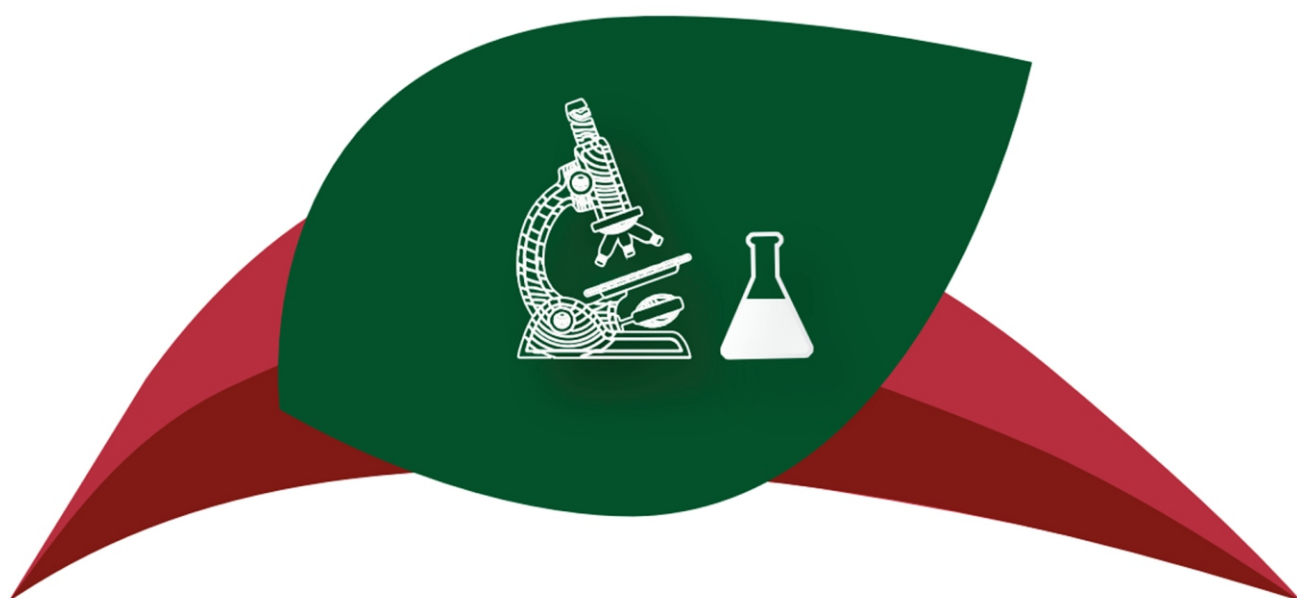


Documentos

68

**Anais da 10ª Jornada Científica
Embrapa São Carlos**



10ª Jornada Científica

Embrapa - São Carlos/SP

ISSN 1518-7179

Junho, 2018

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Embrapa Pecuária Sudeste
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 68

**Anais da 10ª Jornada Científica
Embrapa São Carlos**

Editores Técnicos

Daniel Souza Corrêa

Elaine Cristina Paris

Maria Alice Martins

Paulino Ribeiro Villas Boas

Wilson Tadeu Lopes da Silva

Embrapa Instrumentação
São Carlos, SP
2018

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação
Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 São Carlos, SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Instrumentação

Comitê de Publicações
Presidente
Wilson Tadeu Lopes da Silva
Secretária-executiva
Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane
Membros
Carlos Renato Marmo
Cíntia Cabral da Costa
Cristiane Sanchez Farinas
Elaine Cristina Paris
Maria Alice Martins
Paulo Renato Orlandi Lasso
Normalização bibliográfica
Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane
Imagem da capa
Thiago Benite
Capa, editoração eletrônica e
tratamento das ilustrações
Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2018): 100 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

Embrapa Instrumentação

J82a Jornada científica Embrapa – São Carlos, SP.
Anais / editores técnicos, Daniel Souza Corrêa, Elaine Cristina Paris, Maria Alice Martins,
Paulino Ribeiro Villas Boas, Wilson Tadeu Lopes da Silva. -- São Carlos: Embrapa
Instrumentação: Embrapa Pecuária Sudeste, 2018.
90 p.; 21x29cm – (Embrapa Instrumentação. Documentos, ISSN 1518-7179; 68).

