

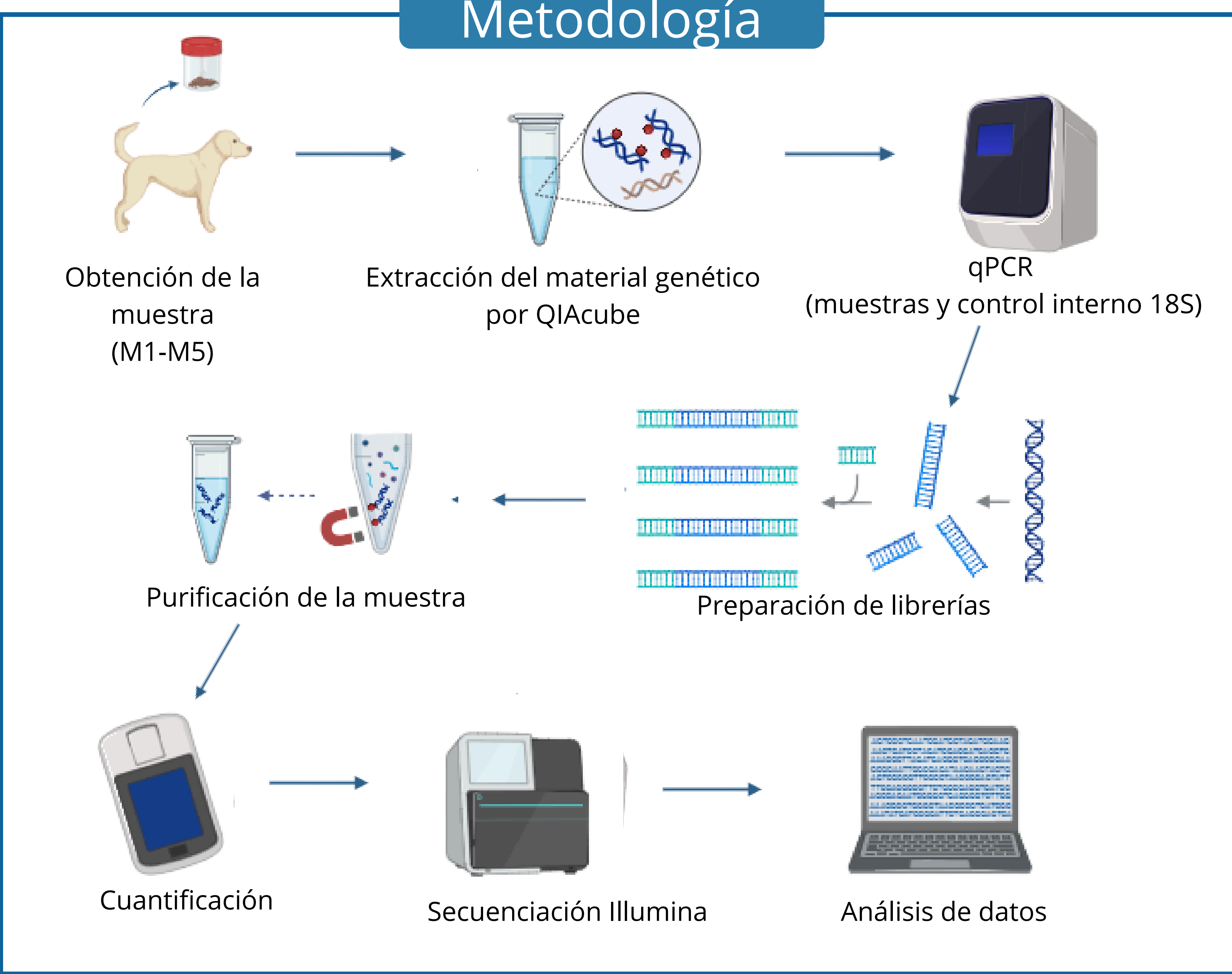
Introducción

El parvovirus canino (CPV-2) pertenece a la familia Parvoviridae, es un virus de ADN monocatenario de aproximadamente 5.2 Kb. CPV-2 surgió en 1978 y ha evolucionado dando lugar a tres variantes genéticas/antigénicas (2a, 2b y 2c). CPV-2 es el principal causante de gastroenteritis severa en cachorros, su alta contagiosidad y persistencia ambiental hacen fundamental su continuo relevamiento. En este trabajo se realizó la vigilancia genómica del CPV en el marco del proyecto “Vigilancia genómica en tiempo real de parvovirus y distemper canino”.

