

Padronização de técnica de PCR para diagnóstico de infecções por *Babesia Bovis*

Leonardo Guedes de Andrade¹; Robert Domingues²; Claudia Cristina Gulias Gomes³

O esfregaço sanguíneo de camada delgada é o método convencional para diagnóstico de infecções de bovinos por *Babesia bovis*. Apesar de fácil execução e baixo custo, a sensibilidade da técnica é maior na fase aguda da doença. Este trabalho teve por objetivo padronizar técnica de PCR para detecção de infecções em situações de baixa parasitemia. Foram coletadas amostras de sangue da cauda, jugular e orelha de quatro vacas holandesas, com quadro clínico para tristeza parasitária bovina. O exame por esfregaço sanguíneo da cauda indicou parasitemia para *B. bovis* de 0,41%, 0,15%, 0,04% e 0,003%, respectivamente. As amostras foram submetidas à extração de DNA com kit DNeasy (Qiagen) e quantificadas por nanoespectrofotometria. As condições para amplificação por PCR foram: 1,5mM de MgCl₂, 0,2mM de dNTPs, 0,4μM de cada primer (F 5'-C-A-C-G-A-G-G-A-A-G-G-A-A-C-T-A-C-C-G-A-T-G-T-T-G-A-3' e R 5'-C-C-A-A-G-G-A-G-C-T-T-C-A-A-C-G-T-A-C-G-A-G-G-T-C-A-3'), 100ng de DNA e 35 ciclos com temperatura de anelamento de 55°C. Os primers correspondem a sequências já utilizadas em trabalhos publicados. As reações de PCR foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,2%, 120V por 2 horas. Os amplicons foram corados com brometo de etídio e visualizados em transiluminador UV. Foi verificada amplificação do DNA para a parasitemia de 0,41%, até diluição de 1/1000 para amostras da jugular e cauda e até 1/2000 para amostra da orelha. Para as demais parasitemias (0,15%; 0,04%; 0,003%), não foi visualizada amplificação. A PCR empregada não superou a técnica de referência, uma vez que não apresentou repetibilidade de amplificação entre amostras. Novas condições da técnica deverão ser avaliadas.

Palavras chave: esfregaço sanguíneo; bovinos; tristeza parasitária bovina; sensibilidade, parasitemia

¹Bolsista Fapergs Probic, Embrapa Pecuária Sul, Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas, UNIPAMPA, São Gabriel, RS. leonardoandradde@gmail.com

²Analista, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS. robert.domingues@embrapa.br

³Pesquisadora Orientadora, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS. claudia.gulias@embrapa.br