

PESQUISA - MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA

PESQUISA DE DNA DE PARVOVÍRUS CANINO EM LYCALOPEX GYMNOCERCUS E CERDOCYON THOUS. / DETECTION OF CANINE PARVOVIRUS DNA IN LYCALOPEX GYMNOCERCUS AND CERDOCYON THOUS.

Júlia Trajano Da Silva (juliatrajano.aluno@unipampa.edu.br)

Isabela Grazini Capelin Ramos Rodrigues (isabellagrazinirodrigues@gmail.com)

Paulo De Souza Junior (paulosouza@unipampa.edu.br)

Mário Celso Sperotto Brum (mariobrum@unipampa.edu.br)

Paula Fonseca Finger (paulafinger@unipampa.edu.br)

Carolina Kist Traesel (carolinatraesel@unipampa.edu.br)

A parvovirose canina é considerada uma das principais doenças infectocontagiosas responsável por ocasionar gastroenterite hemorrágica em cães de companhia jovens. Epidemiologicamente, observa-se que essa doença é amplamente distribuída, possui uma alta morbidade e tem diferentes escalas de gravidade. O agente causador é um vírus pertencente à família Parvoviridae, portanto possui material genético DNA fita simples, não é envelopado e possui tropismo por células mitóticas. Essas características determinam,

respectivamente, que a replicação viral ocorra no núcleo celular, que seja resistente ao ambiente e que acometa principalmente jovens e filhotes. As manifestações clínicas comumente observadas são a diarreia sanguinolenta, anorexia, desidratação e anemia. Ademais, a principal forma de transmissão é a fecal-oral, já que nas fezes há uma alta quantidade de carga viral excretada, visto o enterotropismo do agente. Isso ocorre pois o parvovírus penetra as células epiteliais em divisão das criptas do intestino delgado, causando o achatamento das vilosidades e alteração na permeabilidade dessas estruturas, consequentemente, há o colapso das vilosidades e redução da absorção e digestão de nutrientes. Além disso, observa-se que os animais silvestres estão suscetíveis ao desenvolvimento de doenças comumente observadas em animais de companhia, isso ocorre devido à redução do habitat natural desses animais e ao aumento de contato entre as espécies silvestres e domésticas. Os cães domésticos, principalmente aqueles que vivem em ambientes rurais, constantemente transitam em ambientes selvagens atuando como caçadores e competidores desse ecossistema, e tornam-se fonte de disseminação de patógenos. Os canídeos silvestres, devido a sua similaridade genética e evolutiva, são suscetíveis a se infectar por patógenos e a desenvolver doenças de cães domésticos, como por exemplo, a parvovirose canina. Por isso, o objetivo deste trabalho é detectar a presença de parvovírus canino em canídeos silvestres da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul. Para isso, foram obtidas 8 amostras de 3 cães silvestres atropelados em diferentes pontos da rodovia, sendo elas fígado, baço e intestino provenientes de 2 machos da espécie *Lycalopex gymnocercus*, e fígado e baço proveniente de 1 macho da espécie *Cerdocyon thous*. Para a extração de DNA, foi realizada a técnica de fenol:clorofórmio, utilizando-se 150 mg de cada amostra e, posteriormente, foi feita a purificação e a ressuspensão em 32 µL de Tris-Edta buffer. Os produtos obtidos foram mensurados em equipamento NanoVue® e diluídos com água ultrapura até que ficassem com a concentração de, aproximadamente, 200 ng/µL de DNA total. A reação em cadeia de polimerase foi conduzida utilizando-se 12,5 µL de Master Mix® (Promega), 9 µL de H₂O ultrapura, 1,25 µL de cada primer e 200 ng de DNA total. O par de primer utilizado na reação foi o CPV555_for (5'-CAGGAAGATATCCAGAAGGA-3') e o CPV555_rev (5'-GGTGCTAGTTGATATGTAATAACA-3'). Além disso, foi realizada a extração de

DNA total da vacina V11 Elevencell Vac® (Labovet), seguindo o mesmo método fenol:clorofórmio supracitado, a fim de obter um controle positivo para o parvovírus canino, em seguida foi mensurado o produto e visualizado a concentração de 200 ng/μL e, por fim, empregou-se água ultrapura como controle negativo. Os produtos foram submetidos ao termociclador nas condições de 94 °C por 2 minutos, visando sua desnaturação inicial, 94 °C por 45 segundos, 50 °C por 45 segundos e 72 °C por 45 segundos em um total de 30 ciclos, a fim de sua amplificação, e 72 °C por 7 minutos, visando sua extensão final. Em seguida, foi produzido um gel de agarose 1,5% com corante SybrGreen® e realizado a eletroforese nas condições de 60 V por 90 minutos. Como resultado, foi visualizada a banda positiva de tamanho 583 bp correspondente à amplificação de DNA da vacina. No entanto, não houveram resultados positivos referente às amostras dos canídeos silvestres. Em síntese, a parvovirose canina é uma enfermidade viral comumente observada na clínica de pequenos animais e que, devido às características estruturais do vírus, apresenta alta morbidade e alta letalidade em filhotes. A redução do habitat selvagem e a crescente interação entre cães domésticos e silvestres permite que haja troca de patógenos entre essas populações. Por isso, a detecção de parvovírus canino em canídeos silvestres torna-se essencial para compreender a evolução e disseminação do agente, além de possibilitar a criação de estratégias de monitoramento e prevenção voltadas à proteção da vida selvagem.

Palavras-chave: pcr; cpv-2; canídeos silvestres.