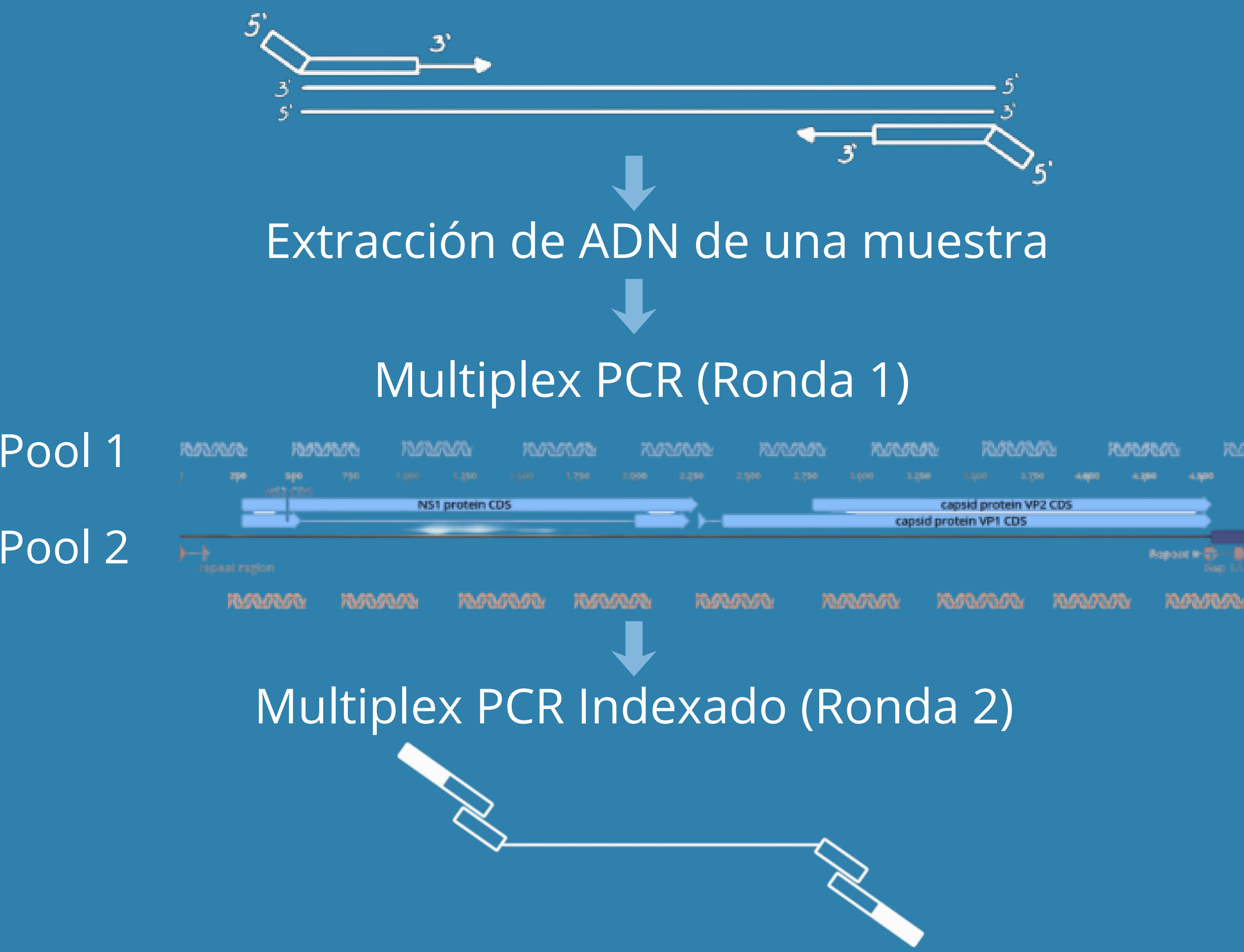
Objetivo:

- Realizar la detección y caracterización genómica de muestras de campo con sintomatología clínica de parvovirus.

