



O ponto de encontro da cadeia produtiva de ovinos e caprinos

Você está em: **Radares Técnicos > Sanidade**

Diagnóstico da artrite encefalite-caprina por RT-nested PCR

Encerrou-se em maio de 2010 mais um projeto de pesquisa sobre metodologias diagnósticas para o controle da Artrite-Encefalite Caprina (CAE - do inglês "caprine arthritis-encephalitis), conduzido na Embrapa Caprinos e Ovinos, em Sobral, Ceará. O projeto, liderado pela pesquisadora Lucia Helena Sider, visou, entre outros objetivos, o desenvolvimento da técnica de RT-nested PCR para o diagnóstico precoce do vírus causador da doença (CAEV).

Esta é uma variação da conhecida técnica de PCR ("polymerase chain reaction"), que permite a amplificação do número de cópias de DNA para o qual possa ser visualizado em eletroforese em gel de agarose. A reação é também chamada "nested" (aninhado), pois duas reações de PCR são feitas uma após a outra, aumentando assim o poder de detecção. Além disso, é RT ("reverse transcription") porque parte-se de RNA ao invés de DNA, já que o genoma do CAEV é formado por RNA.

O RT-nested PCR vem reforçar a aplicação de uma técnica desenvolvida pela pesquisadora Alice Andrioli em 2001, o nested-PCR. Essa técnica não detecta o RNA genômico e sim o DNA proviral (provirus), produzido a partir do RNA genômico pela enzima transcriptase reversa e que se integra ao genoma do hospedeiro pela ação da enzima integrase. Sendo o provirus DNA, a sua detecção é mais fácil, já que a molécula de DNA é mais estável que o RNA e não sofre ação tão intensa de nucleases, que o degradam. A instabilidade e a degradação são os principais problemas que cercam os procedimentos que utilizam RNA. Por isso, o desenvolvimento do RT-nested PCR aplicado ao diagnóstico da CAE quebrou uma enorme barreira técnica.

Além disso, esta técnica foi testada em animais soropositivos para a CAE nas mais diversas amostras clínicas e reprodutivas, a saber: sangue, leite, líquido sinovial, líquor, sêmen, embrião, ovócitos, folículos ovarianos, fluido uterino e líquido folicular. Em todas essas amostras, foi possível a detecção do RNA genômico. As coletas foram coordenadas pelos pesquisadores Raymundo Rizado Pinheiro e Alice Andrioli. Para a padronização do processamento dessas amostras, o grupo da Embrapa Caprinos e Ovinos teve a colaboração da professora Ana Paula Ravazzolo, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e do pesquisador Maurício Machaim Franco, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, cujas ideias foram essenciais para transpor as dificuldades iniciais com líquido sinovial e líquor, e sêmen, respectivamente.

Os experimentos foram conduzidos na sua maior parte na própria Embrapa Caprinos e Ovinos, mas também no Núcleo de Biotecnologia de Sobral, coordenado pelo professor Rodrigo Maranguape Silva da Cunha, da Universidade Estadual Vale do Acaraú. Merece destaque a participação de alguns alunos de graduação e pós-graduação da Universidade Estadual Vale do Acaraú, sem os quais o projeto seria inexequível.

O grande potencial de técnicas moleculares como o RT-nested PCR age no diagnóstico precoce da doença, pois permite a detecção do RNA genômico que se encontra no vírus no momento em que ele infecta o hospedeiro. Em contrapartida, os testes sorológicos, que ainda hoje são os mais difundidos, detectam os anticorpos produzidos pelo hospedeiro em resposta à infecção viral, o que demora certo tempo para acontecer.

Embora promissoras, as técnicas moleculares ainda são caras e, por serem reações do tipo nested, ainda demoram pelo menos dois dias para produzir resultados. Enquanto os custos não se amortizam, o teste de RT-nested PCR é útil na avaliação de animais que já apresentam sintomatologia clínica suspeita, como, por exemplo, cabritos que mamaram em fêmeas soropositivas e que apresentam sintomatologia nervosa, ou animais apresentando aumento de volume de articulações (artrite).

Para se concretizar como método de diagnóstico confiável, o RT-nested PCR, em conjunto com o nested PCR, serão validados em seguida por uma ação liderada pela pesquisadora Alice Andrioli. Essa ação é pertencente a um grande projeto componente coordenado pela Embrapa Tabuleiros Costeiros e que tem como nome síntese "Validatec".

As informações são da Embrapa Caprinos e Ovinos, adaptadas pela Equipe FarmPoint.

Saiba mais sobre o autor desse conteúdo:



Lucia Helena Sider Sobral - Ceará
Pesquisa/ensino

Tags: pcr, nested, rna, embrapa, artrite, encefalite, caprina, genômico, andrioli, sintomatologia, provirus, sinovial, liquor, acarau, sêmen, sobral, caev, diagnosticas, arthritis, caprine