

DIAGNÓSTICO DO VÍRUS DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA POR RT-NESTED PCR

SIDER, Lucia Helena.¹; VERAS, Ana Kamila Andrade²; OLIVEIRA, Alexsandro Nunes de²; BRITO, Roberta Lomonte Lemos de¹; ANDRIOLI, Alice¹; PINHEIRO, Raymundo Rizaldo; RAVAZZOLO, Ana Paula³; TEIXEIRA, Maria Fátima da Silva.⁴

¹Embrapa Caprinos e Ovinos, ²Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), ³Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), ⁴Universidade Estadual do Ceará (UECE).

O vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) é um lentivírus que acomete caprinos no mundo todo provocando quadros de artrite, encefalite, mamite e pneumonia. Além disso, ocasiona diminuição de diversos parâmetros produtivos e reprodutivos acarretando em perdas econômicas. O animal, uma vez infectado, torna-se reservatório da doença. Medidas epidemiológicas de controle e o exame periódico por imunodifusão em gel de ágar não são suficientes para o controle e erradicação da doença. Métodos de diagnóstico alternativos se fazem necessários. A reação em cadeia da polimerase precedida pela transcrição reversa (RT-PCR) é uma técnica que se mostra adequada por sua alta sensibilidade e especificidade. Além disso, ela permite a detecção do vírus em sua forma livre, antes mesmo da soroconversão. A sua variação RT-nested PCR tem uma sensibilidade ainda maior e é apropriada para a detecção do vírus em amostras clínicas onde a carga viral é baixa. O objetivo do presente projeto é o de desenvolver um método de diagnóstico do vírus da artrite encefalite caprina baseada na técnica de RT-nested PCR com a finalidade de contribuir para o controle e a erradicação da doença. A técnica RT-nested PCR será aplicada em amostras clínicas (sangue, líquido sinovial, leite, sêmen, fluido uterino, líquido folicular e líquido) coletadas de animais infectados pelo CAEV (IDGA positivos) provenientes do rebanho isolado da Embrapa Caprinos e Ovinos. Após a coleta das amostras, o RNA será extraído e, a partir deste, será sintetizado o cDNA. O cDNA passará então por duas etapas consecutivas de amplificação com iniciadores externos e internos direcionados para o gene estrutural viral *gag*. Dados preliminares mostram a amplificação do gene *gag* proveniente de amostras sanguíneas e de líquido sinovial em amostras de algumas fêmeas infectadas. Este índice de positividade é alto em ambas as amostras, mas ligeiramente ($P > 0,05$) mais elevado em amostras de líquido sinovial.

Palavras-chave: diagnóstico molecular, retrovíruses animais, caprinos, RT-nested PCR, controle

Áreas: Patogenia e controle de doenças virais e bacterianas, Diagnóstico aplicado a doenças animais

DIAGNOSIS OF CAPRINE ARTHRITIS-ENCEPHALITIS VIRUS BY RT-NESTED PCR

SIDER, Lucia Helena.¹; VERAS, Ana Kamila Andrade²; OLIVEIRA, Alexsandro Nunes de²; BRITO, Roberta Lomonte Lemos de¹; ANDRIOLI, Alice¹; PINHEIRO, Raymundo Rizaldo; RAVAZZOLO, Ana Paula³; TEIXEIRA, Maria Fátima da Silva.⁴

¹Embrapa Caprinos e Ovinos, ²Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), ³Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), ⁴Universidade Estadual do Ceará (UECE).

Caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) is a lentivirus that affects goats worldwide resulting in arthritis, encephalitis, breast inflammation and pneumonia. Besides that, it implicates in diminished productive and reproductive parameters and leading to economical losses. Once infected, the animal becomes a reservoir. Epidemiological measures of control and periodical agar gel immunodiffusion (AGID) test are not enough to the disease control and eradication. Alternative diagnostic methods are necessary. Polymerase chain reaction preceded by reverse transcription (RT-PCR) is a high sensitive and specific method. Besides that, it allows the viral free form detection even before seroconversion. The technique variation, RT-nested PCR, has an even higher sensibility and thus is appropriate to detect the virus in low viral load clinical samples. The aim of the project is to develop a molecular diagnostic method based on RT-nested PCR in order to contribute to the disease control and eradication. RT-nested PCR will be applied in different clinical samples (blood, sinovial liquid, milk, semen, uterine and follicular fluids, and LCR) collected from infected animals (AGID-positive) from the isolated herd of Embrapa Caprinos e Ovinos. After sample collection, RNA will be extracted, cDNA will be synthesized, and then it will be submitted to two rounds of amplification with external and internal primers directed to the viral structural *gag* gene. Preliminar data show the amplification of the *gag* gene in blood and sinovial liquid samples of some infected females. The positivity index is high in both samples, but slightly higher ($P > 0.05$) in sinovial.

Keywords: molecular diagnosis, animal retrovirosis, goats, RT-nested PCR, disease control

Areas: Pathogenesis and Control of Infectious Diseases, Applied diagnostic of Animal Diseases