



P-01

ALTERAÇÕES NA TELA SUBMUCOSA DO JEJUNO DE RATOS CAUSADAS POR INFECÇÃO AGUDA POR *Toxoplasma gondii*

PASTRE-ZULIN, M. J.1*; GÓIS, M. B.1; CASAGRANDE, L.1; PEREIRA-SERVERI, L. S.1; DE MELO, G. de A. N.1; SANT'ANA, D. de M. G.1;

1Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

*e-mail: mjpzulin@gmail.com

Categoria: Biologia molecular e diagnósticos

O *Toxoplasma gondii* é o agente etiológico da toxoplasmose, doença amplamente difundida em todo planeta. O oocisto do protozoário ingerido transpõe a barreira intestinal a fim de se disseminar pelo organismo hospedeiro. O grupo de Neurogastroenterologia da UEM demonstrou que dentre os efeitos da infecção pelo *T. gondii* sobre a mucosa intestinal está o desencadeamento do processo inflamatório. Inflamações locais podem levar a alterações na dinâmica das fibras colágenas. Esse trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da infecção aguda causada por oocistos de *T. gondii* sobre a tela submucosa do jejuno de ratos. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais da UEM (n°079/2013). Foram utilizados 42 *Rattus norvegicus*, Wistar, machos, com 60 dias, distribuídos em GC (grupo controle); G12 (12 horas de infecção); G24 (24 horas de infecção); G48 (48 horas de infecção); G72 (72 horas de infecção) e G7D (7 dias de infecção). Os ratos dos grupos infectados receberam oralmente 5.000 oocistos esporulados de *T. gondii*. Após os períodos experimentais, os ratos foram submetidos a eutanásia, o jejuno foi retirado, mensurado, lavado e fixado. Cortes de 10 μm foram corados pela técnica de Azan para evidenciar o colágeno presente na tela submucosa. Imagens foram capturadas na objetiva da 20x, analisadas com microscópio óptico acoplado ao Software Image Pro Plus e mensuradas. Os dados obtidos em micrometros (μm) foram analisados estatisticamente pelo teste ANOVA por meio do Software GraphPad Prism 5.01. A espessura da tela submucosa reduziu significativamente ($p < 0.05$) após 12h ($11,23 \pm 2,97 \mu\text{m}$), 24h ($17,64 \pm 4,95 \mu\text{m}$), 48h ($11,02 \pm 3,37 \mu\text{m}$) e 72h ($16,45 \pm 7,32 \mu\text{m}$) de infecção em relação ao GC ($26,81 \pm 12,07 \mu\text{m}$). No G7D ($20,03 \pm 3,77 \mu\text{m}$) não houve alterações. A infecção aguda induzida por *Toxoplasma gondii* no jejuno de ratos causa redução da tela submucosa nas primeiras 72 h de infecção, que pode ter ocorrido devido a dinâmica do processo inflamatório, voltando a se reestabelecer com formação de novas fibras de colágeno no sétimo dia de infecção.

Palavras-chave: Técnica de Azan, Jejuno, *Toxoplasma gondii*.

Suporte: CAPES e CNPq



P-02

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Histomonas meleagridis* EM UM PAVÃO INDIANO LEUCÍSTICO (*Pavo cristatus*)

MICHELAZZO, M.M.Z.¹; OLIVEIRA, T.E.S.¹; MARUTANI, V.H.B.¹; MEDEIROS, H.¹; SOUZA, M.²; SAITO, A.M.²; BAPTISTA, A.A.²; SASSE, J.P.³; GARCIA, J.L.³; ALFIERI, A.A.⁴; HEADLEY, S.A.^{1*}

¹Laboratório de Patologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. *e-mail: selwyn.headley@uel.br

²Laboratório de Medicina Aviária, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

³Laboratório de Parasitologia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

⁴Laboratório de Virologia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil

Biologia Molecular e diagnóstico.

A histomoníase é causada pelo protozoário flagelado tricomonado *Histomonas meleagridis*, que é taxonomicamente semelhante a *Dientamoeba fragilis* e *Tritrichomonas foetus*. Adicionalmente, estudos filogenéticos utilizando os genes rRNA e 5.8S gene rRNA das pequenas subunidades com as regiões ITS flanqueadas demonstraram que esses organismos estão intimamente relacionados. Histomoníase é cosmopolita, resultando em lesões no ceco, fígado, bursa de Fabricius, rim e baço de galináceos, mas com descrições predominantemente em frangos e perus. Há poucos relatos de histomoníase em pavões no mundo. Este estudo descreve a caracterização molecular de *H. meleagridis* a partir de uma infecção sistêmica um pavão indiano leucístico (*Pavo cristatus*) do Sul do Brasil. O DNA genômico foi extraído de fragmentos frescos coletados do fígado, ceco, intestino delgado, baço, pulmões e rins de um pavão com manifestações patológicas consistentes com a histomoníase e utilizados num ensaio de PCR desenhado para amplificar o fragmento parcial dos 5.8S e as regiões do ITS1 e ITS2 de flagelados tricomonados. Todos os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 2%, corados com brometo de etídio e avaliados sob luz UV. Os produtos amplificados da PCR foram purificados e submetidos ao sequenciamento direto. A árvore filogenética, a tabela de identidade e o alinhamento das sequências dos nucleotídeos baseados no gene de rRNA 5.8S de organismos flagelados tricomonados selecionados foram feitos no MEGA-7. A PCR amplificou os fragmentos parciais do gene de rRNA 5.8S e as regiões ITS1 e ITS2 adjacentes de todos os fragmentos de tecido avaliado. No entanto, no ceco foi obtido a melhor sequência. A sequência nucleotídica do isolado (*H. meleagridis* UEL-1) obtida deste estudo foi depositada no GenBank. As análises de BLAST revelaram que o isolado desta investigação tinha uma identidade de 99% com outras sequências de *H. meleagridis* depositadas no GenBank. A análise filogenética revelou dois ramos distintos quando os organismos tricomonados selecionados foram comparados: um composto por isolados de *H. meleagridis*, *T. gallinarum* e *Trichomonas* spp e o outro formado por isolados de *D. fragilis*. Portanto, o isolado derivado deste estudo, agrupou-se com outras estirpes de *H. meleagridis*,



sendo distintas das de *T. gallinarum* e *Trichomonas* spp. Os resultados moleculares confirmam que o isolado obtido a partir dos órgãos desse pavão é filogeneticamente semelhante a outros isolados de *H. meleagridis* e representam a primeira caracterização molecular de *H. meleagridis* no Brasil.

Palavras-chave: histomoníase, análise filogenética, diagnóstico molecular.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq, Fundação Araucária, MEC.



P-03

***Cryptosporidium baileyi* EM PSITACÍDEOS SILVESTRES MANTIDOS EM CATIVEIRO**

OLIVEIRA, B. C. M.^{1*}; NAGATA, W. B.¹; ARANA, D. G.¹; FERREIRA, G. C.¹; SITTON, H. A.¹; FERRARI, E. D.¹; SANTANA, B. N.¹; CAMARGO, V. S.¹; MEIRELES, M. V.¹

¹UNESP, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Araçatuba, São Paulo.