Metodología



Nuevo método de generación de librerías



Resultados

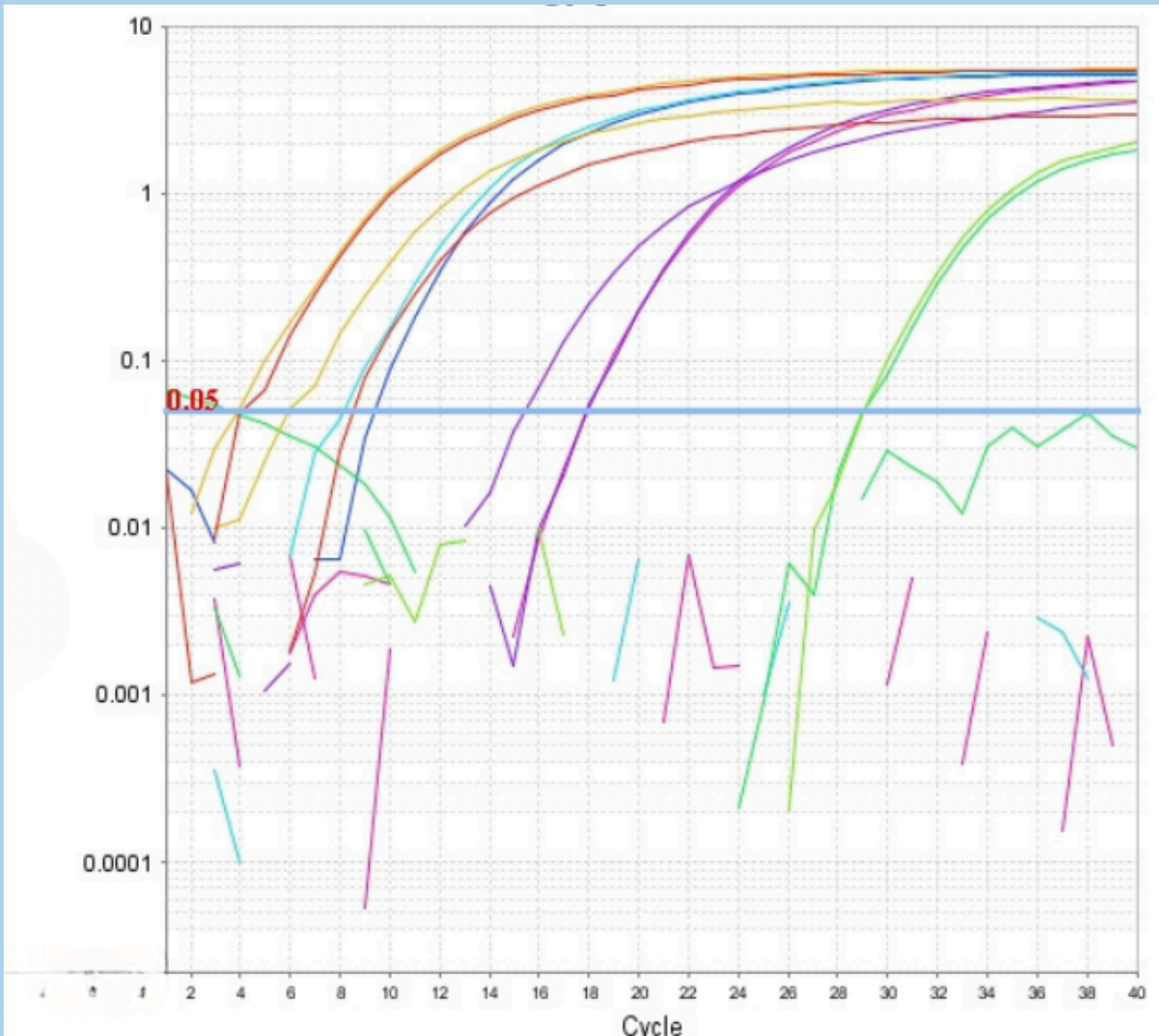


Fig. 1 - Curvas de amplificación de muestras de CPV-2 por qPCR.

