

Apoio: Mapa/SDE/CNPq, Capes, Fapemig.

Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Biomédicas,
Laboratório de Imunoparasitologia "Mario Endsfeldz Camargo"
Av. Pará, 1720, CEP 38402-030, Uberlândia, MG, Brasil.
E-mail: jrmineo@ufu.br

Aumento da competência científica e tecnológica no controle da *Neospora caninum* em bovinos na defesa agropecuária nacional*

Increase of scientific and technology competence to control *Neospora caninum* in cattle for agricultural national defense

Pereira, G. R.¹; Bohrer, R. C.¹; Nóbrega Junior, J. E.¹; Andrade Neto, O. A. S.¹; Rigo, M.¹; Rissi, V. B.¹; Toscan, G.²; Vogel, F. S. F.²; Oliveira, J. F. C.¹; Gonçalves, P. B. D.¹

A neosporose é uma enfermidade parasitária considerada como uma das principais doenças reprodutivas em animais domésticos de produção em todo o mundo. Grande parte das infecções em bovinos é originária da transmissão vertical. Sendo assim, os principais objetivos deste estudo foram: determinar a patogenia da infecção transplacentária em fêmeas bovinas inoculadas com *N. caninum*; padronizar as técnicas de extração de DNA do *N. caninum* utilizando-se diferentes tecidos obtidos de modelos experimentais; e implementar a técnica de qPCR para diagnóstico de neosporose e determinar a presença de *N. caninum* nas diferentes áreas do sistema nervoso e nos diferentes órgãos de fetos bovinos. Camundongos foram submetidos à inoculação de *N. caninum* e sacrificados para coleta de segmentos do sistema nervoso central para padronização das técnicas de detecção por PCR convencional. Para a obtenção do antígeno, taquizoítos da cepa NC-1 do *N. caninum* foram inoculados em cultivo de células Vero para multiplicação até alcançar um título aproximado de 1×10^7 taquizoítos/mL. Trinta vacas soronegativas ao protozoário foram alocadas em diferentes grupos: G1 (n = 9) inoculação com *N. caninum* e após 60 dias foram submetidos ao protocolo de IATF (60d + IATF); G2 (n = 11) inoculação com *N. caninum* 60 dias após a IATF (IATF + 60d); e G3 (n = 9) soronegativas para *N. caninum* submetidos a IATF (controle). Os animais foram monitorados por ultrassonografia 35 dias após IATF até a interrupção da gestação por cesárea aos 170 dias para a realização das análises do tecido fetal. As amostras fetais foram submetidas à extração de DNA para avaliação quantitativa da presença do *N. caninum* por qPCR com a utilização de uma sonda TaqMan desenhada a partir da sequência do gene Nc5 (GenBank: X84238). Como controle, foi utilizada a detecção através de PCR convencional, amostras de taquizoítos cultivados *in vitro* e IPC para a reação de presença/ausência pela técnica de TaqMan. As taxas de prenhez aos 35 dias dos animais previamente inoculados 60d + IATF (4/9; 44,4%) foram maiores do que no grupo-controle (8/9; 88,8%) ($P < 0,05$). Aos 60 dias, o grupo 60d + IATF (0/4; 0%) mostrou-se diferente quando comparado aos grupos IATF + 60d (5/7; 71,4%) e controle (6/8; 75,0%) ($P < 0,05$). Com a TaqMan foi observada a presença do DNA de *N. caninum* no bulbo olfatório e córtex posterior direito de 3/5 fetos provenientes do grupo inoculado após a IATF. Com esses resultados ficou demonstrado que a técnica de qPCR mostrou-se capaz de detectar o DNA do protozoário no SNC fetal. Conclui-se que houve infecção transplacentária nos animais inoculados após a IATF e que o protozoário *N. caninum* interferiu negativamente na gestação dos animais inoculados.

*Capes, CNPq.

¹Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.
E-mail: gabrielrp@biorep.ufsm.br

²Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Laboratório de Doenças Parasitárias, Santa Maria, RS, Brasil.

Deteção de anticorpos anti *Neospora caninum* em amostras individuais e coletivas de leite de bovinos pela reação de imunofluorescência indireta*

Detection of antibodies against *Neospora caninum* in individual and bulk milk samples from cattle by the technique of indirect immunofluorescence assay

Camillo, G.¹; Pereira, G. R.²; Cezar, A. S.¹; Antonello, A. M.¹; Sangioni, L. A.¹; Flores, E. F.¹; Rosa, P. R. A.²; Muller, L.³; Gonçalves, P. B. D.²; Vogel, F. S. F.¹

Neospora caninum é um agente envolvido em perdas reprodutivas em bovinos. Essas manifestações induzidas pelo parasito causam relevantes prejuízos aos rebanhos de corte e leite. O diagnóstico dessa infecção é de grande importância, principalmente para programas de erradicação e controle. Sendo assim, os objetivos deste estudo foram: adaptar uma reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* no leite, a partir de uma RIFI padronizada para a detecção desses anticorpos no soro sanguíneo; analisar a concordância entre a detecção desses anticorpos pela RIFI no soro sanguíneo e no leite de fêmeas bovinas; e avaliar a viabilidade da RIFI para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em amostras coletivas de leite. Foram testadas amostras de soro sanguíneo e de leite, coletadas de 112 vacas em lactação, e seis amostras coletivas de leite, correspondentes a cada uma das propriedades avaliadas localizadas na região central do Rio Grande do Sul. As amostras de sangue foram coletadas por punção da veia coccígea e identificadas individualmente. As amostras de leite individuais foram coletadas de todos os animais em lactação, em tubos de ensaio estéreis. Em cada propriedade, foi coletada uma amostra coletiva de leite, 15 mL aproximadamente, do tanque refrigerado, o qual continha a totalidade do leite coletado das vacas avaliadas. A pesquisa de imunoglobulinas da classe G anti-*N. caninum* no soro sanguíneo e no leite foi efetuada pela RIFI. Encontrou-se 78% de concordância entre a detecção de anticorpos no soro sanguíneo (com título de anticorpos ≥ 50) e no leite, com sensibilidade de 90% e especificidade de 100% para a RIFI nas amostras de leite. Entretanto, para as vacas com títulos de anticorpos ≥ 100 no soro sanguíneo, tanto a concordância como os valores de sensibilidade e especificidade da RIFI no leite foram de 100%. Todas as amostras coletivas de leite foram positivas na RIFI. Isso demonstra que, conforme a propriedade, pode-se eleger com segurança qual a melhor abordagem diagnóstica a ser adotada em relação à coleta de soro sanguíneo ou de leite para a pesquisa de *N. caninum* pela RIFI. Além disso, a determinação da presença de anticorpos em amostras coletivas de leite pode servir para diagnóstico e triagem de rebanhos com animais infectados.

*Capes, CNPq.

¹Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Laboratório de Doenças Parasitárias Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.