*bruno.9988@hotmail.com

Biologia Molecular e diagnóstico.

Cryptosporidium spp. são protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, ordem Eucoccidiida e família Cryptosporidiidae, que completam seu ciclo biológico na superfície de células epiteliais dos tratos gastrintestinal, respiratório e urinário de mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes. A criptosporidiose manifesta-se de forma aguda ou crônica, envolvendo os tratos respiratório ou digestivo das aves, sendo relatada em diversas espécies de várias ordens, como Anseriformes, Charadriiformes, Columbiformes, Galliformes, Passeriformes, Psittaciformes e Struthioniformes, em vários continentes. O objetivo do nosso trabalho foi realizar a caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em psitacídeos silvestres mantidos em cativeiro no Zoológico Municipal de Araçatuba, São Paulo. Um total de 47 amostras fecais foram colhidas, sendo 20 de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), 16 de maritacas-maracanã (*Psittacara leucophthalma*) e 11 de araras-canidé (*Ara ararauna*). Todas as amostras foram colhidas no momento em que as aves defecavam em seus recintos. A extração de DNA foi realizada por meio do kit ZR Fecal DNA MiniPrepTM (Zymo Research). Posteriormente, a *nested*-PCR foi utilizada para a amplificação de fragmento parcial do gene da subunidade 18S do RNA ribossômico. Por meio da *nested*-PCR, 10,64% (5/47) das amostras fecais de psitacídeos (quatro de araras-canidé e uma de maritaca-maracanã) demonstraram positividade para *Cryptosporidium* spp.. Os fragmentos amplificados foram sequenciados e apresentaram 100% de similaridade genética com *Cryptosporidium baileyi*. Assim, *C. baileyi* foi detectado em fezes psitacídeos silvestres mantidos em cativeiro no Zoológico Municipal de Araçatuba, São Paulo.

Palavras-chave: Psittaciformes, Criptosporidiose, *nested*-PCR.



P-04

***Cryptosporidium* spp. EM CANÁRIOS (*Serinus canaria*) MANTIDOS EM CATIVEIROS NAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL**

CAMARGO, V.S.^{1*}; NAKAMURA, A.A.¹; SANTANA, B.N.¹; FERRARI, E.D.¹; NARDI, A.M.¹; MEIRELES, M.V.¹; ¹Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Universidade Estadual de São Paulo, Araçatuba – SP, Brasil.

*viniciuscamargo.biologo@yahoo.com.br

Biologia Molecular e diagnóstico

O protozoário *Cryptosporidium* spp. é um parasito que infecta o trato respiratório e o trato digestivo de várias espécies de anfíbios, aves, mamíferos, peixes e répteis. Atualmente, 31 espécies de *Cryptosporidium* são consideradas válidas. Em aves, já foram identificadas quatro espécies de *Cryptosporidium*: *C. avium*, *C. baileyi*, *C. galli* e *C. meleagridis*, além de diversos genótipos que ainda não foram classificados como espécies. Este estudo objetiva determinar a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e realizar sua caracterização molecular, em canários (*Serinus canaria*), mantidos em cativeiro, nas regiões sul e sudeste do Brasil. Foram colhidas 502 amostras fecais, que foram submetidas à purificação em solução de Sheather e armazenadas em duas alíquotas. A primeira alíquota examinada por microscopia, utilizando a coloração negativa com verde malaquita, e a segunda foi submetida à extração de DNA genômico dos oocistos e realização da reação em cadeia da polimerase para amplificação de fragmento parcial do gene da subunidade 18S do rRNA, para detecção de *Cryptosporidium* spp., seguida de sequenciamento dos fragmentos amplificados. A PCR duplex em tempo real foi utilizada para amplificação espécie-específica de fragmento parcial do gene da subunidade 18S do rRNA de *C. galli* e *Cryptosporidium* Genótipo III de aves. Foi observada positividade de 1,99% (10/502) e 4,58% (23/502) para *Cryptosporidium* spp. pela microscopia e *nested* PCR, respectivamente. Pela PCR em tempo real, houve positividade de 2,39% (12/502) para *Cryptosporidium* genótipo III de aves e de 8,16% (39/502) para *C. galli*. O sequenciamento de vinte amostras amplificadas pela *nested* PCR resultou na identificação de *C. galli* (2,98%; 15/502), *Cryptosporidium avium* e (0,2%; 1/502) e *Cryptosporidium* genótipo I de aves (0,79%; 4/502).

Palavras-chave: *Cryptosporidium*, aves, *nested* PCR.

Suporte financeiro: CAPES; FAPESP



P-05

DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM FRANGOS DO TIPO COLONIAL CAIPIRA DA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ

SASSE, J.P.^{1*}; CARNEIRO, P.G.¹; NINO, B.S.L.¹; MINUTTI, A.F.¹; SEIXAS, M.¹; MARTINS, F.D.C.¹; VIEIRA, F.E.G.²; GARCIA, J.L.¹

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

² Laboratório de Parasitologia, Centro de Ciências Humanas e a Educação, Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, Jacarezinho, PR, Brasil.

*joosasse@hotmail.com

Biologia Molecular e diagnóstico.

Neospora caninum é um parasita intracelular obrigatório de distribuição mundial e é considerado um dos principais causadores de abortamento em bovinos. Os canídeos como o cão doméstico, coiote, Dingo Australiano e o lobo cinza são considerados os hospedeiros definitivos. Estudos recentes demonstram que algumas espécies de aves, como a galinha (*Gallus domesticus*) e o pardal (*Passer domesticus*) são hospedeiros intermediários. As aves são consideradas importantes indicadores da contaminação ambiental pela ampla exposição a agentes biológicos e químicos, devido ao hábito de se alimentarem no solo por meio da ação de ciscar. Com a expansão da criação do frango tipo colonial caipira, estes se tornam presa para cães podendo funcionar como hospedeiro intermediário. Neste trabalho foram coletadas 87 amostras de frangos criados no sistema colonial caipira oriundas da região Norte do Estado do Paraná. As análises sorológicas para a verificação da presença de anticorpos anti-*N. caninum* foi realizada pela técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI). Das 87 amostras analisadas, foi observada uma positividade de 11% no teste de IFI para *N. caninum*. O presente trabalho evidenciou que as aves estão sendo infectadas com *N. caninum* na região estudada, o que revela a importância da transmissão horizontal do parasita, uma vez que esses animais se infectam principalmente com oocistos. Desta forma, galinhas criadas soltas poderiam ser utilizadas como bons indicadores biológicos de contaminação ambiental por oocistos de *Neospora caninum*. Outros estudos são necessários para elucidar a função dessas aves no ciclo do parasita.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, IFI, Frango caipira.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq, UEL.



P-06

DETECÇÃO DE *Cryptosporidium* spp. EM EQUINOS DE HARAS DO NOROESTE DO PARANÁ.

