

e mortalidade neonatal. O presente trabalho pesquisou a ocorrência de anticorpos IgG contra *T. gondii* caprinos da Bahia, Brasil. Foram coletadas amostras de sangue de caprinos adultos, SRD, machos e fêmeas, nas cidades de Sento Sé, Uauá e Curaçá (50 animais em cada uma), localizadas na região semiárida da Bahia, em 2012. Os níveis de anticorpos anti-*T. gondii* no soro de cada animal foram verificados por ELISA indireto. Microplacas foram sensibilizadas com 100 µL/poço de uma solução antigênica de *T.gondii* (0,1 g/dL de proteína total), diluído na proporção de 1:100 em tampão carbonato pH 9,6, com incubação durante 24 h a 4°C. Depois, 100 µL de soro por animal (diluído 1:100 em PBS acrescido de Tween 20 a 0,05% e de leite em pó desnatado a 0,25%) foi distribuído em duplicata e incubado por 1h a 37°C. Após lavagem, foi adicionado 100 µL/poço de anti-IgG caprina ligada à peroxidase (diluído 1:5000 na mesma solução anterior), as placas foram incubadas por 45 minutos a 37°C e depois lavadas novamente. Finalmente, foi adicionado 100 µL/poço do substrato (40mg de ortofenilenodiamina em 100mL de tampão citrato fosfato pH 5,6 e 150µL de H₂O₂) e incubado por 30 minutos. A reação foi sustada com 50 µl de 0,1M H₂SO₄/poço e a densidade óptica (DO) foi medida com filtro de 492nm. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da UFBA. Em Curaçá foi encontrado 2% (1/50) de animais soropositivos para *T. gondii*, entretanto, nenhum foi encontrado em Sento Sé ou Uauá. Do total de 150 amostras, foi observada uma frequência de 0,66% positivos. Houve uma baixa frequência de animais com anticorpos contra *T. gondii* nas amostras estudadas. Um trabalho anterior realizado na região de Caatinga da Bahia foi encontrada uma frequência de 7,27% (12/165) caprinos soropositivos, mas foi utilizado o teste de aglutinação em látex (GONDIM, L.F.P. et al. Vet Parasitol. 82:273–276, 1999). Assim, mostra-se a importância de ser investigada a presença de *T. gondii*, bem como outras zoonoses parasitárias nos animais domésticos, utilizando-se novos métodos diagnósticos.

Palavras-chave: anticorpos, toxoplasmose, caprinos.

SAÚDE E PRODUÇÃO DE RUMINANTES E EQUÍDEOS P-186

DETECÇÃO DE BRUCELLA ABORTUS EM TECIDOS BOVINOS UTILIZANDO ENSAIOS DE PCR E QPCR

Marrielen Aparecida Benites Caitano¹; Cleber Eduardo Galvão Carvalho²; Carlos Alberto do Nascimento Ramos³; André Luiz Julien Ferraz⁴; Cleber Oliveira Soares⁵; Grácia Maria Soares Rosinha⁵

¹Aluna de mestrado do programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), ²Aluno de doutorado do programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), ³Bolsista DTI/CNPq Embrapa Gado de Corte, ⁴Professor da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), ⁵Pesquisadores da Embrapa Gado de Corte – Sanidade Animal – Laboratório de Engenharia Genética Animal. E-mail: galvao.vet.ce@gmail.com

Foi pesquisada a presença de *Brucella abortus* por reação em cadeia da polimerase (PCR) e PCR em Tempo Real (qPCR), em tecidos bovinos com lesões sugestivas de brucelose. Para isto, 21 fragmentos de tecidos bovinos coletados em abatedouros de Mato Grosso do Sul foram processados e submetidos ao cultivo microbiológico e extração do DNA. No cultivo microbiológico oito amostras apresentaram crescimento bacteriano e cinco foram confirmadas como *B. abortus* por PCR. Diretamente das amostras de tecido, DNA do gênero *Brucella* (oligonucleotídeos IS711) foi detectado em 13 (61,9%) amostras de tecido e 17 (81%) amostras de homogeneizado. Já com os oligonucleotídeos espécie-específicos *BruAb2_0168*, 14 (66,0%) amostras de tecido e 18 (85,7%)

