

Medicina Veterinária

Extração de DNA de Canine Parvovirus 2 (CPV-2) de fezes de cães

Vanessa Mendieta Reis - 9º módulo de Medicina Veterinária, UFLA, Iniciação Científica Voluntária.

Teresiama Velikkakam - Bacharel em Biologia, mestre em Biologia Celular, docente na Escola Politécnica de Belo Horizonte (Politec).

Tuane Ferreira Melo - Médica Veterinária, Mestre em Ciências Veterinárias, DMV, UFLA.

Ruthnéa Aparecida Lázaro Muzzi - Professora Titular, DMV, UFLA.

Ana Paula Peconick - Professora Associada, DMV, UFLA.

Christian Hirsch - Orientador, Professor Adjunto, DMV, UFLA - Orientador(a)

Resumo

A parvovirose canina é uma doença que acomete cães jovens, entre seis semanas a seis meses, podendo gerar intensa gastroenterite com diarreia com sangue, febre e imunossupressão no animal. A doença é causada pelo vírus CPV-2, que é um vírus pequeno, não envelopado, com capsídeo icosaédrico, contendo DNA linear de fita simples, de 4-6 kb de tamanho e com grampos terminais curtos. Por ser um vírus eliminado, principalmente, nas fezes, estas representam o principal material para coleta para diagnóstico direto. O vírus é extremamente resistente ao ambiente e a transmissão ocorre por rota fecal-oral. Devido ao fato das fezes apresentarem muitas impurezas e os cães poderem apresentar mais de 40 causas distintas para diarreia com sangue, os resultados da extração de DNA são importantes para aumentar a sensibilidade do diagnóstico. O objetivo desse trabalho foi determinar qual a melhor forma de extrair o DNA de fezes caninas, para que posteriormente os resultados de amplificação e sequenciamento de DNA sejam de maior qualidade. Foram adotados três métodos de extração sob 40 amostras de fezes caninas obtidas no Hospital Veterinário de Pequenos Animais da UFLA. O mais tradicional é a extração pelo Fenol: Clorofórmio: Álcool Isoamílico (F:C:A). Além deste, também foi testada a extração pela Guanidina e pelo Kit Mini Spin® K9-0050 (Kasvi, Brasil). O método de F:C:A baseia-se no protocolo de Sambrook et al. (1989), com adaptações, e foi o mais descrito entre os artigos científicos para extração de DNA de parvovírus em fezes caninas. Já o método de extração pela Guanidina possui menos relatos nesse objetivo. Nele o DNA é extraído e purificado por meio de RNase, e reagente GES (solução de tiocianato de guanidina, EDTA, pH 8,0 e lauril sarcosinato de sódio), e precipitado com acetato de amônio. Já no protocolo pelo Kit Mini Spin, utilizou-se a digestão enzimática das proteínas com Proteinase K, seguida a purificação do DNA por afinidade com a coluna de sílica. Os resultados obtidos apresentaram baixa eficiência qualitativa e quantitativa de obtenção de DNA total, nos três processos. O fator que pode explicar esses resultados é o fato das amostras não serem padronizadas, já que são originadas de casos clínicos, e principalmente por terem sido coletadas em anos anteriores e congeladas por longos períodos, o que representa risco para a integridade do DNA. Entretanto, amostras vacinais padronizadas foram processadas em paralelo e houve amplificação na PCR específica.

Palavras-Chave: Parvovirose, Genética, Carnívoro.

Instituição de Fomento: Universidade Federal de Lavras e FAPEMIG.

Link do pitch: <https://www.youtube.com/watch?v=QtIEUC0jcrs&t=2s>