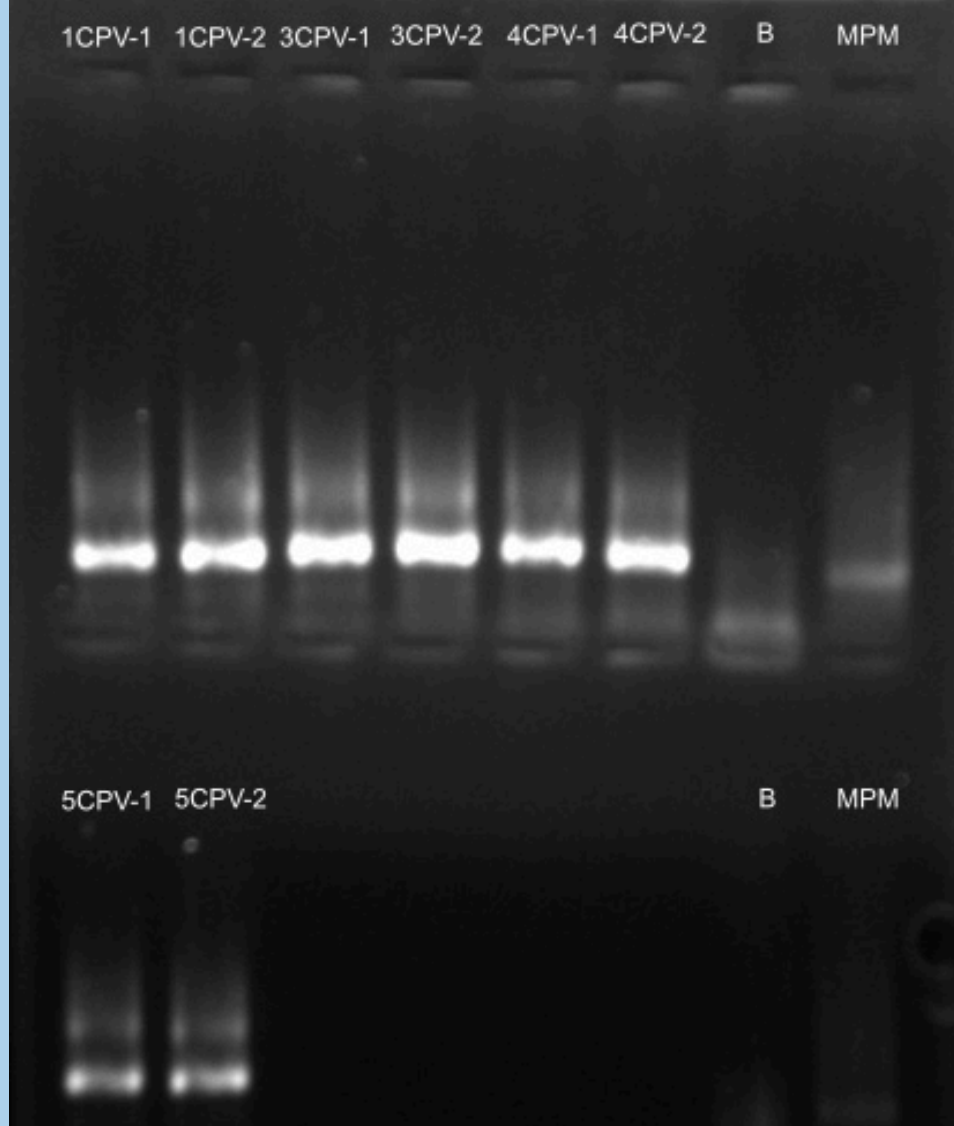


Fig. 2 - Gel de agarosa de la primera ronda de Multiplex-PCR

Muestra	CPV-2	18S
M1	4.47	28.30
M2	29.1	12.85
M3	8.2	25.50
M4	18	23.58
M5	6.5	22.66
C+	15.50	-
C-	No amplifica	-

Tabla 1- Valores de Ct obtenidos para el blanco viral y para el control interno 18S

Muestra	Lecturas	Profundidad	Amplitud
M1	1.010.936	24,001×	99,50%
M3	893.473	20,924×	99,50%
M4	206.788	4,723×	98,20%
M5	94.072	2,181×	99,50%

Tabla 2- lecturas, tamaño del genoma, profundidad y amplitud de cobertura por muestra

