060

Ciências Agrárias

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA PARA DETERMINAÇÃO DE CARGA VIRAL DE PCV2. Eloiza Teles Caldart, Karla Rathje Gonçalves, Luís Felipe Ingrassia Campesato, Nilson Sabino da Silva Junior, Eliana Franco Lopes, Ana Paula Ravazzolo (orient.) (UFRGS)

O Circovírus de suínos (PCV) é um vírus DNA circular, fita simples e não envelopado pertencente à família Circoviridae. O tipo patogênico, PCV2, está associado a um considerável número de diferentes síndromes e doenças em suínos, principalmente a Síndrome Multissistêmica da Refugagem Pós Desmame, levando a perdas econômicas significativas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes métodos de extração de DNA (DNAzol, Sílica e FTA), na tentativa de otimizar os custos e aumentar a sensibilidade do diagnóstico de PCV2 realizado por PCR no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular da UFRGS (LIBM). As amostras utilizadas foram as enviadas ao LIBM para diagnóstico e determinação de carga viral de PCV2. A fim de comparar os diferentes métodos de extração, utilizamos 100 μL das amostras recebidas para a extração com sílica segundo Boom et. al.(1990), e para a extração com DNAzol (GIBCO-Invitrogen) e, 60 μL, na extração por cartões FTA, segundo recomendações do fabricante. Após, foram utilizadas diluições das amostras, as quais foram submetidas a PCR conforme condições estabelecidas anteriormente. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta. O DNA obtido através das extrações por FTA e por DNAzol foi amplificado em maiores diluições quando comparados aos obtidos na extração por Sílica. Nos resultados obtidos pela extração com DNAzol observamos certa irreprodutibilidade, provavelmente devido a uma ação inibitória na reação de PCR. Portanto, o FTA foi escolhido como método de eleição para extração de DNA na rotina do LIBM.