



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Estabelecimento de parâmetros experimentais para detecção de lentivírus de pequenos ruminantes (SRLVs) por heminested PCR
<b>Autor</b>	ISABELLA VICTÓRIA CASCO FLORES
<b>Orientador</b>	ANA PAULA RAVAZZOLO

Os lentivírus de pequenos ruminantes (SRLVs) compreendem o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) e o vírus Maedi Visna dos ovinos (MVV), os quais pertencem à família *Retroviridae*, sendo eles relacionados biológica, fenotípica e antigenicamente. O objetivo desse projeto é aperfeiçoar o diagnóstico de SRLV por PCR, amplificando regiões do genoma comuns ao MVV e ao CAEV através do método de *heminested* PCR, e comparar a eficiência de detecção dos diferentes pares de *primers*. Resultados anteriormente obtidos no laboratório por meio de ampliações realizadas para análise de lentivírus, a partir de amostras provenientes de espécies caprinas e ovinas obtidas na década de 90, revelaram a existência de amostras positivas quando os pares de *primers* L3/LRT3 e L4/LRT3 foram utilizados. Porém, quando as mesmas amostras foram analisadas utilizando-se os *primers* L3.1/LRT3 e L4.1/LRT3 apesar de um maior número amostras positivas terem sido identificadas, não houve amplificação de todas aquelas que haviam obtido resultado positivo quando os *primers* anteriormente citados foram utilizados, fato que não deveria ocorrer visto que os últimos apresentam maior degeneração. A fim de avaliar se tal resultado poderia se dar pelo uso de concentrações equivocadas desses *primers*, foram realizados diferentes experimentos, alterando-se suas concentrações para realização da PCR. Assim, ao final do experimento, foi constatado que os melhores resultados foram obtidos utilizando-se concentrações de 6 ng/μL dos *primers* L3.1/L4.1 e 4 ng/μL do *primer* LRT3 (diferindo-se das concentrações anteriormente utilizadas: 2 ng/μL de todos os *primers*). Das 14 amostras caprinas e 2 amostras ovinas que anteriormente haviam apresentado resultado positivo para L3/LRT3 e L4/LRT3 e negativo para L3.1/LRT3 e L4.1/LRT3, todas apresentaram resultado positivo quando submetidas às novas concentrações. A temperatura de anelamento ideal dos *primers* foi igualmente analisada, porém as alterações realizadas não demonstraram resultados relevantes para essas amostras. Contudo, ao analisar amostras de sangue recentemente obtidas (a partir de um rebanho de ovinos de uma fazenda localizada no Acre com suspeita de MVV) foi possível verificar que, quando submetidas às condições anteriormente utilizadas, bandas inespecíficas surgiram. Logo, foi constatado que a elevação da temperatura de anelamento dos *primers* de 55°C para 57°C aumentou a especificidade da reação, fortalecendo a positividade das amostras e diminuindo a intensidade de bandas inespecíficas.