Muestra	Origen	Variante	Aminoácido VP2-426
M1	Uruguay	CPV-2c	Glutamato (Glu)
M3	Uruguay	CPV-2a	Asparagina (Asn)
M4	Uruguay	CPV-2a	Asparagina (Asn)
M5	Ecuador	CPV-2b	Aspartato (Asp)

Tabla 3- Cepas según el codón en la posición 426 del gen VP2

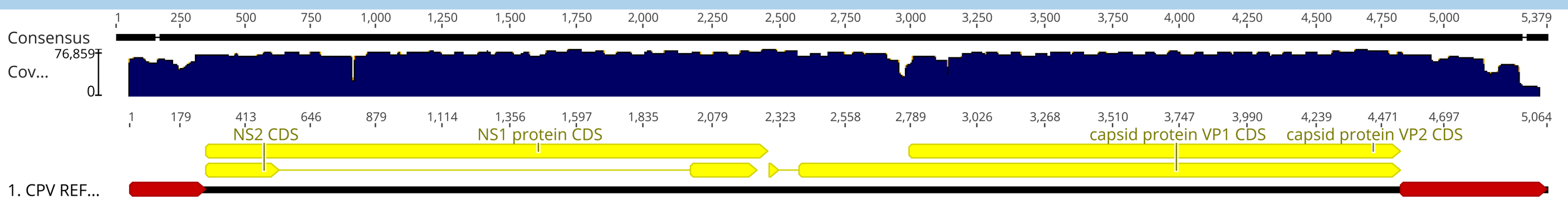


Fig. 3 - Genoma completo de CPV-2

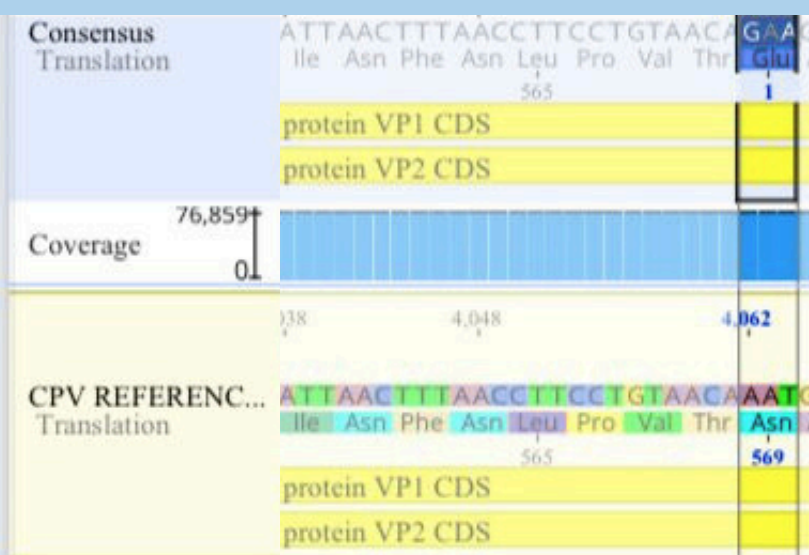


Fig. 4- Genoma y aminoácido VP2 obtenido M1

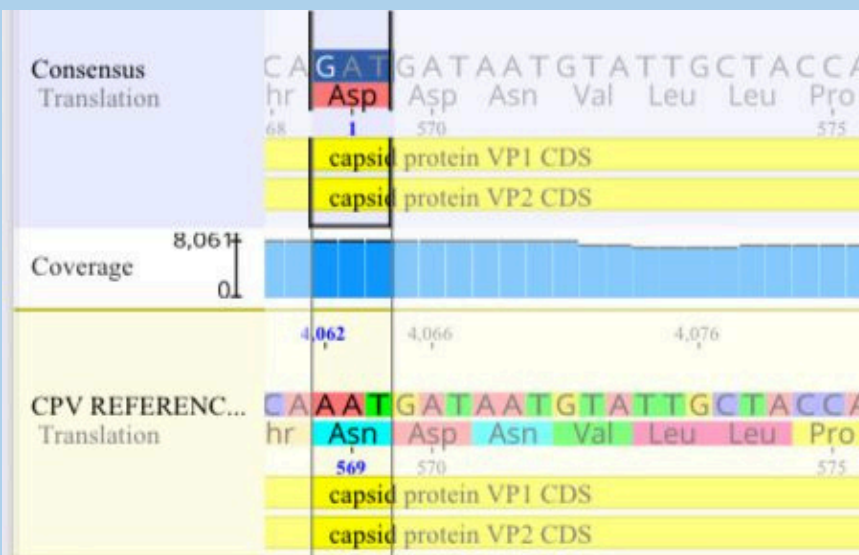


Fig. 5 - Genoma y aminoácido VP2 obtenido M3

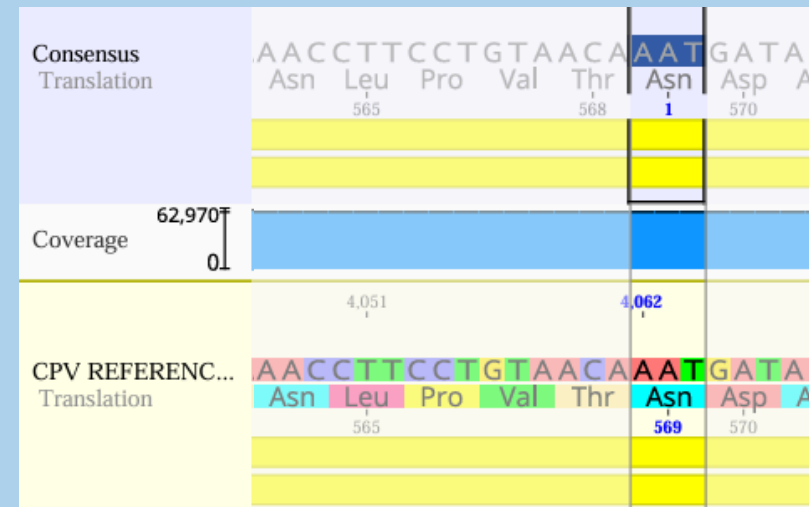


Fig. 6 - Genoma y aminoácido VP2 obtenido M4

