



Evento	Salão UFRGS 2019: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Implantação de teste diagnóstico da artrite encefalite caprina baseado em PCR em tempo real (qPCR)
Autor	BIANCA SCHNECK SIMÃO
Orientador	ANA PAULA RAVAZZOLO

RESUMO

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

Aluno: Bianca Schneck Simão

Orientador: Ana Paula Ravazzolo

RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA

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 quando há contato direto entre animais. Os sinais clínicos aparecem após um longo período de incubação do vírus. Ou seja, depois que o animal é infectado pelo vírus, a doença só se manifestará depois de um longo período. As manifestações clínicas mais comuns são 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 sanguíneas de caprinos naturalmente infectados. A qPCR é um método de diagnóstico molecular que informa quanto do DNA do vírus tem na amostra, em tempo real, através da emissão de fluorescência quando encontra a sequência específica. Isso aumenta a sensibilidade e especificidade do diagnóstico da doença em rebanhos, reduzindo assim as chances de haver falsos negativos ou positivos nas amostras. 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, na qual a bolsista participou do início ao fim, iniciou 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, que é o invólucro do vírus. A degeneração dos *primers*, por tornar esses um conjunto de sequências e não uma sequência única, permitiu que se detectasse um maior número de variantes virais. Após, foram obtidas as sequências de todas as amostras, as quais foram alinhadas e comparadas para se identificar regiões mais conservadas a fim de serem utilizadas como alvo para o desenho de *primers* da qPCR

Os *primers* foram desenhados e comparados, na base de dados (*GenBank*), com sequências já existentes de diversos países. Posteriormente os *primers* desenhados

serão utilizados em ensaios de qPCR como teste de diagnóstico. O projeto foi realizado a fim de delinear e otimizar a detecção de amostras circulantes locais do lentivírus caprino.