

## **BIOLOGIA MOLECULAR COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO VIRAL EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Coordenador: ANA PAULA RAVAZZOLO

Autor: NILSON SABINO DA SILVA JUNIOR

A biologia molecular é, cada vez mais, uma ferramenta que facilita e auxilia o trabalho de médicos veterinários. Sexagem de aves e embriões, paternidade em eqüinos e cães (pedigree) e a descoberta de novas espécies animais são apenas alguns exemplos. Outra área em que a biologia molecular vem ganhando destaque é a sua aplicação como teste auxiliar para diagnóstico. No Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular (LIBM), da Faculdade de Veterinária da UFRGS, são realizados exames para o diagnóstico molecular do vírus da imunodeficiência felina (FIV), do circovírus de suínos (PCV2), do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV), do vírus Maedi-Visna dos ovinos (MVV), do parvovírus suíno (PPV), do vírus da leucose bovina (BLV) e do vírus da imunodeficiência bovina (BIV). Por ser específico e sensível, possui vantagens sobre outros testes auxiliares ao diagnóstico. Os exames citados utilizam-se da tecnologia da reação em cadeia da polimerase (PCR), técnica que se baseia na amplificação do DNA, ou seja, aumenta-se o número de moléculas de DNA em tal número que essas, agrupadas e coradas, tornam-se visíveis. Portanto, se o DNA do agente patogênico estiver presente na amostra, esse será amplificado e tornar-se-á visível quando submetido à eletroforese em gel de agarose (gel que separa o DNA por tamanho da seqüência em pares de bases). Ao contrário, se o DNA patogênico não estiver presente, não ocorrerá amplificação e não haverá visualização do mesmo. Os materiais encaminhados, que constituem a amostra a ser avaliada, podem ser diversos: sangue, leite, saliva, órgãos, vacinas, entre outros. Por exemplo, num teste para FIV, pode ser enviada uma amostra de sangue com anticoagulante, pois o vírus da FIV infecta leucócitos, que são células do sangue. Já quando o teste for para detecção de Circovírus, os materiais enviados podem ser pedaços de órgãos retirados na necropsia de animais doentes, como baço, fígado, linfonodos, pulmão e rim. Esses órgãos podem ser utilizados para produção de vacinas autógenas. A primeira etapa após o recebimento da amostra é a extração do DNA. Esta extração pode ser feita de várias maneiras, mas o princípio é o mesmo: rompimento (lise) das células e posterior precipitação ou isolamento do DNA. Após a extração, segue-se a etapa do PCR, já descrita anteriormente. A terceira etapa é a confecção de um gel separador de moléculas de DNA por tamanho, onde o produto da PCR será analisado.

A última etapa, enfim, é a coloração destas moléculas de DNA em gel e leitura para verificação do resultado do teste. Entre novembro de 2005 e junho de 2007 foram realizados 14 exames para detecção do FIV, 11 dos quais negativos (78,5%) e 3 positivos (21,5%). A avaliação da carga viral de vacinas autógenas vem sendo igualmente realizada pelo LIBM. Nesses exames se faz uma análise semiquantitativa da carga viral, a partir de diluições das amostras. Se ocorrer visualização de bandas nas menores concentrações (ou maiores diluições), sabe-se que a carga viral era alta. Ao contrário, se não for detectado DNA viral nas maiores concentrações de DNA (ou menores diluições), a carga viral era muito baixa. Para determinação de carga viral de vacinas autógenas de circovírus, foram realizados 10 exames entre setembro de 2006 e julho de 2007. Considerando que o objetivo dessa determinação é avaliar a presença do vírus e determinar a carga viral, conforme esperado, os resultados foram positivos. As variações observadas estavam relacionadas com as diluições. A amplificação de DNA viral foi detectada em diluições de amostras que variaram entre 10-1 e 10-5. A implantação do LIBM é relativamente recente e tem possibilitado a utilização de tecnologia, através da biologia molecular, no diagnóstico de enfermidades em felinos e igualmente no controle de qualidade de vacinas. Futuramente, pretende-se ampliar o foco de atuação através da divulgação e oferecimento de novos diagnósticos moleculares.