RIBEIRO, L.V.P.^{1*}; CARDIM, S.T.²; SEIXAS, M.²; MARTINS, T.A.²; CARDIM, S.L.³; LAGINESTRA, B.F.A.⁴; BEZERRA, K.³; GARCIA, J.L.²;

¹Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR, Umuarama, Paraná, Brasil. *e-mail: lucianavieira@prof.unipar.br ²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. ³Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

⁴Discente de Medicina Veterinária, PIBIC/UNIPAR

Biologia Molecular e Diagnóstico

O *Cryptosporidium* spp. possui elevada importância devido seu potencial zoonótico, as altas perdas econômicas causadas e comprometimento na produtividade animal, por promover inflamação e atrofia das vilosidades intestinais diminuindo assim a absorção, desequilíbrio e transporte de nutrientes. O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de potros de diferentes idades e éguas na região Noroeste do Paraná utilizando a técnica de Nested - PCR. Foram utilizados 157 equinos assintomáticos, sendo estes, 71 éguas, 65 potros lactentes, com idade variando entre 1 a 7 meses e 21 potros desmamados entre 7 a 10 meses de idade. Todos os animais estudados eram da raça Quarto de Milha. A pesquisa foi realizada em seis haras durante o período de outubro de 2012 a maio de 2013, sendo três propriedades do município de Umuarama, duas no município de Douradina e uma do município de Xambrê. Foram coletadas uma amostra por animal diretamente da ampola retal, com auxílio de luva de palpação retal, identificadas, acondicionadas na própria luva sob refrigeração até o seu processamento. As amostras foram submetidas à técnica de nPCR no laboratório de protozoologia veterinária da UEL. A ocorrência de *Cryptosporidium* spp. observada no presente estudo foi de 9,5% (15/157), sendo que, 12,6% das éguas (9/71) e 9,2% dos potros lactentes (6/65) eram positivos. As amostras positivas foram detectadas em apenas duas haras, haras 02 com 14 amostras positivas, localizado no município de Umuarama, com uma taxa de infecção de 28,5% (14/49), sendo 16,3% éguas e 12,2% potros lactentes e no haras 06 com apenas uma égua positiva (3,4% - 1/29) localizado no município de Xambrê. Sabendo da relação homem animal e perante os resultados positivos para *Cryptosporidium* spp. os equinos podem tornar-se reservatório desse protozoário, e assim, oferecer riscos à saúde pública.

Palavras-chave: Égua, Potro, nPCR.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq



P-07

***Eimeria* SPP. EM URUTU-CRUZEIRA (*Bothrops alternatus*): RELATO DE CASO**

BILHALVA, L.C.1*; WINTER, A.B.2; ZAFALON-SILVA, B.3; MARQUES, S. M. T. 4; GIROTTI-SOARES, A5; VALLE, S. F.6; SOARES, J.F.1;

1Laboratório de Protozoologia e Rickettsioses Veterinárias da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. *e-mail: li.na@msn.com

2Núcleo Regional de Ofiologia de Porto Alegre, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Brasil. 3Núcleo de Conservação e Reabilitação de Animais Silvestres/Preservas, Hospital de Clínicas Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil

4Laboratório de Helmintologia da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil

5Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor-IPVDF, Eldorado-RS, Brasil.

6Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil

Biologia molecular e diagnóstico.

Em serpentes as infecções subclínicas por protozoários são relativamente comuns. Muitas vezes as manifestações clínicas só ocorrem após quedas na imunidade, causadas pelo estresse de manejo inadequado, favorecendo o desenvolvimento e a reprodução de parasitos, entre eles, os do gênero *Eimeria*. A Urutu-cruzeira (*Bothrops alternatus*) é uma serpente de grande porte, pertencente a família Viperidae, que ocorre no centro-oeste, sul e sudeste do Brasil, no Paraguai, Uruguai e Argentina. Esta espécie possui hábitos terrícolas, podendo ser encontrada em áreas abertas e úmidas. Novas espécies de *Eimeria* spp. são descritas anualmente, com ocorrência em vesícula biliar, ductos biliares e no epitélio intestinal de serpentes, lagartos e crocodilos. Oocistos esporulados de *Eimeria* spp. são caracterizados por conterem quatro esporocistos, cada um com dois esporozoítos. O presente trabalho visa relatar a presença deste protozoário em amostras fecais de *B. alternatus* mantida em cativeiro, com histórico de apatia, emagrecimento progressivo, anorexia, dissecção e reflexo de retorno ao decúbito ventral reduzido. Associados a esses sinais clínicos, também foram observados aumento de volume na mucosa oral e hiperemia compatíveis com estomatite bacteriana, uma das doenças mais comuns na clínica de serpentes, usualmente relacionada a estresse ambiental por um manejo inadequado. O animal foi atendido no Núcleo de Conservação e Reabilitação de Animais Silvestres (PRESERVAS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde foram realizados exames clínicos e colheita de materiais para exame parasitológico de fezes. Este último foi coletado de forma não invasiva e processado pelo método de Willis-Mollay, o qual permite por flutuação em sal detectar oocistos de protozoários. Em lâmina foram observados diversos oocistos. Após a esporulação em dicromato de potássio a 2,5% confirmou-se a identificação em nível de gênero como: *Eimeria*. O tratamento instituído foi Sulfametoxazol + Trimetoprima, na dose 20 mg.kg⁻¹ a cada 24 horas, administrado por via



intramuscular, associado ao uso de fluidoterapia. Após sete dias de tratamento o animal veio à óbito, entretanto, deve-se associar esse fato principalmente aos danos causados pela estomatite. Sendo assim, a avaliação da eficácia da terapêutica contra eimeriose foi comprometida, Visto que diversos patógenos podem ser carreados do ambiente silvestre para o cativeiro, torna-se necessária a associação desses sinais clínicos aos agentes causais, bem como, o conhecimento de seus ciclos e meios de transmissão, a fim de obter-se controle sanitário preventivo e a manutenção da sanidade dos animais mantidos em biotérios.

Palavras-chave: Coccidiose, serpentes, exame coproparasitológico.

Suporte financeiro: Sem suporte financeiro.



P-08

ESTUDO RETROSPECTIVO DA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM FAMÍLIAS DE BOVINOS LEITEIROS DE ARAPOTI, PARANÁ.

KONO, I.S.^{1*}; FURLAN, D.²; SAMMI, A.S.²; GARCIA, J.L.³; PEREIRA, C.E.S.⁴; OKANO, W.⁵.

