

PRIMEIRO ACHADO DE *Hydatigera taeniaeformis* EM *Leopardus geoffroyi*

MARIANA FREITAS DE ANDRADE¹; LUÍSE NUNES BONNEAU DE ALBUQUERQUE²; GIULIA RIBEIRO MEIRELES³; KAUÊ RODRIGUEZ MARTINS⁴; JULIA SOMAVILLA LIGNON⁵; DIEGO MOSCARELLI PINTO⁶

¹UFPel – marianafandra@gmail.com

²UFPel – luisenb@outlook.com

³UFPel – giuliaribeiromeireles@gmail.com

⁴UFPel – kauerodriguez@gmail.com

⁵UFPel – julialignon@gmail.com

⁶UFPel – dimoscarelli@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Leopardus geoffroyi, popularmente conhecido como gato-do-mato-grande, é um felino endêmico da região do pampa no Brasil, e de outros países vizinhos como Argentina, Bolívia, Chile, Paraguai e Uruguai, que sofre constantemente com a perda de seu habitat natural, caça ilegal, predação e patógenos (MARGARIDO; BRAGA, 2004).

Os felídeos possuem comportamento predatório e assim, podem infectar-se ao ingerirem formas larvais de helmintos presentes em suas presas e/ou carregar ectoparasitos como carrapatos, pulgas e ácaros normalmente encontrados em suas presas e/ou em sua própria espécie, que podem servir como vetores biológicos ou mecânicos de agentes de diversas doenças aos animais silvestres e domésticos, inclusive ao homem (SARAIVA et al., 2014).

As doenças parasitárias podem desempenhar um papel importante na redução populacional da fauna silvestre, já que esses animais hospedam uma grande variedade de parasitos, e os distúrbios que eles causam estão entre as doenças mais prevalentes e importantes (ROJAS et al., 2024).

Assim, a investigação sobre parasitas de animais silvestres é importante no contexto da conservação e bem-estar dessas populações. Portanto, esse trabalho tem como objetivo descrever o primeiro achado de *Hydatigera taeniaeformis* em *Leopardus geoffroyi*.

2. METODOLOGIA

Um gato-do-mato-grande foi necropsiado no Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas, onde foram encontrados no intestino delgado do animal oito espécimes de cestódeos com proglótides imaturas, as quais foram limpas com 0,85% de solução salina e fixadas com solução de 70% de etanol. A identificação taxonômica e a análise molecular foram realizadas pelo laboratório do Grupo de Estudos em Enfermidades Parasitárias da UFPel.

Os cestódeos foram corados com Carmim e montados em lâminas onde foram analisados morfometricamente, levando em consideração o número de ganchos e os tamanhos dos ganchos e das ventosas (LOOS-FRANK, 2000; NAKAO et al., 2013). Os espécimes foram fotografados usando uma lupa estereoscópica e um microscópio óptico.

Para realização da PCR, o DNA de dois cestódeos foram extraídos usando o método Trizol. As amostras de DNA foram quantificadas usando um

espectrofotômetro com luz UV. Somando a isso, foi realizada eletroforese com gel de agarose a 1% para confirmar a integridade do material extraído.

A PCR foi realizada utilizando-se os seguintes primers: JB3 (5' GCGAATRGCTCATTACAACAGC 3') e JB4.5 (5' GGGCGGTATCTGATGCC 3') como descritos por BOWLES; MCMANUS (1994), e assim amplificando em 420 pares de base da subunidade I do gene mitocondrial do citocromo C oxidase (COX1) (GOMEZ-PUERTA et al., 2023). Na reação foram usados 25 µL, sendo divididos em: 2 µL de DNA; 2 µL de dNTP; 1 µL de cada primer; 2,5 µL de tampão (10x); 1,25 µL MgCl₂ (50mM); 0,25 µL da taq DNA polimerase e 15 µL de água altamente purificada.

A amplificação realizada no termociclador foi feita nas seguintes etapas: desnaturação inicial em 94 °C por dois minutos, seguido de 35 ciclos a 95 °C durante um minuto, 50 °C por um minuto, 72 °C por um minuto e a última extensão por 72 °C por 10 minutos, e 4 °C ∞. O DNA da *Taenia saginata* foi usado como controle positivo e água ultra pura foi usado como controle negativo. Os produtos amplificados foram analisados em eletroforese com gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídio (0,5 µg/ml), e visualizado sob a luz ultravioleta. Um marcador de peso molecular com 100 bp foi usado.

Os amplicons foram recortados e purificados com um kit de purificação de gel, seguindo as recomendações do fabricante, sendo submetidos para o sequenciamento genético. As sequências foram alinhadas usando o software MEGA11: *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* e o método *ClustalW*. Foram realizadas buscas por sequências similares no Centro Nacional de Informação de Biotecnologia (NCBI) usando a ferramenta BLAST, e assim, uma análise evolutiva foi realizada pelo MEGA11, usando o método de máxima verossimilhança e o modelo de Hasegawa-Kishino-Yano. A análise estatística foi feita por meio de bootstrap pelo método de 1000 repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa pesquisa, os cestódeos coletados no intestino do *L. Geoffroyi* apresentavam características morfométricas e moleculares que correspondiam a *H. taeniaeformis* (Sinônimo de *Taenia taeniaeformis*).

