

095

IDENTIFICAÇÃO DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS POR PCR EM TEMPO REAL DE AMOSTRAS DE LEITE COM MASTITE BOVINA. FREITAS, F.A.A. de; MESQUITA, A.J de; NICOLAU, E.S.; SENA, E.L.S.; SOLA, M.C.; BUSO, B.L.S.; PFRIMER, R.T.; PEREIRA, J.D.; SOUSA, K.C. Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, GO, Brasil. E-mail: fernandaantunha@gmail.com

Na medicina veterinária a mastite bovina é considerada a doença de maior ocorrência e importância econômica na atividade leiteira, acarretando graves prejuízos. O patógeno *Staphylococcus aureus* é considerado o agente de maior importância e ocorrência nos rebanhos mundiais, sendo frequentemente isolado em amostras de leite cru. A identificação de *S. aureus* por PCR tem sido amplamente estudada. Os principais genes que são utilizados como sequência alvo para iniciadores específicos para identificação de *S. aureus* são: nuc, femA, 16S rRNA, 23S rRNA, Sa442, entre outros. No presente estudo foi utilizado o gene sodA. Atualmente a cultura bacteriana é o método de referência para a identificação dos micro-organismos causadores de mastite em amostras de leite cru, porém esta técnica possui algumas limitações. A técnica da PCR em tempo real tem sido importante para muitas aplicações em testes clínicos, sendo que apresenta vantagens sobre o método bacteriológico convencional para o diagnóstico dos patógenos das IIMs, como rapidez, objetividade e automação dos resultados, bem como alta sensibilidade na detecção bacteriana. O teste da PCR em tempo real é uma técnica muito promissora como complemento de métodos tradicionais de diagnóstico de mastite. Objetivou-se empregar a técnica de PCR em tempo real na identificação de isolados de *S. aureus* de amostras de leite de vacas com mastite clínica e subclínica. Os isolados foram identificados eletronicamente, de acordo com a metodologia descrita pelo manual do equipamento Vitek 2®, pela realização de testes bioquímicos. O DNA genômico foi extraído da cultura microbiológica utilizando o High Pure PCR Template Preparation Kit. Para o protocolo de análise de PCR em tempo real foram utilizados primers específicos para o gene sodA e o fluoróforo intercalante SYBr Green®. Verificou-se que a técnica de PCR em tempo real para detecção do gene sodA, mostrou-se eficaz na identificação da espécie *S. aureus*, podendo se tornar uma ferramenta importante no diagnóstico dos micro-organismos causadores de mastites bovinas. Concluiu-se que a técnica de PCR em tempo real apresentou sensibilidade e especificidade de 100% quando se comparou a cepa controle de *S. aureus* ATCC® 25923 e micro-organismos de diversas espécies diferentes. A identificação dos isolados de *S. aureus* de amostras de leite com mastite bovina pela técnica de cultura convencional confirmou os resultados obtidos pela técnica de PCR em tempo real, apresentando 100% de conformidade. Dessa forma concluiu-se que a técnica de PCR pode constituir uma ferramenta importante no diagnóstico de agentes causadores de mastite; o gene sodA, responsável pela codificação da proteína superóxido dismutase, pode ser utilizado como sequência alvo na identificação de *S. aureus* em análises pela técnica de PCR em tempo real.

Auxílio financeiro pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG).
Bolsista Capes.

096

FORNECIMENTO DE VOLUME EXTRA DE COLOSTRO E TEORES DE IGG NO SANGUE DE BEZERRAS HOLANDESAS. BACCILLI, C.C.¹; SOBREIRA, N.M.²; SILVA, B.T.¹; NOVO, S.M.F.¹; GOMES, V.¹ ¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: camila.rcosta@usp.br ²Médica Veterinária Autônoma, Araras, SP, Brasil.

Bezerras recém-nascidas são agamaglobulinêmicas ao nascimento, devido à barreira placentária do tipo sinepteliocorial, que impede a passagem de macromoléculas entre mãe e feto durante a gestação. Além disso, neonatos bovinos apresentam resposta imune fraca, de baixa intensidade e duração, cujo desenvolvimento ocorrerá após sucessivas exposições aos micro-organismos. Durante o período de amadurecimento imunológico, a proteção do recém-nascido será dependente da transferência passiva de anticorpos, especialmente IgG1, que irá atuar principalmente na intensificação da citotoxicidade celular mediada por anticorpos. Dessa forma, programas de colostragem têm sido instituídos nas fazendas leiteiras, sendo consensual o fornecimento do volume mínimo de 4 L de colostro nas primeiras 12 horas de vida. No entanto, o volume máximo tem sido questionado, considerando-se que a absorção dos anticorpos pela mucosa intestinal ocorre por meio de processo ativo via receptores Fc localizados nos enterócitos. Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo correlacionar as concentrações de imunoglobulinas G (IgG) no soro sanguíneo de bezerras, levando-se em consideração a quantidade de colostro fornecido. Para tanto, foram selecionadas 34 bezerras da raça Holandesa, ao nascimento, distribuídas em três grupos experimentais, de acordo com volume de colostro ingerido: grupo A (n = 19) 6 L, grupo B (n = 8) 5 L e o grupo C (n = 7) 4 L. Amostras de sangue foram colhidas, no segundo dia de vida, em tubos sem anticoagulante, para obtenção do soro e realização do teste imunoenzimático. As medianas dos valores séricos de IgG observadas 48h após a ingestão do colostro foram de 8.767 (valor mínimo = 1.314), 7.420 (valor mínimo = 2.593) e C 8.767 (valor mínimo = 5.295) mg/dL, respectivamente, nos grupos A, B e C. Os valores medianos da concentração de IgG comparados entre os grupos experimentais pelo teste de Kruskal-Wallis Test não possibilitaram a detecção de diferenças estatísticas (P = 0,1967). A correlação entre o volume ingerido e a concentração de IgG foi comparada pela análise de regressão linear simples, porém os coeficientes de correlação não demonstraram correlação entre o volume ingerido e teores de IgG. Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que o fornecimento do volume mínimo de 4L de colostro foi adequado para prevenir falha na transferência de imunidade passiva (IgG < 1.000 mg/dL). Além disso, o aumento do volume de colostro fornecido não influenciou na concentração de IgG. Esse fato pode estar relacionado a uma capacidade máxima de absorção intestinal intermediada pela expressão de receptores Fc nos enterócitos.

Bolsista CAPES.
Auxílio FAPESP 2012/02129-8.