

E. Ciências Agrárias - 5. Medicina Veterinária - 3. Medicina Veterinária Preventiva

PCR PARA REGIÃO RIBOSSOMAL 18S A 5.8S DE NEOSPORA CANINUM E CARACTERIZAÇÃO DA TRANSMISSÃO CONGÊNITA EM CONCEPTOS BOVINOS PROVENIENTES DO SUL DE MINAS GERAIS

Michele Placedino Andrade, 8º módulo de Medicina Veterinária¹

Domingos S. Santos, Pós-graduando em Ciências Veterinárias¹

Raquel de Lima, 9º módulo de Medicina Veterinária¹

Antônio Marcos Guimarães, Co-orientador - DMV¹

Mary Suzan Varaschin, Co-orientadora - DMV¹

Christian Hirsch, Orientador - DMV¹

1. Universidade Federal de Lavras

RESUMO:

A identificação precisa da etiologia de abortos em bovinos é complexa e, muitas vezes, não se chega a um diagnóstico final. Em relação à etiologia microbiana, contribui para esta situação a multiplicidade de agentes envolvidos, o estado de preservação das amostras clínicas, a quantidade e distribuição do agente na amostra e a sensibilidade e especificidade diagnóstica da técnica empregada. Esta situação resulta em insegurança em relação à preconização de medidas de controle e profilaxia dos problemas microbianos relativos à reprodução dos bovinos. Nesse contexto se insere a neosporose, uma importante causa de abortos nesta espécie. O trabalho propôs padronizar uma PCR para diagnóstico molecular da neosporose congênita bovina. A região alvo de amplificação foi àquela compreendida entre o DNA ribossomal 18S e o 5.8S, com a produção de um amplificado de 588pb. Este fragmento se estende da posição 4 a posição 592 na seqüência de referência L49389 (Genbank), de acordo com publicações anteriores. Para se obter este amplificado, foi utilizado um par de iniciadores denominado de LAV1 e TIM11, sendo o primeiro desenhado especificamente para este trabalho e o segundo retirado de trabalhos progressos. A reação foi padronizada em volume final de 20µl, com uma concentração de MgCl₂ 1,5 mM e temperatura de alinhamento a 49°C durante 30 segundos. Como controle positivo de amplificação foi empregado DNA genômico total extraído de cultura de taquizoítos de *N. caninum* NC-1 em células Vero. Como controle negativo foi empregado DNA genômico total extraído de cultura de células MDBK. As amostras clínicas consistiram em 24 conceptos bovinos, na forma de fetos ou neonatos mortos, encaminhados ao serviço de patologia veterinária do DMV/UFLA, oriundos da região Sul de Minas Gerais. O DNA genômico total foi extraído de alíquotas de 40mg de músculo cardíaco e encéfalo. Cada DNA foi testado quali-quantitativamente antes de ser submetido a PCR. Para confirmação da especificidade analítica desta, foram seqüenciados três produtos purificados e o resultado foi submetido ao programa BlastN (NCBI). Os resultados obtidos mostraram que a seqüência alvo é específica para *N. caninum*, diferenciado-o de outros membros da subfamília Toxoplasmatinae. Das amostras clínicas testadas, foram obtidos cinco resultados positivos (20,8% dos conceptos), todos em DNA de encéfalo e nenhum de DNA de miocárdio. Este resultado confirma a ocorrência de transmissão congênita de *N. caninum* no sul de Minas Gerais.

Instituição de Fomento: FAPEMIG

Palavras-chave: Neospora caninum, DNA ribossomal, bovinos.

XXIII CIUFLA