

AValiação de reações da polimerase em cadeia para diagnóstico etiológico e epidemiológico de *Babesia bovis*.

Almeida, D. A. (.1); Ferra, J. de C. (2).; Picoloto, G. (2); Olegário, L (3), Ferreira, R. (3); Madruga, C. R. (4). (1) Mestranda em Ciência Animal UFMS, danielle@cnpqc.embrapa.br, (2) Bolsista AT-CNPq/FUNDECT, (3) Bolsista IC-CNPq, (4) Pesquisador Embrapa Gado de Corte.

Babesia bovis é um babesídeo dos bovinos transmitido por larvas do carrapato *Boophilus microplus*. A infecção por *B. bovis* induz doença clínica severa caracterizada por febre, anemia, distúrbios circulatórios, neurológicos e, freqüentemente, morte. O diagnóstico por reação da polimerase em cadeia (PCR) tem a vantagem de ser empregado para determinação do agente etiológico e estudos epidemiológicos ao contrário das provas sorológicas que são indiretas e não determinam com exatidão animais portadores. No presente trabalho descreve-se estudos epidemiológicos de duas regiões enzoóticas do Brasil (Centro-Oeste e Sul) e uma região livre (Uruguai), utilizando essa técnica para avaliar *primers* desenhados a partir do gene SSrRNA de *B. bovis*, nos quais fez-se uma PCR *Standard* (GAU3 5'-CTGGTTGATCCTGCCAGTAG-3' e GAU 10 5'-GCACGGACGGAGACCGA-3'), uma PCR *Semi-nested* (primer GAU9 5'-CTGTCGTACCGTTGGTTGAC-3' e GAU 10) e outra PCR executada com *primers* desenhados a partir do gene *ves1- α* (Ves3-F - 5'-TGCCTCTGGGTTACGGGA TGAAGT- 3' e Ves 3R-5'-CCAGGGGAGCCGTATGTCGTA TTG- 3'). Os resultados foram bastante significativos, principalmente nas reações com primers GAU, que demonstraram 78% e 91% de reações positivas nas PCR-Gau 3/10 e PCR-Gau 9/10 semi-nested, respectivamente. Com a utilização da PCR-Ves3 a positividade abaixou para 41%. Na região livre todas as amostras foram negativas para todas as PCRs testadas, confirmando assim a alta especificidade dos testes. Paralelamente foi realizado um estudo comparativo entre essas reações e esfregaço sanguíneo de amostras coletadas de um bezerro esplenoectomizado, imunossuprimido e inoculado com *B. bovis*. Das coletas feitas nesse animal, 17,6% foram positivas para o esfregaço sanguíneo, 41,2% e 59% das amostras foram positivas nas PCR-Gau 3/10 e PCR-Gau 9/10 Semi-nested. Já nas PCRs-Ves3 todas as amostras foram negativas. No estudo de epidemiologia molecular das cinco regiões brasileiras a PCR-Ves3 demonstrou alta sensibilidade e especificidade tendo todas as amostras positivas com bandas de 700 pares de bases. Conclui-se, então, que para estes isolados não existe polimorfismo de tamanho. (Projeto financiado pela Comunidade Européia).