¹ Graduanda em Medicina Veterinária e Iniciação Científica no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. *e-mail: isabelli.kono@gmail.com.br

² Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

³ Docente em Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

⁴ Médico Veterinário Autônomo

⁵ Docente em Medicina Veterinária, Universidade Norte do Paraná

Biologia Molecular e diagnóstico

Neospora caninum é um parasito intracelular obrigatório que infecta várias espécies animais. A neosporose é uma das principais causas de abortamento em bovinos de produção do mundo. Os canídeos são os hospedeiros definitivos enquanto que os bovinos são hospedeiros intermediários. Para o diagnóstico sorológico, a Imunofluorescência Indireta (RIFI) é considerada como padrão ouro. O objetivo do estudo foi avaliar detecção de anticorpos no soro sanguíneo para *N. caninum* em famílias de vacas leiteiras em um rebanho fechado de Arapoti, no Estado do Paraná. Os bovinos do estudo são da raça Holandesa variedade preto e branco, todos inseminados artificialmente. A técnica utilizada foi o teste de RIFI, com antígeno produzido a partir de cultura de taquizoítos de cepa NC-1. Os soros foram diluídos na proporção 1:50 e 1:100. Os considerados positivos foram aqueles que tiveram toda a superfície do taquizoíto fluorescente e títulos maiores que 100. No ano de 2015 foram 470 amostras, sendo 9 (1.91%) positivas e 461 (98.09%) negativas. Através das amostras positivas de 2015, foi pesquisado retrospectivamente os antecedentes e descendentes nos anos de 2014 e 2013. No ano de 2013, 5 de 63 amostras (8.06%) foram positivas e 57 (91.93%) negativas. Em 2014 foram testadas 25 amostras sendo 6 (24%) positivas e 19 (76%) negativas. No total foram 557 amostras, 20 (3,59%) foram positivas e 537 (96.41%) negativas. Observou-se também que o parasito se manteve no rebanho, ainda que os bovinos tenham apresentado baixo título, mesmo sem o hospedeiro definitivo, visto que não havia cães na propriedade portadores de anticorpos contra *N. caninum*. Em razão da flutuação de anticorpos, não foi possível determinar todos os indivíduos soropositivos dentro de uma família, porém houveram filhas positivas que possuíam mães também positivas, mas com baixo índice de anticorpos, o que pode ser em decorrência da estimulação do sistema imune humoral materno.

Palavras-chave: neosporose, Imunofluorescência indireta, bovinos.

Suporte financeiro: CAPES



P-09

GENÓTIPOS ATÍPICOS DE *Toxoplasma gondii* PROVENIENTES DE GALINHAS DOMÉSTICAS DO MUNICÍPIO DE VIÇOSA, ALAGOAS

SILVA, A.C.S.^{1*}; BARROS, L.D.¹; BARROS, V.M.C.²; LEÃO, W.F.B.²; KIM, P.C.P.³; ALMEIDA, J.C.³; ALCÂNTARA, A.M.³; ANDRADE, M.R.³; REGIDOR-CERRILLO, J.⁴; GARCIA, J.L.¹; ORTEGA-MORA, L. M.⁴; MOTA, R.A.³; PORTO, W.J.N.²

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. *e-mail: anavetufal@gmail.com

²Laboratório de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal de Alagoas.

³Laboratório de Doenças Infecto-Contagiosas dos animais domésticos, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

⁴Universidad Complutense de Madrid

Biologia molecular e diagnóstico

Infecções causadas por *Toxoplasma gondii* são amplamente difundidas em seres humanos e animais em todo o mundo. Galinhas domésticas são consideradas um indicador de contaminação do solo por oocistos de *T. gondii*. O objetivo desse trabalho foi isolar *T. gondii* de tecidos de galinhas domésticas sorologicamente positivas a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Amostras de cérebro de 15 galinhas positivas a RIFI foram pesadas (20g de cada) e homogeneizadas a 1:5 (p/v) em solução de cloreto de sódio 0,18%, adicionada de penicilina (500.000U/mL) e estreptomicina (100mg/mL). Posteriormente, cada órgão foi macerado isoladamente e inoculado por via intraperitoneal em camundongos Swiss de aproximadamente 30 dias de idade, que após o período de 45 dias de observação, foram eutanasiados, tiveram fragmentos de cérebro submetidos à técnica de esmagamento e observados em microscópio para visualização de cistos. Também foi realizado lavado peritoneal dos camundongos. Amostras positivas ao bioensaio foram levadas a cultivo celular, no qual foi utilizada a linhagem de células MARC-145, mantidas a 37°C e 5% de CO₂. Os isolados foram submetidos a extração, PCR e posteriormente a genotipagem por PCR-RFLP, na qual foram utilizados 11 marcadores (SAG1, SAG2, alt. SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1 e Apico). Das amostras inoculadas, foi isolado *T. gondii* de duas galinhas (amostras A21 e A25) sendo comprovada a presença de cistos com bradizoítos nos cérebros dos camundongos utilizados no bioensaio. Os camundongos apresentaram pelos ericados, apatia, dispneia, ascite e caquexia, mas nenhum deles veio a óbito. Não foram encontrados taquizoítos no lavado peritoneal dos animais. Ambos os isolados foram considerados atípicos, sendo um deles (da amostra A25) pertencente ao genótipo #146 (ToxoDB), e o segundo (amostra A21), trata-se de um genótipo nunca descrito segundo ToxoDB. A análise genética demonstrou a existência de um novo genótipo do agente na Região estudada, indicando a necessidade da realização de estudos mais aprofundados acerca dessa cepa.

Palavras-chave: Toxoplasmose, Genotipagem, Zoonose.

Suporte financeiro: CNPq.



P-10

INFECÇÃO AGUDA INDUZIDA POR *Toxoplasma gondii* CAUSA ALTERAÇÕES EM MASTÓCITOS 5HT-IR NO JEJUNO DE RATOS

PASTRE-ZULIN, M. J.1*; GÓIS, M. B.1; CASAGRANDE, L.1; PEREIRA-SERVERI, L. S.1; DE MELO, G. de A. N.1; SANT'ANA, D. de M. G.1;

1Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

*e-mail: mjpzulin@gmail.com

Categoria: Biologia molecular e diagnósticos

O protozoário *Toxoplasma gondii* é um parasito intracelular obrigatório capaz de transpor a barreira intestinal e disseminar-se pelos diferentes tecidos do hospedeiro, provocando dentre outras, alterações no trato gastrointestinal. O objetivo desse trabalho foi investigar os efeitos da infecção aguda causada por oocistos de *T. gondii* sobre células enteroendócrinas e mastócitos imunorreativos (IR) para serotonina (5HT) no jejuno de ratos. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais da UEM (nº079/2013). Foram utilizados 18 *Rattus norvegicus*, Wistar, machos, com 60 dias de idade. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em GC (grupo controle); G6 (6 horas de infecção); e G12 (12 horas de infecção). Os ratos dos grupos infectados receberam, oralmente, 5.000 oocistos esporulados de *T. gondii* (cepa ME-49). Após os períodos experimentais, os ratos foram submetidos a eutanásia, o jejuno foi retirado, mensurado, lavado, fixado e incluído em parafina. Cortes transversais semi-seriados de 4 µm de espessura foram corados pela técnica imunohistoquímica para evidenciar as células que expressam serotonina. Procedeu-se a quantificação dos mastócitos e células enteroendócrinas imunorreativas (IR) presentes em 100 campos microscópicos aleatórios em 4 cortes semi-seriados por animal com o auxílio de um microscópio óptico binocular com lente objetiva 40x. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente ($p < 0.05$) pelo teste ANOVA por meio do Software GraphPad Prism 5.01. A infecção toxoplásmica não causou diferença significativa nas células enteroendócrinas 5HT-IR nos grupos 6h ($2,64 \pm 1,38$ células/mm²) e 12h ($3,09 \pm 0,53$ células/mm²) em relação ao GC ($2,41 \pm 0,76$ células/mm²). Nos mastócitos 5HT-IR não houve alteração significativa no grupo 6h ($6,49 \pm 1,42$ células/mm²), no entanto, no grupo 12h ($17,11 \pm 5,40$ células/mm²) houve aumento dessas células em relação ao GC ($10,36 \pm 5,01$ células/mm²). A infecção aguda induzida por *T. gondii* causa aumento da expressão de mastócitos 5HT-IR na lâmina própria do jejuno de ratos. Esse aumento ocorre devido a capacidade dos mastócitos de secretarem esses mediadores químicos com a função de recrutar polimorfonucleares para o local da infecção.

