

# AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS BIOMOLECULARES EM OVÓCITOS E AMOSTRAS DE SANGUE DE FÊMEAS INFECTADAS COM VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA

*Silva, Pedro Alberto Freitas da<sup>1\*</sup>; Sousa, Solange Damasceno<sup>2</sup>; Sousa, Kelma Costa de<sup>3</sup>; Veras, Ana Kamila Andrade<sup>4</sup>; Cavalcante, Francisco Roger Aguiar<sup>5</sup>; Andrioli, Alice<sup>6</sup>*

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária nas Faculdades INTA, Bolsista FUNCAP.

<sup>2</sup>Graduanda em Zootecnia na UEV.

<sup>3</sup>Zootecnista, Doutoranda na UECE.

<sup>4</sup>Graduanda em Biologia na UEVA, Bolsista FUNCAP.

<sup>5</sup>Médico Veterinário, Mestrando na UEVA.

<sup>6</sup>Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientadora.

\*Apresentador do pôster: pedro.1018@hotmail.com

O vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) provoca uma enfermidade degenerativa, persistente e progressiva em caprinos, determinando importantes perdas econômicas. Como o vírus possui longo período de incubação a utilização de técnicas biomoleculares para o diagnóstico da CAE mostra-se uma importante ferramenta de prevenção. A reação em cadeia da polimerase (PCR) e a RT-PCR são métodos diretos de diagnóstico, sendo que a técnica de PCR permite a verificação do DNA proviral e a RT-PCR, uma reação da transcriptase reversa seguida da PCR, detecta o RNA genômico do vírus. Temos como objetivo avaliar as técnicas de PCR e RT-PCR para detecção do DNA proviral e do CAEV em amostras de ovócitos e sangue provenientes de cabras infectadas. Utilizou-se amostras de ovócitos e sangue de 11 fêmeas infectadas. Foram isolados leucócitos das amostras de sangue através de centrifugação e o DNA extraído para realização da PCR. Os ovócitos foram lavados em solução de PBS em seguida processada a extração do DNA proviral transferidos, juntamente com um volume de 40 $\mu$ L, para tubo com 350  $\mu$ L de tampão hipertônico

(sacarose 0,32M, trizma 10mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, triton 1%) e tratado com proteinase K (0,1µg/µL) e armazenado para realização de PCR. Na extração de RNA foi utilizado o Kit Nucleo Spin RNA II (Macherey-Nagel), Em seguida utilizou-se o protocolo do kit. Posteriormente foi aplicada a RT-PCR. O teste de RT-nested PCR identificou o CAEV em amostras de ovócitos de sete das 11 fêmeas coletadas (53,84%), enquanto a PCR nested foi positivo em ovócitos de um animal de 11 avaliados (9,09%). Já no sangue o vírus se encontra, principalmente infectando os monócitos, sendo que a PCR foi positiva em 53,84% dos animais. Como a RT nested PCR detecta o RNA genômico do vírus (forma livre) e a PCR nested revela o DNA proviral em células infectadas pelo CAEV, observamos a presença do CAEV nestas duas formas nos ovócitos coletados.

Palavras-chave: Vírus, Artrite Encefalite Caprina, PCR, RT-PCR, diagnóstico, ovócito.

Suporte financeiro: FUNCAP, EMBRAPA.