



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Implantação de teste diagnóstico para a artrite encefalite caprina baseado em PCR em tempo real (qPCR)
Autor	BIANCA SCHNECK SIMÃO
Orientador	ANA PAULA RAVAZZOLO

Implantação de teste diagnóstico para a artrite encefalite caprina baseado em PCR em tempo real (qPCR)

Bianca Schneck Simão; Ana Paula Ravazzolo
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A artrite encefalite caprina (CAE) afeta animais sem predileção por idade ou raça. O vírus (CAEV) é transmitido principalmente através do colostro e leite de fêmeas infectadas, durante as primeiras mamadas dos recém-nascidos, ou por secreções respiratórias via transmissão horizontal, quando há contato direto entre animais. As manifestações clínicas aparecem após um longo período de incubação do vírus, sendo as mais comuns a artrite em animais adultos e encefalite em animais jovens, podendo haver também casos de mamite e pneumonia. A doença é de difícil controle, e os animais infectados apresentam perda de peso e dificuldade de locomoção, o que causa importantes perdas produtivas. O diagnóstico precoce é um fator essencial no controle da doença.

O projeto tem como objetivo a utilização do método de PCR em tempo real (qPCR) para detecção do vírus da CAE em amostras de caprinos naturalmente infectados. Os testes serão realizados a fim de delinear e otimizar a detecção de amostras circulantes locais do lentivírus caprino. Embora existam diversos métodos de imunodiagnóstico desenvolvidos, como a imunodifusão em gel de ágar (AGID), o ELISA e o *Western Blotting*, esses não são capazes de identificar todos os animais portadores do vírus. Isso ocorre quando não há presença de anticorpos detectáveis, como nos casos de soroconversão tardia ou intermitente. Assim, é necessário associar métodos diagnósticos diretos, como os moleculares baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) para identificação dos animais positivos.

A metodologia utilizada inicia com a técnica de PCR com *primers* degenerados para amplificar fragmentos do gene *gag* do genoma proviral – o gene *gag* codifica proteínas do capsídeo viral. Após, esses fragmentos são clonados em plasmídeos e purificados a partir do cultivo em bactérias *Escherichia Coli*. Os clones são analisados quanto à presença do inserto (produto de PCR) com enzimas de restrição. Os plasmídeos purificados, que contêm o inserto, são encaminhados para sequenciamento. As sequências de todas as amostras serão alinhadas para se identificar regiões mais conservadas que possam ser utilizadas como alvo para o desenho de *primers* e sondas da qPCR.

Atualmente, estamos realizando PCR de amostras coletadas em propriedades localizadas no Rio Grande do Sul, com *primers* degenerados. Os fragmentos obtidos serão clonados e submetidos ao sequenciamento, conforme descrito acima. Até o momento, obtivemos produtos de PCR de uma propriedade e amostras de duas outras estão sendo processadas. Posteriormente, realizaremos o processo com amostras oriundas de outros estados brasileiros.