

DIAGNÓSTICOS MOLECULARES VETERINÁRIOS REALIZADOS PELO LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR VETERINÁRIA (LaBMol-Vet)

THAINA SAN MARTINS FERNANDEZ¹; DIAGO DUTRA LIMA²; PAOLA
RENATA JOANOL DALLMANN³; PEDRO MACHADO MEDEIROS DE
ALBUQUERQUE⁴; CAMILA XAVIER SILVEIRA⁵; RODRIGO CASQUERO
CUNHA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas - thainasanmartinsfernandez@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - diagolima@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas — Dallmannpaola@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – Albuquerque95pedro@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas- camilaxavier.vet@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - rodrigocunha_vet@hotmail.com

1.INTRODUÇÃO

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma das técnicas mais importantes em biologia molecular. Sua utilidade é ampla, abrangendo desde o diagnóstico molecular e análises forenses até estudos de expressão gênica, entre outras diversas aplicações. A PCR é uma técnica versátil que possui diversas variações desenvolvidas para aplicações específicas, adaptadas a diferentes demandas. Trata-se de um método preciso e minimamente invasivo, capaz de identificar infecções por múltiplos agentes infecciosos a partir de uma pequena amostra biológica (KEHRA et al., 2023).

Os agentes infecciosos são microrganismos com capacidade patogênica e de transmissão para outros seres vivos. Bactérias, vírus, fungos, protozoários, helmintos, príons, riquetsias e clamídias são agentes infecciosos recorrentes na veterinária, dentre eles, destacam-se os agentes zoonóticos, que representam uma ameaça significativa para a manutenção da saúde única (MCVEY et al., 2017). O conceito de saúde única desempenha um papel importante no controle e na prevenção de zoonoses, integrando a saúde animal, humana e ambiental por meio da colaboração e comunicação entre profissionais de diversas áreas (SHAHEEN, 2022).

O diagnóstico molecular por PCR realizado pelo Laboratório de Biologia Molecular Veterinária (LaBMol-Vet) é voltado para a identificação de agentes infecciosos de interesse na medicina veterinária. O estudo contribui para a caracterização de agentes infecciosos a fim de não só auxiliar no direcionamento do tratamento aos animais diagnosticados e evitar a disseminação da doença, mas também para a preservação da saúde única, a prevenção de contaminações secundárias e o monitoramento de possíveis surtos de doenças na região (GREENE, 2015).

2.METODOLOGIA

Amostras e local de processamento

Foram analisadas 96 amostras biológicas (sangue, urina, fragmentos de tecido, swabs e fezes) provenientes de caninos, equinos, felinos, bovinos e uma caturrita (*Myiopsitta monachus*). O objetivo foi a detecção molecular dos seguintes agentes infecciosos: *Anaplasma platys*, *Mycoplasma haemofelis*,

Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), Vírus da Leucemia Felina (FeLV), Vírus da Cinomose Canina, *Rhodococcus equi*, *Streptococcus equi*, *Ehrlichia canis*, *Salmonella typhimurium*, Rotavírus, Coronavírus, *Neorickettsia risticii*, *Leptospira* spp., *Babesia bovis*, *Trypanosoma cruzi*, *Theileria equi*, *Chlamydomphila psittaci* e *Escherichia coli*.

Extração de DNA

A extração de ácidos nucleicos (DNA genômico e RNA total) foi realizada a partir das amostras utilizando o reagente Quick-Zol (Ludwig Biotecnologia, Alvorada, RS, Brasil), seguindo as especificações do fabricante. Para a detecção de vírus de RNA (FIV, FeLV, Cinomose, Coronavírus e Rotavírus), o RNA extraído foi submetido à transcrição reversa para a síntese de DNA complementar (cDNA), que serviu como molde para a PCR.

Escolha de primers

Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), específicos para a amplificação das sequências-alvo de cada patógeno, foram selecionados com base em estudos previamente publicados e estão disponíveis no banco de *primers* do LaBMol-Vet.

Visualização de resultados

Para visualizar os produtos obtidos da PCR, os mesmos foram analisados em eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídeo, ou diretamente no equipamento, quando foi realizado o PCR em tempo real. A visualização das bandas de amplificação de DNA do produto da PCR foi feita sob luz UV, através de um transiluminador.

3.RESULTADOS

Das 93 amostras coletadas para realizar um diagnóstico molecular, 36 eram de felinos, 1 bovino, 20 de equinos, 33 de caninos e 1 de caturrita, 49,4% das amostras apresentaram resultados positivos, entre estes: 12 caninos, 29 felinos e 5 equinos. Demais espécies como bovinos e caturrita apresentaram resultados negativos. Resultados positivos conforme espécie do animal e agente serão citados na tabela 1.

Tabela 1: Quantidade de amostras positivas, organizadas por agente e espécie.

Agente	Canino	Felino	Equino
<i>Anaplasma Platys</i>	5	0	0
<i>Mycoplasma haemofelis</i>	0	1	0
FIV	0	6	0
FeLV	0	22	0
<i>Leptospira</i>	1	0	3

Vírus da cinomose canina	6	0	0
<i>Trypanossoma cruzi</i>	0	0	2

3.CONCLUSÃO

Como foi abordado, a importância do diagnóstico molecular na área veterinária, na manutenção de uma só saúde e no bem-estar dos animais da região, é explícita. Os resultados deste estudo, como a elevada prevalência de FeLV em felinos, destacam a circulação de importantes patógenos na população animal local. A parceria entre o LaBMol-Vet e o HCV-UFPEL é fundamental para ampliar o acesso a diagnósticos precisos. A divulgação desses achados para a comunidade veterinária e para os tutores de animais é essencial para promover a conscientização e incentivar a adoção de medidas preventivas e de controle.

REFERÊNCIAS

GREENE, C. E. Diagnóstico laboratorial de infecções causadas por vírus e rickettsias e epidemiologia clínica das doenças infecciosas. In: GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 1

KHEHRA, N.; PADDA, I. S.; SWIFT, C. J. Polymerase Chain Reaction (PCR). In: StatPearls [Internet]. **Treasure Island** (FL): StatPearls Publishing, 2023.

MCVEY, S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. Patogenicidade e virulência. In: MCVEY, S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. p. 3-4.

SHAHEEN, M. N. F. The concept of one health applied to the problem of zoonotic diseases. **Review in Medical Virology**, v. 32, n. 4, e2326, jul. 2022.