

## COMPARAÇÃO ENTRE EXTRAÇÕES DE RNA DE AMOSTRAS DE SANGUE POR DOIS DIFERENTES MÉTODOS

Bianca Pimentel BORGES<sup>1</sup>; Ana Júlia Vieira da Silva PLATILHA<sup>2</sup> Alexandre do Rosário CASSEB<sup>3</sup>.

1. Bolsista PIBIC, Graduada de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Belém/Instituto de Saúde e Produção Animal, [biancapborges13@gmail.com](mailto:biancapborges13@gmail.com); 2. Bolsista PIVIC, Graduada em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Belém/Instituto de Saúde e Produção Animal, [ana.julia.vsp@gmail.com](mailto:ana.julia.vsp@gmail.com); 3. Alexandre do Rosário Casseb, Sorologia e Biologia Molecular, Instituto de Saúde e Produção Animal/ Campus Belém, Universidade Federal Rural da Amazônia, [alexcasseb@yahoo.com.br](mailto:alexcasseb@yahoo.com.br)

### RESUMO:

Dentre as doenças infecciosas caninas, a cinomose, é uma das que apresentam as mais altas taxas de morbidade e mortalidade, especialmente em cães mais jovens. Com o intuito de aprimorar a eficácia do tratamento, é essencial que o diagnóstico seja feito com rapidez e eficiência e a reação em cadeia da polimerase (PCR “polymerase chain reaction”) está entre os principais modelos diagnósticos. Na PCR, a extração é essencial para definir o grau de fragmentação e pureza do material genético, e conseqüentemente, interfere diretamente no sucesso dela. O objetivo deste trabalho foi definir o melhor método para realizar a extração de RNA comparando duas técnicas diferentes, com a finalidade de otimização e de utilização no Laboratório de Biologia Molecular da Disciplina de Microbiologia Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia. Foram analisadas quatro amostras sanguíneas caninas, coletadas por venopunção durante o atendimento no Ambulatório de Doenças Infecciosas no Hospital Veterinário Mário Dias Teixeira da UFRA. Direcionadas ao laboratório de Biologia Molecular e foi realizado a extração por centrifugação utilizando a técnica padronizada do TRIzol® LS (Invitrogen Corp.) e o kit comercial PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit. As amostras foram quantificadas por um espectrofotômetro na Universidade Federal da Amazônia analisando comprimentos de onda de 260nm a 280nm e 260nm a 230 nm, além da concentração das alíquotas extraídas. As alíquotas foram quantificadas após a extração, usou-se o kit comercial PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit e a técnica de Trizol® (Invitrogen Corp.) e comparou-se a pureza (A260/230; A260/260) e a concentração do material genético. A metodologia do TRIzol® LS (Invitrogen Corp.) em comparação com o kit apresentou maior concentração de material genético, porém apresentou valores indicativos de impurezas como proteínas ou outros tipos de contaminantes, que podem interferir no resultado da PCR. Enquanto que no kit as amostras, em maioria, apresentaram concentrações mais diluídas e na pureza valores mais próximos de 2, na classificação de A260/A280. Por outra perspectiva a análise de A260/230 expuseram valores abaixo do esperado indicando contaminação em ambos os processos. As amostras apresentaram grande contaminação, provavelmente devido ao tempo em que permaneceram no congelador antes das extrações. Contudo, o kit apresentou um grau de pureza maior apesar de estar mais diluído, e tais fatores provavelmente estão relacionados a eluição do processo. Ambas as técnicas obtiveram resultados semelhantes de contaminação, entretanto o procedimento com Trizol® LS, por ter um custo menor, pode ser considerado como eleição na extração de RNA da rotina. O projeto, no entanto, teve um montante pequeno de alíquotas e seria de interesse para um resultado mais fidedigno um estudo mais extenso relacionado ao assunto. Assim, é muito relevante a presença estudos mais profundos sobre as diferentes modalidades de diagnósticos e como aprimorar essas técnicas, principalmente, na PCR, a extração levando em consideração que é uma das etapas mais extensas e com maiores riscos de contaminação.

**PALAVRAS-CHAVE: CÃO; BIOLOGIA MOLECULAR; CINOMOSE.**

<sup>1</sup> Link do Vídeo: [https://youtu.be/3v\\_VCwN0o1I](https://youtu.be/3v_VCwN0o1I)