Palavras-chave: Imunohistoquímica, serotonina, *Toxoplasma gondii*.

Suporte financeiro: CAPES e CNPq



P-11

INVESTIGAÇÃO PARASITOLÓGICA E MOLECULAR DE *Cryptosporidium* spp. EM CALOPSITAS (*Nymphicus hollandicus*) DOMICILIADAS

PANEGOSSI, M.F.C.^{1*}; FERRARI, E. D.¹; OLIVEIRA, B. C. M.¹; NAGATA, W. B.¹; NAKAMURA, A. A.²; MEIRELES, M. V. ¹; BRESCIANI, K. D. S.¹;

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FMVA - Unesp, Araçatuba – SP/ Brasil. *e-mail: marielepanegossi@gmail.com

²Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI, Adamantina – SP/ Brasil.;

Biologia Molecular e diagnóstico

As calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) estão entre os psitacídeos mais vendidos atualmente como animal de companhia. Devido ao estreito contato com humanos, é imprescindível atentar para medidas de prevenção, controle e diagnóstico desse parasito potencialmente zoonótico. Em aves, a infecção por *Cryptosporidium* spp. pode ser assintomática ou apresentar manifestações clínicas como diarreia e mortalidade, sendo que as espécies detectadas são *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium baileyi*, *Cryptosporidium galli* e os genótipos I, II, III, IV e V. O nosso objetivo foi realizar a investigação parasitológica e molecular de *Cryptosporidium* spp. em *Nymphicus hollandicus* mantidas em residências. Para isso, foram colhidas 100 amostras fecais de calopsitas de ambos os sexos, com idade a partir de dois meses, domiciliadas na zona urbana do Município de Araçatuba, São Paulo. Questionários em forma de entrevistas foram aplicados aos tutores, sendo os mesmos compostos por perguntas relacionadas ao manejo de seus respectivos animais. Por meio das duas técnicas utilizadas em nosso estudo para *Cryptosporidium* spp., foi detectada a ocorrência de 11%, sendo observada positividade apenas em calopsitas adultas. O coccídio foi positivo em 8%, por meio da detecção microscópica, e 9% na Reação em Cadeira da Polimerase (NestedPCR). Em relação às variáveis estudadas não foram notadas associações significativas entre elas ($p>0,05$). Após o sequenciamento dos fragmentos amplificados na NestedPCR, foi identificado o *Cryptosporidium* genótipo III de aves em cinco animais. Todas as amostras positivas na NestedPCR foram submetidas à PCR duplex em tempo real específica para detecção de *C. galli* e *Cryptosporidium* genótipo III de aves e, 8% foram positivas, todas para este genótipo. Assim, constatamos por meio das técnicas supramencionadas, a ocorrência desse agente em calopsitas exclusivamente domiciliadas.

Palavras-chave: Criptosporidiose, aves, biologia molecular

Suporte financeiro: CAPES



P-12

ISOLAMENTO DE *Toxoplasma gondii* EM ANIMAIS SELVAGENS ATROPELADOS EM RODOVIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO

VITALIANO, S.N.^{1*}; MAIA, V.F.¹; WERTHER, K.²; GENNARI, S.M.¹;

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

²Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, Brasil

*sergiovitaliano@usp.br

Biologia Molecular e diagnóstico

O atropelamento de espécies selvagens pode causar um grande impacto na biodiversidade, reduzindo a densidade de espécies e colocando-as em risco, especialmente no caso de espécies ameaçadas de extinção. A avaliação da saúde de animais de vida livre é de grande valia para o entendimento da epidemiologia de diversos patógenos, e neste sentido, o aproveitamento das carcaças de animais selvagens atropelados em estudos científicos é de extrema importância. Dentre estes patógenos, por sua importância zoonótica, destaca-se o *Toxoplasma gondii*, agente de uma das infecções mais comuns em mamíferos e aves, a toxoplasmose. E embora pesquisas indiquem que animais selvagens sejam frequentemente soropositivos para *T. gondii*, o papel da vida selvagem na transmissão desse agente não é bem conhecido, tampouco a susceptibilidade das variadas espécies a este parasito. O presente trabalho consistiu no isolamento de *T. gondii* em animais selvagens de vida livre atropelados em rodovias do estado de São Paulo. Para o isolamento do parasito foi realizado o bioensaio em camundongos. Homogenados de coração e cérebro submetidos à digestão péptica foram inoculados em grupos de cinco camundongos. Seis semanas após a inoculação, foi colhido sangue dos camundongos para a realização de testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e dois meses após a inoculação estes animais foram submetidos à eutanásia para a procura por cistos teciduais do parasito. Os animais que vieram à óbito foram examinados para a presença de formas do parasito no cérebro e pulmão. Por meio desta prova biológica foi possível isolar *T. gondii* em 03 tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) oriundos da região de Jaboticabal e em 01 jaguatirica (*Leopardus pardalis*) atropelada no sistema Imigrantes-Anchieta, na Serra-do-mar. O presente trabalho foi o primeiro relato de isolamento de *T. gondii* em jaguatiricas, uma espécie que pode servir como hospedeiro definitivo para este parasito.

Palavras-chave: *T. gondii*, Tamanduá-bandeira, jaguatirica.

Suporte financeiro: FAPESP (Nº processo FAPESP 2015/00501-5)



P-13

ISOLAMENTO DE *Toxoplasma gondii* EM ANIMAIS SELVAGENS DO PARQUE ESTADUAL DA CANTAREIRA E DE ÁREA ADJACENTES NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, SP

MAIA, V.F.1*; VITALIANO, S.N.1; GENNARI, S.M.1; MILANELO, L.2; CARVALHO, M.P.3.

1Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. e-mail: vanessa.maia@usp.br

2Parque Ecológico do Tietê (CRAS – PET), Departamento de Águas e Energia Elétrica (DAEE), São Paulo, Brasil

3Parque Estadual da Cantareira, Fundação para Conservação e Produção Florestal do Estado de São Paulo, São Paulo, Brasil

Biologia Molecular e Diagnóstico

Toxoplasma gondii é um parasito intracelular obrigatório, com distribuição geográfica cosmopolita, capaz de infectar células nucleadas de uma ampla variedade de mamíferos e aves, inclusive o ser humano. A patogenicidade da infecção por *T. gondii* nas diversas espécies varia muito, mesmo dentro de uma mesma classe as diferenças de susceptibilidade podem ser extremas. Nos animais, o interesse na avaliação da ocorrência de toxoplasmose é maior em torno das espécies que coabitam com o homem ou que lhe servem de fonte de alimento, porque estes animais podem desempenhar o papel de reservatórios das infecções humanas. Embora pesquisas indiquem que os animais selvagens são frequentemente positivos nos testes sorológicos para *T. gondii*, o papel da vida selvagem na transmissão desse agente não é bem conhecido, tampouco qual perfil biológico do parasito predomina nos animais selvagens infectados. Para tanto, é necessário o isolamento do parasito, realizado por meio de inoculação em camundongos, sendo a observação direta por microscopia óptica de formas do parasito a confirmação do diagnóstico. O presente estudo tem como objetivo isolar *T. gondii* de animais selvagens naturalmente infectados oriundos do Parque Estadual Cantareira, localizado na região metropolitana da grande São Paulo, SP. Até o presente momento foi realizado o bioensaio de 06 amostras oriundas do parque, sendo uma amostra de capivara (*Hydrochoerus Hydrochaeris*), uma de morcego (*Myotis* sp.) e quatro de bugios-ruivos (*Alouatta guariba clamitans*). E como resultado parcial, foi possível isolar *T. gondii* de uma capivara (*Hydrochoerus Hydrochaeris*), as outras amostras tiveram resultados negativos tanto na sorologia, pelo Teste de Aglutinação Modificado (MAT), bem como na pesquisa de cistos cerebrais por microscopia óptica direta dos camundongos inoculados.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, isolamento, animais selvagens.

Suporte financeiro

FAPESP (Nº processo 2016/14815-4)



P-14
MENINGOENCEFALITE ASSOCIADA À CINOMOSE E TOXOPLASMOSE EM CÃO

PASCHOAL, A.T.P.^{1*}; CALDART, E.T.¹; CAMACHO, C. A.²; SIQUEIRA, R.C.S.²; LADEIA, W.A.²; FABRETTI, A.K.³

¹Discente de Pós-graduação, Universidade Estadual de Londrina. *e-mail: ticianipaschoal@gmail.com.

² Discente do curso de Medicina Veterinária, Universidade estadual de Londrina.

³ Prof. MSc. Doutorando, Departamento de Clínicas Veterinárias e de Histologia, Universidade Estadual de Londrina.

Biologia Molecular e diagnóstico

A meningoencefalite (ME) consiste na inflamação das meninges e encéfalo, a qual possui diversas etiologias, como: doenças infecciosas, neoplásicas e imunomediadas. Clinicamente, resulta em sinais neurológicos diversos, como síndrome vestibular (SV), cerebelar, convulsão, ataxia, etc. Este trabalho relata o caso de um cão, pastor branco suíço, de três anos, com histórico vacinal inadequado atendido no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL) que começou a apresentar alterações neurológicas após uma anestesia para tratamento de saculite adanal. A neuropatia clínica foi classificada como SV central. Manifestava também, dispneia e febre persistentes. Foram realizados exames hematológicos, os quais não apresentaram alterações. Além disso, foram realizados exames sorológicos para toxoplasmose e neosporose e reação de cadeia da polimerase (PCR) para cinomose, os resultados encontrados foram: positivo para cinomose, reagente para toxoplasmose (título 1:1024) e não reagente para neosporose. Sua piora clínica, com o desenvolvimento de coma justificou sua eutanásia. Posteriormente ao se realizar a necropsia não foram observadas alterações macroscópicas no sistema nervoso. No exame histopatológico, foi evidenciado ME multifocal acentuada, sendo visualizados cistos intralésionais compatíveis com *T. gondii*. A não vacinação correta do paciente pode ter permitido a contração da cinomose, a imunodepressão provocada pelo vírus ou ainda pelo estresse decorrente da saculite adanal e procedimentos de anestesia e lavagem da glândula adanal, deve ter facilitado a expressão clínica da toxoplasmose e a associação dessas doenças deu origem a sintomatologia descrita. Além disso, a persistência da hiperêmia de mucosas (mesmo com normohidratação), piroxia e dispneia, poderiam ser indícios de sepse, promovida pela imunodepressão oriunda da cinomose. As doenças infecciosas, especialmente virais e protozoárias, são etiologias comuns de ME em cães e devem ser investigadas em todos os animais que apresentem neuropatias.

Palavras-chave: cães; neuropatia; síndrome vestibular

Suporte financeiro: UEL



P-15
NEOSPOROSE HEPÁTICA EM UM CÃO: ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS

CARREIRA, L.P.C.N.¹; JEANFELICE, B.C.S.¹; PEREIRA, A.H.T.¹; GARCIA, J.L.¹; HEADLEY, S.A.¹; DI SANTIS, G.W.^{1*}.

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

*giovanaws@uel.br

Biologia molecular e diagnóstico.

A neosporose é causada pelo *Neospora caninum*, um protozoário intracelular obrigatório formador de cistos. Afeta animais domésticos e silvestres, no entanto, seu principal hospedeiro definitivo é o cão e o bovino é o hospedeiro intermediário mais comum. Em ambas as espécies pode haver a transmissão via transplacentária para o feto durante a gestação, sendo causa de abortamentos em vacas. Este trabalho objetiva relatar os aspectos clínicos e patológicos de um caso de neosporose hepática em um cão. Foi encaminhado para necropsia um cadáver canino, fêmea, sem raça definida, com 90 dias de idade, atendido previamente em clínica veterinária com histórico de anorexia, vômito, fezes pastosas e urina densa. No exame físico observaram-se mucosas ictéricas, dor à palpação abdominal, hepatomegalia e esplenomegalia. Na avaliação hematológica constataram-se anemia, leucopenia (2.600) e trombocitopenia (130.000), e nos exames bioquímicos séricos foi detectado um aumento crítico de alanina aminotransferase (3.619,10) e fosfatase alcalina (3.613,14). Além disso, foi realizada ultrassonografia abdominal e pôde-se observar sinais de inflamação e ascite. Suspeitou-se de hemoparasitoses e hepatite infecciosa, no entanto, o animal veio a óbito. À necropsia observaram-se hemorragia pulmonar, em diafragma e rim, esplenomegalia com hiperplasia da polpa branca e fígado discretamente aumentado, com aspecto mosqueado difusamente, marcado por alternância de áreas vermelho-escuras, pálidas e amareladas, com demarcação do padrão lobular. Microscopicamente, no fígado notaram-se desorganização trabecular acentuada, dilatação sinusoidal, áreas de necrose lítica grave multifocais a coalescentes, aleatórias, com focos de mineralização, infiltrado inflamatório mononuclear multifocal e áreas com discreta vacuolização goticular dos hepatócitos. No rim pôde-se constatar discreta infiltração de linfócitos no interstício e moderada degeneração do epitélio tubular. No sistema nervoso central havia pequenos nódulos gliais em substância branca e cinzenta, discreta quantidade de células mononucleares perivasculares e edema discreto perineuronal. No coração observou-se discreta quantidade de células mononucleares em região perivascular. Nestes órgãos também pode-se observar estruturas circulares ou alongadas eosinofílicas contendo pontilhado basofílico espesso. A partir destes resultados suspeitou-se de toxoplasmose e/ou neosporose e amostras teciduais foram encaminhadas para avaliação imuno-histoquímica na qual confirmou-se a infecção por *N. caninum*. Em casos de afecções hepáticas graves em filhotes de cães, a neosporose hepática se torna um importante diagnóstico diferencial, especialmente considerando-se a via de transmissão transplacentária. O diagnóstico precoce é vital, pois a lesão hepática é grave e aguda, além disso, deve-se considerar a transmissão da doença para bovinos com conseqüente abortamento em vacas, no caso de cães que habitam a zona rural.

