

PCR em Tempo Real para diagnóstico da síndrome da mancha branca em camarões marinhos



UFRGS **XXV SIC**
PROFESQ Salão Iniciação Científica
CA - Ciências Agrárias

Raíssa Nunes dos Santos^{1,2}, Lissandra Souto Cavalli¹
(orient.)

¹IPVDF – Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor¹

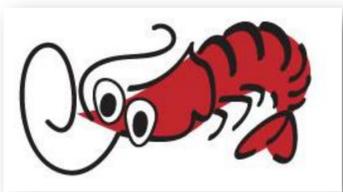
²UERGS – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

raissaeng@me.com

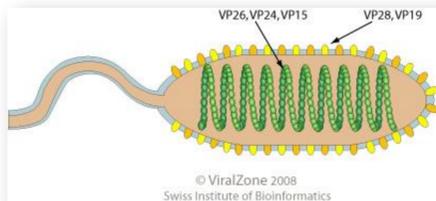
INTRODUÇÃO

A síndrome da mancha branca é uma enfermidade causada pelo vírus denominado *White spot syndrome virus* (WSSV). O genoma é DNA dupla-fita com cerca de 300 kb, pertencente a família *Nimaviridae*, gênero *Whispovirus*. O vírus infecta camarões marinhos e caracteriza-se por alta e rápida mortalidade, redução no consumo de alimentos e letargia. As manchas brancas na carapaça do camarão nem sempre são evidentes. Atualmente os diagnósticos moleculares propostos pela OIE são a *nested-PCR* e PCR em tempo real com TaqMan. O objetivo deste trabalho é a padronização de uma PCR quantitativa com SYBR Green. Os resultados deste estudo revelam que a PCR proposta é eficiente para detecção e quantificação do WSSV.

METODOLOGIA



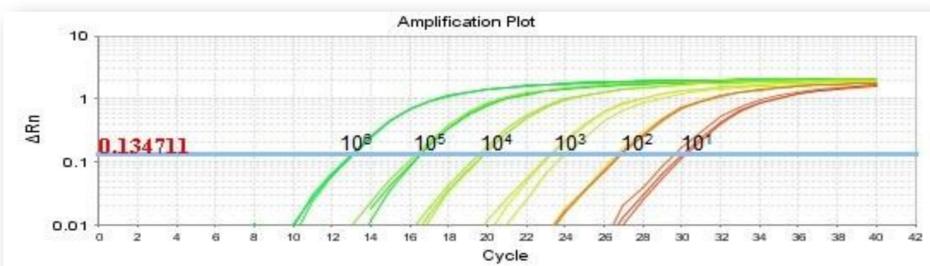
50 amostras



Extração de DNA

Primer	Sequência
146F1	5'-ACT ACT AAC TTC AGC CTA TCT AG-3'
146R1	5'-TAA TGC GGG TGT AAT GTT CTT ACG A-3'
146F2	5'-GTA ACT GCC CCT TCC ATC TCC A-3'
146R2	5'-TAC GGC AGC TGC TGC ACC TTG T-3'
1011F	5'-TGG-TCC-CGT-CCT-CAT-CTC-AG-3'
1079R	5'-GCT-GCC-TTG-CCG-GAA-ATT-A-3'

PCR *nested* e tempo real



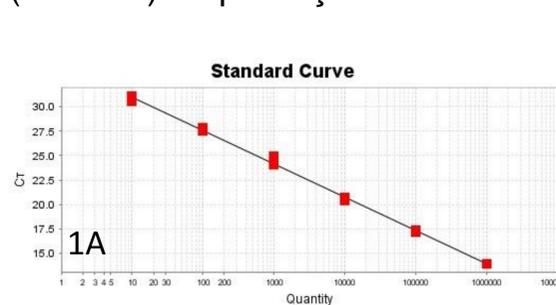
Análise dos resultados

Referências

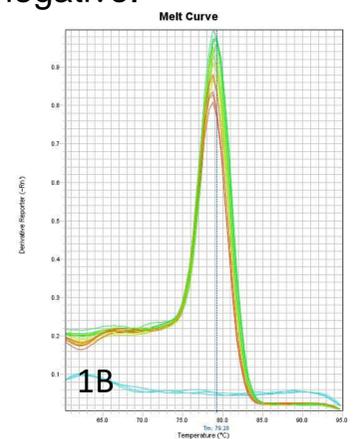
- LIGHTNER, D.V. Quantitative real time PCR for the measurement of white spot syndrome virus in shrimp. Blackwell Science. Arizona, USA. v.25, p.381-389, 2002.
- OIE (World Organisation for Animal Health) 2013. White spot disease.
- Cavalli LS, Norberg BFS, Netto AS, Poersch L, Romano LA, Marins LF, Abrey PC. 2010. *White spot syndrome virus* in wild penaeid shrimp caught in coastal and offshore waters in the Southern Atlantic Ocean. *Journal of Fish Diseases* 33:533-536.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostram que a PCR com SYBR Green sugerida tem 100% de sensibilidade se comparada ao padrão ouro. Este estudo obteve uma sensibilidade de 10 moléculas, já a *nested* recomendada pela OIE tem uma sensibilidade de 20 moléculas. A PCR em tempo real com SYBR é mais rápida obtendo-se o resultado em no máximo 2 horas. A figura 1A mostra a curva padrão de detecção da qPCR, cuja eficiência foi calculada em 96% (slope correspondente: -3,422) e com R²=0,998. A curva de Melting (1B) verifica que todos os controles têm uma T_m similar, que não houve contaminações e que não ocorreu (em azul) amplificação do controle negativo.



1A



1B

CONCLUSÃO

A PCR em tempo real mostrou-se satisfatória para a detecção de WSSV. O limite de detecção foi de 10 moléculas, superando o atual limite atingido pelo diagnóstico padrão.

AGRADECIMENTOS

FAPERGS, CNPq e FINEP



MODALIDADE
DE BOLSA

PIBIC CNPq