De acordo com a literatura científica, o escólex da *H. taeniaeformis* apresenta quatro grandes ventosas localizadas nas suas laterais, com duas coroas de ganchos contendo cerca de 30 e 42 ganchos. Estas, estão organizadas em formato circular e com alternância entre ganchos pequenos e grandes. A variação de tamanhos na respectiva ordem são de 0,21-0,28 mm e 0,36-0,46 mm. O colo deste platelminto é pequeno em comprimento e tem a mesma largura que o escólex, o qual está localizado na frente do pescoço deste animal. Outra característica observada são as proglótides maduras e imaturas apresentarem formato de “ sino” e demonstrarem serem maiores em largura do que em comprimento nos segmentos posteriores (LOOS-FRANK, 2000; NAKAO et al., 2013).

As proglótides grávidas são alongadas (NAKAO et al., 2013) mas elas não foram observadas nos espécimes deste trabalho, já que apresentavam apenas proglótides imaturas.

Baseado nas observações morfológicas, *H. taeniaeformis* pode ser diferenciada de outras espécies da família Taeniidae, principalmente pelo tamanho e quantidade dos ganchos no rostelo (LOOS-FRANK, 2000). Entretanto,

o uso de ferramentas moleculares tem sido usado como um complemento na identificação taxonômica dos cestódeos (GOMEZ-PUERTA et al, 2023).

A nossa sequência obtida da amostra de cestódeo neste estudo foi depositado no NCBI GenBank com número de acesso PP860084 e mostrou uma compatibilidade de 99-100% com outras sequências da *H. taeniaeformis* deste mesmo banco de dados (números de acesso ao GenBank: AB745096, OP897053, OQ786791, KT693055, MH036509, OQ569225, OQ281682, MF380375, and EF090612). Além disso, o estudo filogenético mostrou a posição dos isolados desta espécie no mesmo clado, e distinta de todas as outras espécies de *Taenia* encontradas parasitando felídeos silvestres.

No Brasil, apenas quatro espécies de Taeniidae parasitando *L. geoffroyi* foram registradas até o momento: *T. macrocystis*, *T. omissa*, *T. pisiformis* e *Echinococcus oligarthrus* (VIEIRA et al., 2008). Em contraste, *H. taeniaeformis* foi identificado em outros felinos, como gatos domésticos (*Felis catus*) (WILCOX et al., 2009) e pumas (*Puma concolor*) (VIEIRA et al., 2008) no Brasil, linceus eurasiáticos (*Lynx lynx*) na Finlândia (LAVIKAINEN et al., 2016) e gatos selvagens europeus (*Felis silvestris*) na Romênia (MEDERLE et al., 2023). Há também relatos esporádicos em humanos de países como Argentina, Sri Lanka, República Tcheca, Dinamarca e Taiwan (EKANAYAKE et al., 1999). Portanto, este é o primeiro registro de *H. taeniaeformis* parasitando *L. geoffroyi* no Brasil, o que expande o número de espécies hospedeiras conhecidas.

4. CONCLUSÕES

Com base nos estudos morfológicos e moleculares, foi possível concluir que o cestódeo encontrado no *L. geoffroyi* era da espécie *H. taeniaeformis*. Ressalta-se a importância deste trabalho, já que apesar de ser comumente conhecida como “tênia dos gatos”, ainda não havia sido descrita parasitando esta espécie de gato silvestre.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EKANAYAKE, S. et al. 1999. An unusual ‘infection’ of a child in Sri Lanka with *Taenia taeniaeformis* of the cat. **Annals of tropical medicine and parasitology**, Sri Lanka, v.93, p.869-873, 1999.
- MARGARIDO, T.C.C.; BRAGA, F.C.. Mamíferos. In: MIKICH, S.B.; BERNILS, R.S. **Livro Vermelho da Fauna Ameaçada no Estado do Paraná**. Curitiba: IAP. 763 p. 2004.
- SARAIVA, D.G. et al. Feeding period required by *Amblyomma aureolatum* ticks for transmission of *Rickettsia rickettsii* to vertebrate hosts. **Emerging Infectious Diseases**, Brasil, v. 20, n.9, p.1504–1510, 2014.
- ROJAS, A. et al. Wildlife parasitology: sample collection and processing, diagnostic constraints, and methodological challenges in terrestrial carnivores. **Parasites & Vectors**, Costa Rica, v. 17, n. 1, p. 127, 2024.
- MEDERLE, N. et al. Intestinal endoparasitism in wild cat (*Felis silvestris*) from Banat area (Romania). **Helminthology**, Romênia, v. 60, p.161-165, 2023.

NAKAO, M. et al. Molecular phylogeny of the genus *Taenia* (Cestoda: Taeniidae): Proposals for the resurrection of *Hydatigera* Lamarck, 1816 and the creation of a new genus *Versteria*. **International Journal for Parasitology**, Japão e Finlândia, v. 43, n. 6, p. 427–437, 2013.

LAVIKAINEN, A. et al. Reappraisal of *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda: Taeniidae) sensu lato with description of *Hydatigera kamiyai* n. sp. **International Journal for Parasitology**, v.46, p.361–374, 2016.

LOOS-FRANK, B. An up-date of Verster's (1969) 'Taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus' (Cestoda) in table format. **Systematic Parasitology**, Stuttgart, v. 45, n. 3, p. 155–184, 2000.

GOMEZ-PUERTA, L. A. et al. Identification of wild rodents as intermediate hosts for *Hydatigera taeniaeformis* in Peru. **Parasitology Research**, Peru, v. 122, n. 8, p. 1915–1921, 2023.

VIEIRA, F.M. et al. Checklist of helminth parasites in wild carnivore mammals from Brazil. **Zootaxa**, v.1721, p.1–23, 2008.

WILCOX, R.S. et al. Intestinal obstruction caused by *Taenia taeniaeformis* infection in a cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 45, p. 93-96, 2009