

ESTUDO COMPARATIVO DE PARES DE *PRIMERS* PARA DETECÇÃO DE LENTIVÍRUS DE PEQUENOS RUMINANTES (SRLVS) POR *HEMINESTED* PCR.

Taís Farias Dolfini^{1,*}, Ana Paula Ravazzolo² (Orient.)

¹Bolsista PROBIC-FAPERGS; ²Prof. Associado, Faculdade de Veterinária - UFRGS

*Contato: taisdolfini@gmail.com

INTRODUÇÃO

Os lentivírus de pequenos ruminantes (SRLVs - *small ruminant lentivirus*) são o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) e o vírus Maedi Visna dos ovinos (MVV), estreitamente relacionados biológica, fenotípica e antigenicamente. Causam uma infecção persistente com longo período de incubação, produzindo doenças crônicas de evolução lenta nos animais infectados. O desenvolvimento dos sinais clínicos causam prejuízos econômicos que, juntamente com a inexistência de uma vacina para prevenção e controle da doença, tornam extremamente importante o diagnóstico de animais infectados para estabelecer medidas de controle adequadas e planos de erradicação.

OBJETIVOS

O objetivo do projeto é aperfeiçoar o diagnóstico de SRLV por PCR, amplificando regiões do genoma comuns a MVV e CAEV, através de *heminested* PCR e comparando a eficiência de detecção dos diferentes pares de *primers*.

MATERIAS E MÉTODOS

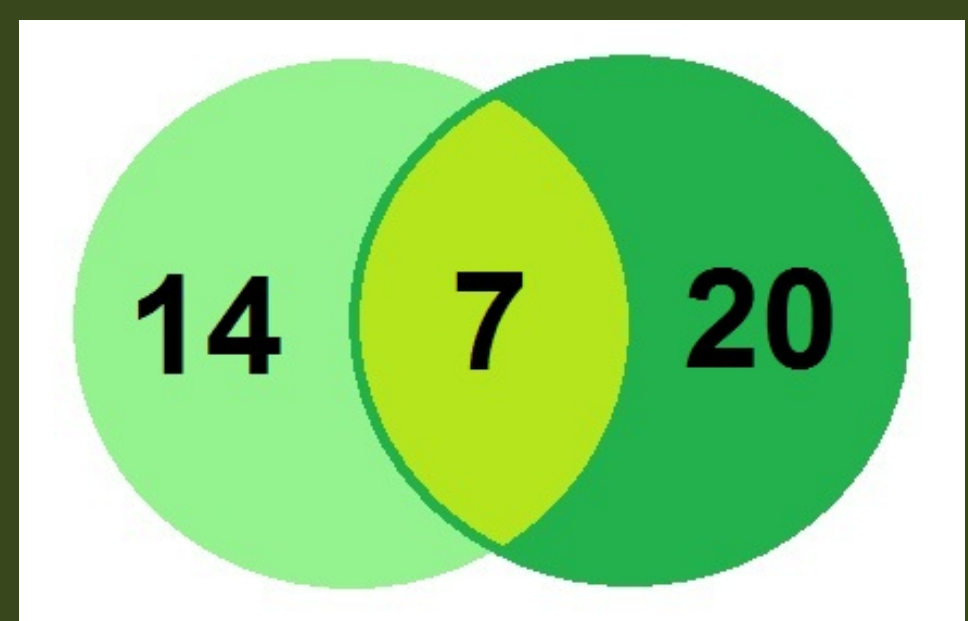
O gene *gag* foi escolhido por apresentar sequências conservadas em diferentes amostras de SRLVs. Dois pares de *primers* foram utilizados no trabalho. O primeiro deles denominado L3 - LRT3 e L4 - LRT3 (Ravazzolo et al., 2001). Para formulá-los foi feito um alinhamento do gene *gag* de cinco isolados distintos. O segundo, denominado L3.1 - LRT3 e L4.1 - LRT3, foi obtido a partir de um alinhamento do gene *gag* com quatorze sequências (*primer* degenerado) de SRLVs disponíveis no GenBank.

As amostras utilizadas foram coletadas na década de 90, tiveram seu DNA extraído e foram congeladas à -20°C. Para comprovar a integridade do DNA, foi realizado PCR para GAPDH em 159 amostras (132 caprinas e 27 ovinas).

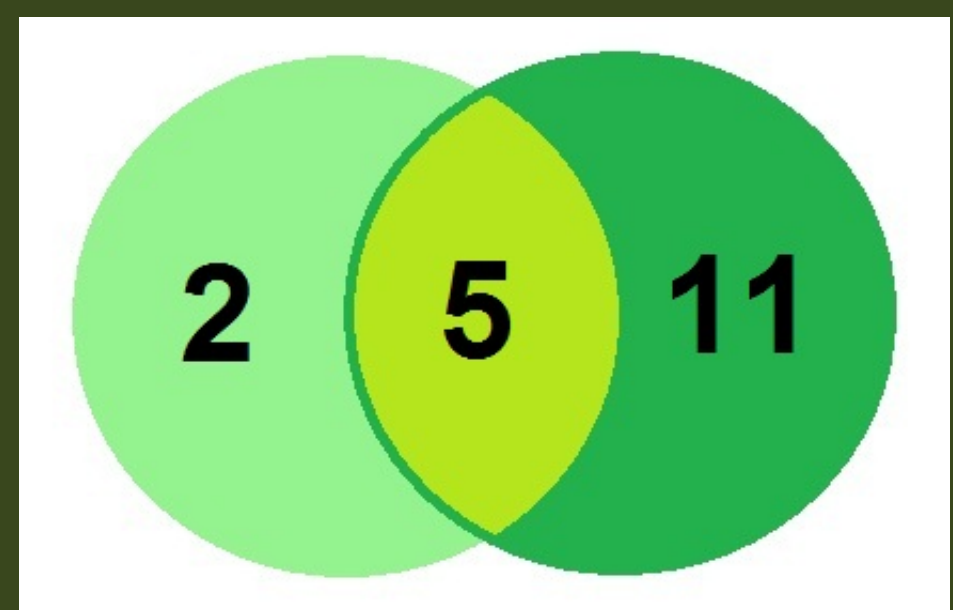
RESULTADOS

Das 159 amostras, 126 tiveram resultado positivo para GAPDH (99 de caprinos e 27 de ovinos) e passaram pelo teste de PCR com os dois *primers*.

Resultados positivos para SRLV com amostras caprinas: 41



Resultados positivos para SRLV com amostras ovinas: 18



- Positivos para o par de *primer* L3 - LRT3 e L4 - LRT3
- Positivos para ambos os pares de *primers*
- Positivos para o par de *primer* L3.1 - LRT3 e L4.1 - LRT3

DISCUSSÃO

Apesar da quantidade de amostras detectadas serem maiores com o L3.1 - LRT3 e L4.1 - LRT3 percebemos que algumas amostras detectadas com o primeiro par não foram detectadas com o segundo. Isso pode nos indicar que, devido à degeneração do segundo par de *primers*, a concentração utilizada no PCR deveria ser maior. Novos trabalhos serão realizados a fim de determinar a concentração adequada do *primer*.

Bibliografia

Ravazzolo, A.P., Reischak, D., Peterhans, E., Zanoni, R., 2001. Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Southern Brazil. Virus Res. 79, 117-123.