1. Jornada científica – Evento. I. Corrêa, Daniel Souza. II. Paris, Elaine Cristina. III. Martins,
Maria Alice. IV. Villas Boas, Paulino Ribeiro. V. Silva, Wilson Tadeu Lopes. VI. Título. VII. Série.

CDD 21 ED 500

© Embrapa 2018

Teste comparativo entre amostras de DNA extraídas de diferentes matrizes de sangue para a quantificação *Babesia bovis*

Marina Bacelar¹, Pamella Cristini Silva¹, Rodrigo Giglioti², Henrique Nunes de Oliveira²,
Cintia Hiromi Okino³, Márcia Cristina de Sena Oliveira⁴

¹Bolsista PIBIC/CNPq, graduação em Medicina Veterinária, Centro Universitário Central Paulista – UNICEP, São Carlos, SP, marina.bacelar@hotmail.com

²Departamento de Zootecnia - Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP, Brasil.

³Analista da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

⁴Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

A detecção e quantificação dos níveis de *Babesia* spp. em amostras de sangue de bovinos por meio de estudos moleculares tem sido amplamente utilizadas. Entretanto, amostras de sangue podem ser consideradas um tipo de matriz problemática para métodos de diagnósticos moleculares, devido a presença de alguns inibidores de PCR. Diante disso, o presente estudo objetivou comparar diferentes tipos de matrizes provenientes de sangue para extração de DNA e subsequente quantificação do número de cópias (NC) de *Babesia bovis* por meio da qPCR. Para isso, foram usados 32 bezerros com idades homogêneas, que foram submetidos a colheitas de sangue e preparadas seis tipos de matrizes provenientes das amostras, todas com volume final de 30µL: (1) sangue total colhido da ponta da cauda (1) e da jugular (2), cartão FTA impregnado com sangue total da ponta da cauda (3) e jugular (4), eritrócitos isolados por centrifugação (5) e soro obtido do sangue da jugular (6). Todas as amostras de matrizes foram submetidas à extração de DNA total usando o kit Easy - DNA™ kit (Invitrogen™) e em seguida à quantificação do NC de *B. bovis*. As sequências iniciadoras usadas para as quantificações do NC de *B. bovis* eram provenientes de regiões que flanqueiam o gene mitocondrial do citocromo b. Os dados de NC foram transformados em log₁₀ (n + 1) e foram analisados por meio dos modelos mistos, enquanto que os dados qualitativos (positivos e negativos) foram comparados pelo teste de qui-quadrado. O NC entre as diferentes matrizes também foram correlacionados por meio do coeficiente de correlação de Pearson. Todas as análises foram realizadas usando o pacote estatístico SAS®. O NC de *B. bovis* estimados para as matrizes 1, 3 e 5 não diferiram entre si ($p > 0,05$), no entanto, os mesmos apresentaram maiores níveis de NC ($p < 0,05$) em relação aos demais. A média estimada de NC para as amostras de soro (6) ficaram próximas de zero. Em relação às frequências de positivos, as matrizes 1, 2, 3, 4 e 5 não diferiram entre si ($p > 0,05$), sendo que, apenas as amostras de DNA de soro apresentaram frequência de positivos muito menor em relação às demais. Altas correlações positivas do NC entre as diferentes matrizes foram observadas ($\rho \geq 0,74$, $p < 0,5$), com exceção da correlação da matriz de soro com as demais que ficaram próximas de zero. Baseando-se nos resultados do presente estudo, concluímos que amostras de DNA provenientes de sangue da ponta da cauda dos bovinos (tanto sangue direto como impregnado em papel) apresentam maior quantidade do nível de *B. bovis*, que consequentemente, poderia aumentar a sensibilidade da técnica da qPCR. Embora a matriz contendo eritrócitos isolados não tenha diferido das duas matrizes citadas, ela não apresentou pureza do DNA adequada.

Apoio financeiro: Embrapa seg. 02.17.00.005.00.00, FAPESP n. 2017/11297-5, CNPq PIBIC n. 152954/2017-1

Área: Produção animal.

Palavras-chave: qPCR, *Babesia bovis*, comparação; matrizes de sangue; extração de DNA.