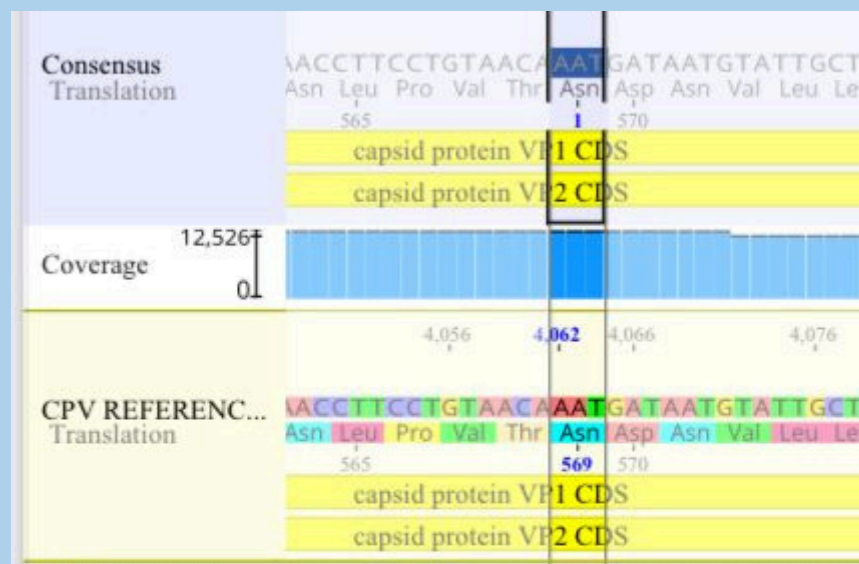


Fig. 7- Genoma y aminoácido VP2 obtenido M5

Conclusiones:

Se logró detectar CPV-2 en las muestras analizadas mediante qPCR, confirmando la presencia viral. La multiplex-PCR mostró amplificación en 4 de las 5 muestras analizadas. La ausencia de amplificación en M2 puede explicarse por su baja carga viral. Mediante el nuevo método de preparación de librerías y secuenciación Illumina se obtuvieron cuatro genomas completos (Figs. 3–6), y las variantes identificadas (Tabla 3), aportando información relevante para la vigilancia molecular en la región.

