RESUMO - HELMINTOLOGIA

SEQUENCIAMENTO DE AMPLICONS PARA DETERMINAR AS FREQUÊNCIAS DOS ALELOS DE RESISTÊNCIA AO MONEPANTEL EM POPULAÇÕES DE CAMPO DE HAEMONCHUS CONTORTUS

Gustavo Felippelli (gustavo.felippelli@unesp.br)

Jéssica Fiorotti De Paulo (jeskvni@gmail.com)

Martina Terrusa (martina.terrusa@unitus.it)

Amanda De Oliveira Furlan (amanda.furlan@unesp.br)

Alessandra Da Silva Nucci (alenucci.medvet@gmail.com)

Leonardo Aparecida Lima (leonardoaparecido.lima@gmail.com)

Flávia Lombardi Lopes (flavia.lopes@unesp.br)

Alessandro Pelegrine Minho (alessandro.minho@embrapa.br)

Ana Carolina Souza Chagas (carolina.chagas@embrapa.br)

Simone Cristina Méo Niciura (simone.niciura@embrapa.br)

O monepantel pertence à classe dos derivados de aminoacetonitrila (AADs) e apresenta farmacodinâmica anti-helmíntica contra populações multirresistentes de Haemonchus contortus. O objetivo deste estudo foi aplicar abordagens de sequenciamento de última geração (NGS) para investigar polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em isolados de H. contortus resistentes ao monepantel provenientes de ovinos no Brasil. Foram utilizados 14 ovinos machos da raça Santa Inês pertencentes ao rebanho da Embrapa Pecuária

Sudeste, previamente tratados com anti-helmínticos após a confirmação da ausência de ovos de nematóides em exames coproparasitológicos. Os animais foram infectados experimentalmente com 4.000 larvas infecciosas (L3) de H. contortus provenientes de seis isolados, dois dos quais eram suscetíveis ao monepantel (Embrapa 2010 e Echevarria) e quatro resistentes (Botucatu, 340, 344 e 345). Entre 22 e 28 dias após a infecção, foram realizadas contagens de ovos por grama de fezes (OPG) e culturas fecais para obtenção de larvas L3. O DNA genômico foi extraído de pools contendo 1.000 larvas L3, e 16 éxons do gene-alvo foram amplificados por PCR. Um total de 11 amplicons foi sequenciado na plataforma Illumina MiSeq, com leituras paired-end de 2 × 300 pb e, subsequentemente, mapeado contra o genoma de referência de H. contortus (MHCO3ISE_4.0). Foram investigadas mutações no domínio PF02932, associado ao receptor nicotínico alvo dos AADs. Também foram realizadas análises estruturais e funcionais da proteína MPTL-1 utilizando as ferramentas Gene3D, PANTHER e Pfam, além da avaliação das propriedades físico-químicas da proteína. As análises permitiram caracterizar as propriedades físico-químicas da proteína MPTL-1 proveniente de seis isolados de H. contortus (resistentes e suscetíveis). Foi identificado um ligeiro aumento no ponto isoelétrico de 7,15 para 7,5 (isolados Embrapa, Botucatu e Echevarria) até 7,87 (isolados 340, 344 e 345), indicando uma pequena alteração para uma proteína mais básica (com carga positiva). Embora discreta, essa alteração básica pode afetar a ligação do monepantel, uma vez que esse princípio ativo também apresenta carga positiva. A mutação Q2K, localizada no domínio extracelular da MPTL-1, foi identificada exclusivamente em três isolados resistentes (340, 344 e 345), demonstrando potencial capacidade de repelir fármacos catiônicos como o monepantel, já que a lisina introduz uma carga positiva no terminal N.

Palavras-chave: ovinos; gene mptl-1; mutação; lisina; carga positiva.