amostras de homogeneizado foram amplificadas. Nove amostras positivas na PCR espécie-específica foram sequenciadas e o *best hit* na análise BLASTn foi *B. abortus*. Na qPCR 21 (100%) amostras de tecidos e 19 (90,5%) amostras de homogeneizado foram positivas para *B. abortus*. Dez amostras de DNA de sangue bovino de rebanho certificado livre foram utilizadas nas análises de PCR e qPCR utilizando-se os oligonucleotídeos *BruAb2_0168*. Na PCR nenhuma amostra amplificou, enquanto que na qPCR 2 (20%) amplificaram. Conclui-se que as duas técnicas detectam a presença de *B. abortus* diretamente de tecidos e homogeneizados, porém a qPCR apresentou maior sensibilidade. Os resultados indicam que a qPCR pode ser uma alternativa rápida e precisa para a detecção de *B. abortus* diretamente de tecidos, e ser utilizada em programas de vigilância sanitária, por apresentar sensibilidade e especificidade satisfatórias.

Palavras-chave: brucelose, isolamento, sequenciamento, extração.

SAÚDE E PRODUÇÃO DE RUMINANTES E EQUÍDEOS P-187

DETECÇÃO MOLECULAR DE EHRlichIA SPP. EM ANIMAIS DOMÉSTICOS DO PANTANAL MATOGROSSENSE

Thaysa Felfili Ziliani¹; Daniel Moura de Aguiar²; Andréia Lima Tomé Melo²; Jaqueline Bruning Azevedo³; Thaiza Cristina Fonseca de Figueiredo³

¹PiBIC/CNPq/UFMT, ²PPGVET/FAMEVZ/UFMT, ³FAMEVZ/UFMT

O gênero *Ehrlichia* agrupa patógenos de importância em medicina veterinária e saúde pública. Até 2011, quatro espécies do gênero *Ehrlichia* haviam sido relatadas no Brasil por isolamento e PCR: *Ehrlichia canis*, *E. ewingii* e *E. chaffeensis* além de uma espécie filogeneticamente próxima a *E. ruminantium*. Em 2012, descreveu-se o isolamento da espécie *E. mineirensis* em Minas Gerais. O presente trabalho procurou obter novas informações sobre a epidemiologia das erliquioses em Mato Grosso; propondo a identificação e caracterização genética e ocorrência de espécies do gênero *Ehrlichia* a partir de sangue de bovinos, equinos e ovinos pela amplificação parcial do gene *dsb* de *Ehrlichia* pela Reação em Cadeia pela Polimerase em dois tempos (hnestedPCR). Foram efetuadas coletas de sangue em EDTA de 412 animais de 21 propriedades rurais. Das amostras extraiu-se DNA genômico quais foram processados inicialmente a partir dos primers DSB-330 senso e DSB-720 anti-senso, e em seguida pelos primers DSB-380 senso e DSB-720 anti-senso, com o objetivo de aumentar a sensibilidade diagnóstica, sendo capaz de amplificar um fragmento de 349-pb do gene *dsb*. Os produtos da amplificação foram purificados e seus produtos sequenciados. As sequências obtidas após alinhadas foram comparadas com outras sequências do gênero *Ehrlichia* spp. disponíveis no GenBank. Dos 412 animais examinados, 342 eram bovinos de 17 fazendas. Trinta bovinos (8,77%) foram positivos para *Ehrlichia* spp. em 29,4% das propriedades. Por municípios, 17,64% das propriedades positivas pertenciam ao município de Poconé onde foi observada ocorrência de 10,93% de animais positivos; 5,88% ao município de Santo Antonio do Leverger, tendo uma ocorrência de 33,33%; e 5,88% ao município de Nossa Senhora do Livramento, com ocorrência de 12,5%. Foi gerada sequência de nucleotídeos de uma amostra de cada município resultando em 99% (307/308) de similaridade com a recém relatada espécie *E. mineirensis*. As demais espécies examinadas (equinos e ovinos) não apresentaram positividade para *Ehrlichia* spp. Ressalta-se a importância desta infecção na espécie bovina, sendo necessários mais estudos para melhor caracterizar a infecção por *E. mineirensis*, uma vez que este foi o primeiro trabalho a relatar a detecção molecular em mamíferos.

Palavras-chave: Erliquiose, PCR, DSB