

DESARROLLO DE UN MÉTODO EFECTIVO PARA LA OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE GENOMAS COMPLETOS DE PARVOVIRUS CANINO MEDIANTE PCR-MULTIPLEX-NGS

Condon, Emma¹; Panzera, Yanina¹; Grecco, Sofía¹; Pérez, Ruben¹.

¹ Genética de Microorganismos, Sección Genética Evolutiva, Facultad de Ciencias, Universidad de la República

El parvovirus canino (CPV-2) genera la parvovirus canina, una enfermedad entérica relevante en canes. Es un virus de 5.2 kb, con genoma ADN simple hebra de polaridad negativa, que codifica para 2 proteínas estructurales (VP1, VP2) y 2 no-estructurales (NS1, NS2). Emergió en 1978 por un salto de hospedero y se expandió produciendo una pandemia. En 1979 se identificó una nueva variante antigénica, CPV-2a, que reemplazó a CPV-2. Posteriormente surgieron las variantes CPV-2b (1984) y CPV-2c (2000). Actualmente las tres variantes circulan mundialmente con diferentes frecuencias. La variación antigénica de CPV-2 depende del aminoácido presente en la posición 426 de VP2: 2a (Asn), 2b (Asp) y 2c (Glu). Esta clasificación no refleja las relaciones filogenéticas, ni es muy adecuada para analizar la evolución viral. El análisis de genomas completos es una excelente alternativa para la clasificación y el análisis evolutivo de CPV-2. En este trabajo, desarrollamos un sistema de PCR-multiplex-NGS para obtener el genoma completo de CPV-2. Diseñamos dos pools de cebadores capaces de amplificar el genoma mediante amplicones solapados. En los cebadores incluimos adaptadores para la secuenciación Illumina, evitando usar el kit de construcción de librerías. Validamos nuestro desarrollo usando la cepa original CPV-2 y las tres variantes antigénicas provenientes de países latinoamericanos. El PCR-multiplex-NGS resultó ser una herramienta eficaz, rápida, robusta y económica, permitiendo obtener 250 genomas con cobertura 2000× por corrida de secuenciación ($8 \times 10^6 \times 300$ ciclos). Esta metodología permitirá incrementar significativamente el número de genomas disponibles en las bases de datos, aportando a la epidemiología viral.

Palabras clave: virus, Parvovirus canino, PCR-multiplex, NGS, genoma completo