Palavras-chave: transplacentária, imuno-histoquímica, taquizoítos



P-16

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*NEOSPORA CANINUM* EM VACAS E FETOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICO NA REGIÃO DE OURINHOS- SP.

DINIZ, L.V.A.¹; SAMPAIO, F.E.A.¹; MINUTTI, A.F.²; NINO, B.S.L.²; GARCIA, J.L.²; ALMEIDA, B.F.M.¹; BARROS, L.D.^{1*}

¹Departamento de Medicina Veterinária, Faculdades Integradas de Ourinhos, São Paulo, Brasil. *e-mail: luizdanielbarros@gmail.com

²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

Biologia Molecular e diagnóstico.

Neospora Caninum é um parasita intracelular obrigatório que infecta animais domésticos e silvestres, sendo responsável por elevados prejuízos econômicos na bovinocultura mundial devido aos problemas reprodutivos que causa. A transmissão transplacentária é a principal via de transmissão nos bovinos, sendo responsável pela manutenção do parasita no rebanho. O objetivo do presente estudo foi determinar a ocorrência de anticorpos anti- *N. Caninum* em fêmeas bovinas e seus respectivos fetos abatidos em um frigorífico da região de Ourinhos-SP. Foram coletadas amostras de soro 93 vacas e seus respectivos fetos, totalizando 186 amostras. Foi realizada reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para a detecção dos anticorpos anti-*N. caninum*. Das 186 amostras analisadas, 14 amostras foram consideradas positivas, sendo 11 vacas (11,82%) e 3 fetos (3,22%). Dos 3 fetos positivos, 2 eram provenientes de vaca soropositiva, enquanto que 1 era de vaca soronegativa. Os títulos de anticorpos das vacas positivas foram 100 (3/11; 27,27%), 200 (3/11; 27,27%), 400 (4/11; 36,36%) e 800 (1/11; 9,09%). Já nas amostras dos fetos, os títulos observados foram 100 (1/3; 33,33%), 200 (1/3; 33,33%) e 400 (1/3; 33,33%). Os resultados demonstram a presença de vacas soropositivas na região de Ourinhos-SP além da ocorrência da transmissão vertical do *N. caninum* nesses animais. Estudos adicionais estão sendo conduzidos para realizar a detecção molecular e caracterização do parasita.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, sorologia, bovinos.

Suporte financeiro: FAPESP- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.



P-17
OCORRÊNCIA DE COCCIDIOSE EM MACHOS SUÍNOS ADULTOS

GABANA, A.M.1*; PASCHOAL, A.F.L.2.; QUIRINO, M.2; SILVEIRA, D.F.2; GODOI, L. R.2; MELLAGI, A. P. G.2; SOARES, J.F.1

1Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

2Setor de Suínos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

*amandagabana@hotmail.com

Biologia Molecular e Diagnóstico

A coccidiose é uma enfermidade que pode acometer suínos jovens em fase de crescimento e terminação, resultando em aumento na conversão alimentar e redução no desempenho. No entanto, a coccidiose não é comum em suínos adultos. O estudo objetivou verificar a infecção de reprodutores suínos adultos com idade de 8 a 35 meses em uma Central de Difusão Genética (CDG) localizada no estado do Rio Grande do Sul. Foram coletadas amostras fecais diretamente da ampola retal de 156 machos. Realizou-se o teste de contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG) - Técnica de Gordon & Whitlock - exame qualitativo e quantitativo para pesquisa de oocistos. Foram classificados como positivos para coccidiose 49 dos 156 reprodutores avaliados (31,4%). Foi observado por GOMES, A (2009), uma porcentagem de 53,6% para *Eimeria* spp. Esses resultados são superiores aos encontrados no presente estudo. Em contrapartida, um trabalho mais recente de D'ALENCAR, et al (2016) avaliou a presença de helmintos e coccídeos em criação de suínos em sistema confinado e os reprodutores não apresentaram infecção por protozoários. AGUIAR (2009) nos seus resultados a respeito de parasitoses gastrointestinais de suínos de criações familiares, obteve 29,5% positivos do total de animais para a presença de protozoários e uma frequência de 25,5% para coccídeos, dos suínos monoparasitados, números próximos ao desse trabalho, embora os sistemas de criação sejam diferentes. Isso demonstra que as práticas de manejo sanitário e anti-parasitário são indispensáveis, independentemente do sistema desenvolvido e do manejo. Apesar de não haver manifestações clínicas dos reprodutores neste caso, o mesmo demonstra a necessidade de novas pesquisas em indivíduos adultos, visto que esses animais podem atuar como portadores e disseminadores. É indispensável que se conheça a fauna parasitária desses animais para que se invista no tratamento e, conseqüentemente na prevenção. Novos estudos serão realizados para identificação das espécies de parasitas encontradas bem como, para estabelecer protocolos terapêuticos específicos para esta categoria de suínos.

Palavras-chave: oocistos, avaliação coproparasitológica, parasitose.



P-18

OCORRÊNCIA DE *Cryptosporidium* spp. EM PSITACÍDEOS EXÓTICOS MANTIDOS EM CATIVEIRO NAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL: AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÃO MOLECULAR

FERRARI, E. D.^{1*}; NAKAMURA, A. A.²; SANTANA, B.N.¹; CAMARGO, V. S.¹; NARDI, A. R. M.³; PANEGOSSO, M. F. C.¹; OLIVEIRA, B. C. M.¹; BRESCIANI, K. D. S.¹; MEIRELES, M. V.¹;

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FMVA - Unesp, Araçatuba – SP/ Brasil. *e-mail: elisd.ferrari@yahoo.com.br

²Centro Universitário de Adamantina – UNIFAI, Adamantina – SP/ Brasil.;

³Fundação Municipal de Ensino Superior, Bragança Paulista – SP/ Brasil.

Biologia Molecular e diagnóstico

A criptosporidiose é uma das principais enfermidades de aves causadas por protozoários, envolvendo o trato respiratório ou digestivo. O objetivo deste estudo foi avaliar a microscopia e a *nested* PCR (*nPCR*) para detecção de *Cryptosporidium* spp. e a PCR duplex em tempo real (RT-PCR) para detecção de *Cryptosporidium galli* e *Cryptosporidium* genótipo III de aves em psitacídeos. Foram coletadas 463 amostras de fezes de 24 espécies de aves provenientes de 36 criatórios localizados em estados das regiões sul e sudeste do Brasil. A purificação e concentração dos oocistos foram realizadas por meio de centrífugo-flutuação em solução de Sheather. Para análise microscópica, utilizou-se a coloração negativa com verde malaquita. As amostras foram submetidas à extração do DNA genômico dos oocistos e analisadas por meio de *nPCR* para amplificação de fragmento parcial da subunidade 18S do rRNA de *Cryptosporidium* spp., seguida de sequenciamento dos fragmentos amplificados. Pela RT-PCR, as amostras foram testadas especificamente para *C. galli* e *Cryptosporidium* genótipo III de aves. A ocorrência de *Cryptosporidium* spp. pela microscopia e *nPCR* foi de 3,02% (14/463) e 4,97% (23/463), respectivamente. Pelo sequenciamento dos fragmentos amplificados na *nPCR*, houve positividade de 1,73% (8/463) para *Cryptosporidium* genótipo III de aves, 0,86% (4/463) para *Cryptosporidium parvum* e 0,22% (1/463) para *Cryptosporidium canis*. Pela RT-PCR, a positividade foi de 9,50% (44/463) para espécies gástricas deste parasito, sendo 1,94% (9/463) para *C. galli*, 7,34% (34/463) para genótipo III de aves e 0,22% (1/463) apresentaram infecção mista. Dentre as técnicas para detecção de *Cryptosporidium* spp., a *nPCR* obteve resultado superior à microscopia com coloração de verde malaquita. Quanto a detecção de espécies gástricas de *Cryptosporidium*, a RT-PCR obteve resultado superior àquele da *nPCR* seguida de sequenciamento dos fragmentos amplificados.

Palavras-chave: Criptosporidiose, aves, PCR.

Suporte financeiro: CAPES, FAPESP.



P-19

PREVALÊNCIA DE *Eimeria* spp EM OVINOS NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ

CARNEIRO, P.G.^{1*}; SASSE, J.P.¹; CARDIM, S.T.¹; SEIXAS, M.¹; MINUTTI, A.F.¹; PASCHOAL, A.T.P.¹ GARCIA, J.L.¹.

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

*pirt1987@hotmail.com

Biologia Molecular e diagnóstico.

A coccidiose é uma doença infecciosa intestinal causada por protozoários intracelulares obrigatórios do gênero *Eimeria*, pertencente ao filo Apicomplexa. Têm sido considerada uma das parasitoses mais comuns em rebanhos do mundo todo, parasitando aves, ruminantes, equinos e coelhos. Esses coccídios são economicamente importantes em várias espécies, principalmente na criação de ovinos e caprinos. O presente projeto teve como objetivo avaliar a prevalência de *Eimeria* e suas principais espécies, em ovinos oriundos de propriedades do norte do estado do Paraná, Brasil. Foram colhidas amostras de fezes, diretamente da ampola retal, de 347 ovinos de ambos os sexos, jovens e adultos, provenientes de 9 propriedades. Em seguida procedeu-se a identificação das amostras positivas por meio da contagem de oocistos por grama de fezes (oopg) e a diferenciação das espécies através da micrometria dos oocistos. As amostras positivas foram conservadas em placas com dicromato de potássio 2,5% para esporulação e posteriormente nova micrometria dos oocistos. Das 347 amostras coletadas, 273 (78,7%) foram positivas para *Eimeria* spp., das quais 96 amostras com contagem de oopg acima de 1000 foram separadas para identificação das espécies. Das positivas foram identificados oocistos de 10 espécies de *Eimeria*, com a seguinte prevalência: *E. ovinoidalis* (96,87%), *E. parva* (84,4%), *E. crandallis* (79,20%), *E. bakuensis* (54,2%), *E. pallida* (31,25%), *E. faurei* (30,2%), *E. granulosa* (29,2%), *E. ahsata* (15,62%), *E. intricata* (8,33%), *E. punctata* (1,04%). Diante dos dados a *E. ovinoidalis* considerada patogênica, foi a mais prevalente, seguida pela *E. parva* e *E. crandallis* também patogênica. Devido à ausência de dados referente a eimeriose ovina na região norte do estado do Paraná, podemos concluir que a alta prevalência de animais positivos encontrados neste estudo, mostra a importância do desenvolvimento de mais pesquisas, visto que a criação de ovinos de corte nessa região tem aumentado e essa doença influencia diretamente no ganho de peso dos animais, levando a grandes prejuízos econômicos.

Palavras-chave: eimeriose, ovinocultura, oopg.

Suporte financeiro: CAPES



P-20

PRIMEIRA DESCRIÇÃO DO SUBTIPO Ika20G1 de *C. hominis* E DETECÇÃO POR MEIO DO GP60 DE GENÓTIPOS *C. parvum* IlaA18G3R1 e IlaA15G2R1 NO BRASIL

INÁCIO, S.V.¹; WIDMER, G.²; GOMES, J.F.³; BRITO, R.L.L.¹; OLIVEIRA, B.C.M.¹; ZUCATTO A.S.¹; AQUINO M.C.C.¹; FERMINO, B. R.⁴; MEIRELES, M. V.¹; BRESCIANI, K.D.S.^{1*}

¹Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, São Paulo, Brasil. *sandra_byol@yahoo.com.br

²Department of Infectious Disease & Global Health, Cummings School of Veterinary Medicine at Tufts University, North Grafton, Massachusetts, USA

³Departamento Sistema de Informações do Instituto de Computação e Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil.

⁴USP – Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Parasitologia, São Paulo, Brasil

Biologia molecular e diagnóstico

A diarreia é um dos sintomas que podem ocorrer em equinos parasitados e foi constatada de forma intermitente ou crônica, associada à perda de peso, inapetência e letargia. Esta espécie animal é geralmente infectada por *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium* genótipo horse e um relato mais recente por *Cryptosporidium hominis*. O presente estudo enfoca as infecções por *Cryptosporidium* de potros no Brasil. Um total de 92 animais de diferentes raças de 11 fazendas da cidade de Araçatuba, São Paulo, foram examinados. De acordo com a análise de PCR gene 18S rRNA, *Cryptosporidium* spp. o DNA foi detectado em 21,7% (20/92) de potros. A amplificação por PCR de um fragmento do gene GP60 revelou genótipos de *C. parvum* IlaA18G3R1, IlaA15G2R1 e genótipo de *C. hominis* Ika20G1.

Palavras-chave: Biologia molecular, equino, parasito

Suporte financeiro: FAPESP 2010/52542-3