

RESUMO - PROTOZOOLOGIA E PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR
VETORES

**DESENVOLVIMENTO DE UM ENSAIO DE PCR EM TEMPO REAL PARA
DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE BABESIA GOIANIAENSIS EM
CAPIVARAS**

Warley Vieira De Freitas Paula (warleyvieira@usp.br)

Sueli Akemi Taniwaki (staniwaki@usp.br)

Lucianne Cardoso Neves (lucianneccardoso@discente.ufg.br)

Gabriel Cândido Dos Santos (doscandido@discente.ufg.br)

Bruna Rodrigues Soares (brunarodrigues23@discente.ufg.br)

Rodrigo Araújo Camêlo (rodrigo.camelo@discente.ufg.br)

Felipe Da Silva Krawczak (felipekvet@ufg.br)

Marcelo Bahia Labruna (labruna@usp.br)

A babesiose é uma hemoparasitose emergente causada por protozoários intraeritrocitários do gênero *Babesia*, com distribuição mundial e grande importância para a saúde pública e para a medicina veterinária. Recentemente, uma nova espécie de piroplasmídeo, *Babesia goianiaensis* nov. sp., foi descrita em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e em carrapatos do gênero

Amblyomma, associados a esse roedor. O presente estudo teve como objetivo descrever o desenvolvimento de um ensaio de PCR em tempo real (qPCR) baseado em sistema de sonda de hidrólise para a detecção de *B. goianiaensis* em amostras de capivaras. O ensaio teve como alvo o gene da subunidade III do citocromo c oxidase (Cox-3), amplificando um fragmento de 89 pb de *B. goianiaensis*. O gene Cox-3 foi selecionado como alvo devido ao seu maior número de cópias em comparação ao gene da subunidade ribossômica pequena (18S rRNA), sendo, consequentemente, um alvo mais sensível para ensaios de PCR. Cada corrida de qPCR incluiu controles sabidamente positivos (DNA de *B. goianiaensis* em amostras de capivaras) e negativos (água livre de nucleases de grau molecular). O ensaio desenvolvido demonstrou elevada especificidade, uma vez que não foram observadas amplificação inespecífica com outras espécies de *Babesia* sp. e demais piroplasmídeos (*Cytauxzoon*, *Rangelia* e *Theileria*), além de outros agentes, como *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, *Hepatozoon*, *Leishmania* e *Trypanosoma*, testados em amostras provenientes de animais domésticos. A sensibilidade analítica do teste foi determinada por meio de diluições seriadas de plasmídeos contendo o fragmento-alvo. O limite de quantificação (LOQ) foi definido como 18 cópias/reação, com faixa linear de quantificação entre $1,8 \times 10^5$ e $1,8 \times 10^1$ cópias, apresentando eficiência de amplificação de 90,3% e excelente linearidade ($R^2 = 0,999$). O limite de detecção (LOD) foi estimado em 181, 18 e 9 cópias/reação, com 100% de detecção (14/14), 86,4% (19/22) e 64,3% (9/14), respectivamente. Em relação à sensibilidade diagnóstica, foram testadas cinco amostras de capivaras sabidamente positivas (Confirmadas por PCR convencional para os genes 18S rRNA e Cox 3, e sequenciamento) coletadas em Goiânia-GO, e todas apresentaram amplificação na qPCR. Os resultados obtidos indicam que o ensaio de qPCR desenvolvido constitui uma ferramenta sensível e válida para a detecção e quantificação do novo patógeno *B. goianiaensis* em amostras de capivaras.

Palavras-chave: babesiose; *hydrochoerus hydrochaeris*; qpcr.