

114

COMPARAÇÃO ENTRE DETECÇÃO DO VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA POR RT-PCR CONVENCIONAL E "ONE-STEP". Bruna Meyrer, Matheus Nunes Weber, Fernanda Simone Marks, Carla Rosane Rodenbusch, Laura Lopes de Almeida, Claudio Wageck Canal (orient.) (UFRGS).

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é um *Pestivirus* da família *Flaviviridae* e sua infecção causa importantes perdas reprodutivas no rebanho bovino. O diagnóstico de diarreia viral bovina (BVD) depende de confirmação laboratorial e esta pode ser realizada através da detecção do RNA viral por transcrição reversa (RT) seguida da reação em cadeia da polimerase (PCR). O objetivo deste trabalho é comparar o desempenho da detecção de BVDV entre a RT-PCR convencional, em que a RT é realizada em uma reação independente da PCR, e a "One-Step", em que as duas reações são realizadas em um mesmo tubo. Para a realização deste trabalho, foram preparadas diluições seriadas na base 10 de BVDV amostra NADL previamente titulada em cultivo celular e o RNA foi extraído por TRIzol LS. Para a RT-PCR convencional, o DNA complementar ao RNA será sintetizado em um passo anterior a PCR, que consiste em uma reação contendo a enzima "Moloney Murine Leukemia Virus" (M-MLV), incubada a 37°C por 90min. A RT-PCR "One-Step" será realizada com dois kits comerciais que utilizam diferentes enzimas de RT, a SuperScript™II e a do vírus da mieloblastose aviária (AMV) e diferentes polimerases termoresistentes, a Platinum Taq e a *Tfl* DNA polimerase, respectivamente. A PCR, que amplifica um fragmento de 288 pb correspondente a região 5' não traduzida do RNA viral, será a mesma para todas as técnicas. Como dados preliminares, o kit comercial com a enzima AMV e *Tfl* DNA polimerase apresentou desempenho superior a RT-PCR convencional. Estes experimentos estão em execução e os seus resultados permitirão determinar a técnica mais apropriada para detecção do BVDV e posterior análise de amostras de campo. (Fapergs).