolt⁴, Anderson Barbosa de Moura⁵, Andreas Lazaros Chryssafidis⁶, Pedro V. Castilho⁷ Gabriela C. Souza⁸, Eduardo Macagnan⁸

¹ Vinculado ao projeto “Soroprevalência, isolamento e caracterização molecular de *Toxoplasma gondii* em mamíferos e aves marinhas de vida livre no litoral Sul de Santa Catarina, Brasil.”

² Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária – CAV – Bolsista PROBIC/UDESC

³ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – CAV/UDESC

⁴ Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – PPGCA/CAV/UDESC

⁵ Orientador, Departamento de Medicina Veterinária, – CAV – anderson.moura@udesc.br

⁶ Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – PPGCA/CAV/UDESC

⁷ Docente do Centro de Educação Superior da Região Sul – DEPB/CERES/UDESC

⁸ Médica(o) Veterinária(o) - Unidade de Estabilização de Fauna Marinha – UEFM/CERES/UDESC

Toxoplasma gondii tem importância na medicina humana e veterinária e representa considerável problema à saúde única e à produtividade animal. Animais marinhos são susceptíveis à infecção por *T. gondii*, embora a forma de infecção ainda não esteja totalmente elucidada. *T. gondii* apresenta ampla variedade genética, principalmente na América do Sul, onde genótipos altamente virulentos têm sido descritos. A diversidade genética do parasito em animais silvestres é pouco relatada no Brasil, especialmente em animais marinhos. O objetivo do presente estudo foi isolar e caracterizar molecularmente *T. gondii* de animais marinhos de vida livre no litoral Sul de Santa Catarina. Amostras de tecidos (Sistema Nervoso Central (SNC), fígado, musculatura esquelética, coração e pulmões), obtidas de animais marinhos assistidos e/ou recolhidos pelo Projeto de Monitoramento de Praias da Bacia de Santos (PMP-BS) e pela Unidade de Estabilização de Fauna Marinha do Centro de Educação Superior da Região Sul (UDESC-CERES) foram submetidas ao bioensaio em camundongos para o isolamento do parasito. Os camundongos inoculados foram avaliados diariamente, sendo submetidos a eutanásia 42-45 Dias Pós-Inoculação (DPI), ou mediante a manifestação aguda sugestiva de toxoplasmose, 2-10 DPI. Dos camundongos eutanasiados, amostras de tecidos (SNC, pulmões e coração) foram coletadas e armazenadas para posterior detecção e genotipagem (RFLP-PCR) de *T. gondii*. Fragmentos do SNC dos camundongos eutanasiados foram utilizados para a pesquisa (“squash”) de cistos teciduais de *T. gondii* e, nos camundongos eutanasiados 2-10 DPI (fase aguda), também foi realizada a pesquisa de taquizoítos (lavado peritoneal e “imprint” de pulmão). Sangue dos camundongos foi colhido para obtenção de soro, e detecção de anticorpos contra o protozoário (Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), $\geq 1:16$). No total, realizaram-se 90 bioensaios (84,44% de aves, 12,22% de mamíferos e 3,33% de répteis), dos quais foram obtidos 38 isolados (35 de aves e três de mamíferos) A distribuição das espécies e número de positivos nos bioensaios é apresentada na Tabela 1. Das técnicas empregadas, 13,16% (5/38) dos bioensaios tiveram resultado positivo no lavado peritoneal, 15,79% (6/38) pelo “imprint” de pulmão, 47,36% (18/38) no “squash” de SNC e 86,84% (33/38) na RIFI. Os resultados desse estudo descrevem o primeiro relato de isolamento e infecção por *T. gondii* nas espécies de gaiotão

(*Larus dominicanus*), biguá (*Phalacrocorax brasilianus*), pardela-sombria (*Puffinus puffinus*) e toninha (*Pontoporia blainvillei*). Além disso, relata o primeiro isolamento bem-sucedido do protozoário, por bioensaio, nas espécies de atobá-pardo (*Sula leucogaster*) e em pinguim-de-magalhães (*Spheniscus magellanicus*). Esses dados demonstram a circulação do protozoário em animais marinhos no litoral Sul do Estado de Santa Catarina, inclusive em espécies onde ainda não havia relatos de infecção por *T. gondii*, e indica provável contaminação ambiental por oocistos do protozoário, reforçando a importância desse conhecimento para estratégias de controle e monitoramento do parasito na saúde única.

Tabela 1. Resultados dos bioensaios, por espécie animal, porcentagem do total de bioensaios por classe animal (%TBC), por total de bioensaios realizados (%TBF), por total de bioensaios positivos na classe (%PTC) e por todos os bioensaios positivos (%PTF).

Classe animal	N° Bioensaios	N° Pos*	%Pos	%TBC	%TBF	%PTC	%PTF
Aves - Nome popular (Nome científico)							
Gaiotão (<i>Larus dominicanus</i>)	26	16	61,53	34,21	28,89	45,71	42,11
Trinta-réis-boreal (<i>Sterna hirundo</i>)	2	0	0	2,63	2,22	0,00	0,00
Pinguim-de-magalhães (<i>Spheniscus magellanicus</i>)	35	15	42,85	46,05	38,89	42,86	39,47
Petrel-grande (<i>Macronectes giganteus</i>)	1	0	0	1,32	1,11	0,00	0,00
Biguá (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>)	5	2	40	6,58	5,56	5,71	5,26
Pardela-preta (<i>Procellaria aequinoctialis</i>)	2	0	0	2,63	2,22	0,00	0,00
Faigão-de-bico-largo (<i>Pachyptila vittata</i>)	1	0	0	1,32	1,11	0,00	0,00
Atobá-pardo (<i>Sula leucogaster</i>)	2	1	50	2,63	2,22	2,86	2,63
Pardela-sombria (<i>Puffinus puffinus</i>)	2	1	50	2,63	2,22	2,86	2,63
Total da classe	76	35	-	100	84,44	100,00	92,11
Mamíferos - Nome popular (Nome científico)							
Toninha (<i>Pontoporia blainvillei</i>)	7	3	42,85	63,64	7,78	100	7,89
Lobo-marinho-sul-americano (<i>Arctocephalus australis</i>)	4	0	0	36,36	4,44	0,00	0,00
Total da classe	11	3	-	100	12,22	100	7,89
Répteis - Nome popular (Nome científico)							
Tartaruga-verde (<i>Chelonia mydas</i>)	2	0	0	66,67	2,22	0	0
Tartaruga-cabeçuda (<i>Caretta caretta</i>)	1	0	0	33,33	1,11	0	0
Total da classe	3	0	-	100	3,33	0	0
Total final	90	38	-	-	100	-	100

*Considerou-se positivo o bioensaio em que se identificou estruturas parasitárias (pseudocistos, cistos e/ou taquizoítos) de *T. gondii* em ao menos uma das técnicas de diagnóstico empregadas: lavado peritoneal, imprint de pulmão, squash de SNC e/ou a sorologia positiva na RIFI.

%Pos = Porcentagem de bioensaios positivos por espécie animal.

%TBC = Porcentagem de bioensaios em relação ao total de bioensaios da classe animal.

%TBF = Porcentagem de bioensaios em relação ao total final de bioensaios entre todas as classes animais (n=90).

%PTC = Porcentagem de bioensaios positivos em relação ao número de bioensaios positivos totais da classe.

%PTF = Porcentagem de bioensaios positivos em relação ao número total de bioensaios positivos entre todas as classes (n=38).

Palavras-chave: Toxoplasmose. Bioensaio. Animais marinhos.