



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Quantificação do vírus da cinomose canina por técnica de amplificação molecular em tempo real
<b>Autor</b>	ALINE MAKIEJCZUK
<b>Orientador</b>	VAGNER RICARDO LUNGE
<b>Instituição</b>	Universidade Luterana do Brasil

A cinomose canina tem como agente etiológico o vírus da cinomose canina (CDV, do inglês *Canine Distemper Virus*), classificado no gênero *Morbilivirus*, família *Paramixoviridae*. O vírus possui uma fita simples de RNA (senso negativo) como material genético e que codifica seis proteínas estruturais: proteína de fusão, hemaglutinina, matriz, fosfoproteína, nucleocapsídeo e proteína “L”. Os animais infectados apresentam sinais clínicos multissistêmicos (gastrintestinais, respiratórios, dermatológicos e neurológicos) com elevado índice de progressão para mortalidade. Apesar dos protocolos de vacinação, existem diversos relatos de casos de cinomose em cães vacinados. O diagnóstico é presuntivo e estabelecido após anamnese e exame clínico do animal, pois seus sinais clínicos são comuns a outras doenças respiratórias e entéricas. Atualmente exames laboratoriais vêm sendo empregados para auxiliar no diagnóstico clínico. Este trabalho teve como objetivo implementar uma técnica de quantificação molecular em tempo real para a determinação da carga viral do CDV em amostras de sangue. Amostra de vacina viva comercial (Quantum Dog DA2PPv1 + Cv) contendo aproximadamente  $10^{4.2}$  TCID<sub>50</sub>/mL de CDV foi obtida do respectivo fabricante (Intervet Schering-Plough). Amostras de RNA extraídas desta vacina (e após diluídas seriadamente) foram utilizadas para estabelecer a técnica de transcrição reversa seguida da amplificação pela reação em cadeia da polimerase em Tempo Real (RT-nqPCR) com primers e sondas para o gene do Nucleocapsídeo. Estas mesmas amostras também foram utilizadas nos experimentos de correlação da contagem viral (TCID<sub>50</sub>/mL) com o ciclo de leitura (CT) da RT-nqPCR e de sensibilidade analítica (ensaio de PROBIT). Análises de reprodutibilidade foram realizadas processando amostras com diferentes concentrações de RNA em triplicata em quatro experimentos realizados em dias diferentes. Amostras de sangue e de urina com CDV foram comparativamente analisadas. Os resultados obtidos demonstram a implementação de técnica de quantificação viral com alta sensibilidade analítica. A curva padrão mostrou linearidade no intervalo de quantificação de 500 a 4,0 TCID<sub>50</sub>/mL (declive = -4.74 - mínimo -4.65 e máximo -4.90) com um coeficiente de regressão linear (R<sup>2</sup>) igual 0.94 (mínimo 0.92 e máximo 0.96). O ensaio de sensibilidade analítica (análise de replicatas de amostras diluídas seriadamente com 500 até 0,06 TCID<sub>50</sub>/mL) demonstrou a possibilidade de detectar todas as replicatas com 4,0 TCID<sub>50</sub>/mL e 90,9% das replicatas com 0,8 TCID<sub>50</sub>/mL, demonstrando uma sensibilidade de 1,0 TCID<sub>50</sub>/ml em intervalo de confiança de 95%. A técnica também foi efetiva na avaliação da carga viral de amostras de sangue e urina de animais infectados por CDV. Novos estudos estão sendo realizados para otimizar a quantificação de CDV em diferentes amostras clínicas.