



XXIV
Mostra
de Iniciação
Científica

SEMANA DO
CONHECIMENTO

A Universidade em movimento

De **7 a 10** de outubro de 2014



RESUMO

Validação Cruzada de um Teste de Diagnóstico Completo de Patógenos em Humanos com Amostras de Suínos

AUTOR PRINCIPAL:

Janine de Camargo

E-MAIL:

110410@upf.br

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Pibic UPF ou outras IES

CO-AUTORES:

Janice Reis Ciacci Zanella, Maurício Cantão, Mônica C. Ledur, Jane O. Peixoto, Rejane Shaefer, Danielle Gava e Ricardo Zanella

ORIENTADOR:

Eraldo L. Zanella

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

Patologia Animal

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

Os estudos relacionados com a interação entre patógenos em animais tem sido o foco de muitos trabalhos de metagenômica para verificar a epidemiologia e o comportamento de patógenos em diferentes cenários (3). Atualmente muitos dos testes de diagnósticos são pontuais, abordando somente um único patógeno, o que deixa uma lacuna bastante grande no correto perfil sanitário do animal e do rebanho. Com os avanços da genômica foi possível o sequenciamento dos patógenos e fazer o uso desta informação para sua detecção rápida e ter um eficiente diagnóstico dos agentes infecciosos. Na suinocultura existe a necessidade de manter os animais livres de doenças, pela rápida disseminação de agentes infecciosos no rebanho.

Este trabalho tem por objetivo de fazer a validação de um teste molecular para patógenos desenvolvido para humanos com o uso de amostras de suínos para demonstrar a circulação de agentes infecciosos de humanos em animais de produção.

METODOLOGIA:

Amostras RNA e DNA de pulmões de 10 suínos negativos para influenza e 10 suínos positivos para influenza com o teste de Real Time PCR foram extraídas. O DNA e RNA viral foram extraídos com o kit MagMAX (Ambion), o RNA foi transcrito para cDNA usando o SuperScript II RT Kit (Invitrogen) juntamente com o primer complementar para os 12 nucleotídeos conservados na porção 3' (Uni12: 5'-AGCAAAGCAGG-3') (4). A qualidade e a quantidade do RNA e DNA foram determinadas por espectrofotometria. As amostras foram agrupadas em dois pools, PoolA amostras de DNA e cDNA negativas de para influenza e poolB amostras de DNA e cDNA positivas para influenza, para detectar patógenos de DNA e RNA. As amostras foram testadas usando o PathGEN® Kit o qual possui probes genômicas específicas para 50,000 vírus de 59 famílias e 156 gêneros e 20,000 bactérias de 26 gêneros, presentes em humanos(1). As probes genômicas aleatórias tem a habilidade um grande número de patógenos simultaneamente em uma reação de PCR.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Das amostras positivas para Influenza no teste de Real Time PCR, o PathGene confirmou as sua positividade, sendo que o Vírus da Influenza circulante nas amostras tinha uma grande similaridade com o Vírus da Influenza A H1N1 identificado em Auckland e na Califórnia, além disso, estas amostras também foram positivas para Haemophilus o qual era desconhecido. Já as amostras negativas não foi possível a hibridização para o vírus da influenza, demonstrando assim que elas eram realmente negativas para este patógeno, porém elas deram positivas para o mycoplasma. Na suinocultura a utilização de tecnologias moleculares para teste de diagnóstico tem papel fundamental pra o controle de problemas sanitários, beneficiando também a competitividade econômica do setor brasileiro.

CONCLUSÃO:

O PathGene, foi eficaz para a validação de amostras positivas para Influenza e além disso, foi possível comprovar a circulação de patógenos presentes em humanos em uma criação de suínos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1-Simões, EAF et al., 2013. Pathogen Chip for Respiratory Tract Infections. J. Clin. Microbiol.51(3):945
- 2-Wah H Lee, WH et al., 2008. BMC Bioinformatics. 9:368
- 3-Allen,HK.,2014.Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals.Current opinion in microbiology.V8.p25
- 4- HoffmannO,E.et al.Universal primer set for the full-length amplication of all inuenza A viruses. Archives of Virology, v.146, p.2275, 2001.

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador