

# DETECÇÃO MOLECULAR E ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GENE *N* DE AMOSTRAS DO VÍRUS DA CINOMOSE CANINA EM PORTO ALEGRE, RS.

Bruno Melo Teixeira<sup>1</sup>

1- Instituto de Ciências Básicas da Saúde/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS

## Introdução

O vírus da cinomose canina (CDV) pertence ao gênero *Morbillivirus* e causa uma doença multisistêmica em cães e outros carnívoros com sinais respiratórios, gastrointestinais, neurológicos e cutâneos. O vírus possui um genoma composto de RNA fita simples com aproximadamente 15,9 kb, contendo 6 genes que codificam para 8 proteínas (as estruturais N, M, F, H e as não-estruturais P, L, V e C). O gene *N* tem sido usado como um marcador molecular epidemiológico para comparar diferentes cepas de CDV.

O objetivo deste trabalho foi de amplificar um segmento do gene *N* das amostras de CDV obtidas de cães de Porto Alegre, RS e compará-las com sequências disponíveis no banco de dados Genbank, através de análises genômicas.

## Métodos

No total, 41 amostras de urina e 19 de sangue total foram coletadas de animais clinicamente suspeitos. As amostras foram submetidas à extração de RNA posteriormente à transcrição reversa seguida de PCR (RT-PCR) visando a amplificação de um fragmento de 335 pares de bases do gene *N*. Foram utilizados para PCR o *primer* senso P1CDVF: 5'-ATAAAGCATGTCATTATAGTCCTAA-3' e o *primer* antisense P2CDVR: 5'-CTTGAGCTTTCGACCCTTC-3'.

Os *amplicons* selecionados foram clonados em *E. coli* e sequenciados pelo método de Sanger. As sequências do gene *N* foram comparadas com cepas disponíveis no Genbank

## Resultados

Quatorze amostras de urina e oito de sangue total permitiram a amplificação do segmento alvo. As 16 sequências do gene *N* obtidas possuíam de 96,25 a 100% de semelhança nucleotídica; quando comparadas com as cepas vacinais "clássicas" Onderstepoort e Lederle, a semelhança nucleotídica variou de 94,98 a 96,55%. Entretanto, as amostras autóctones foram agrupadas em *clusters* diferentes das cepas vacinais. Quinze das dezesseis amostras clonadas foram agrupadas juntamente com isolados norte-americanos e uruguaios, enquanto uma amostra (KT792867) foi agrupada com isolados chineses e taiwaneses (Figura 1). Portanto, assume-se que variantes de ao menos dois *cluster* diferentes circulam em Porto Alegre.

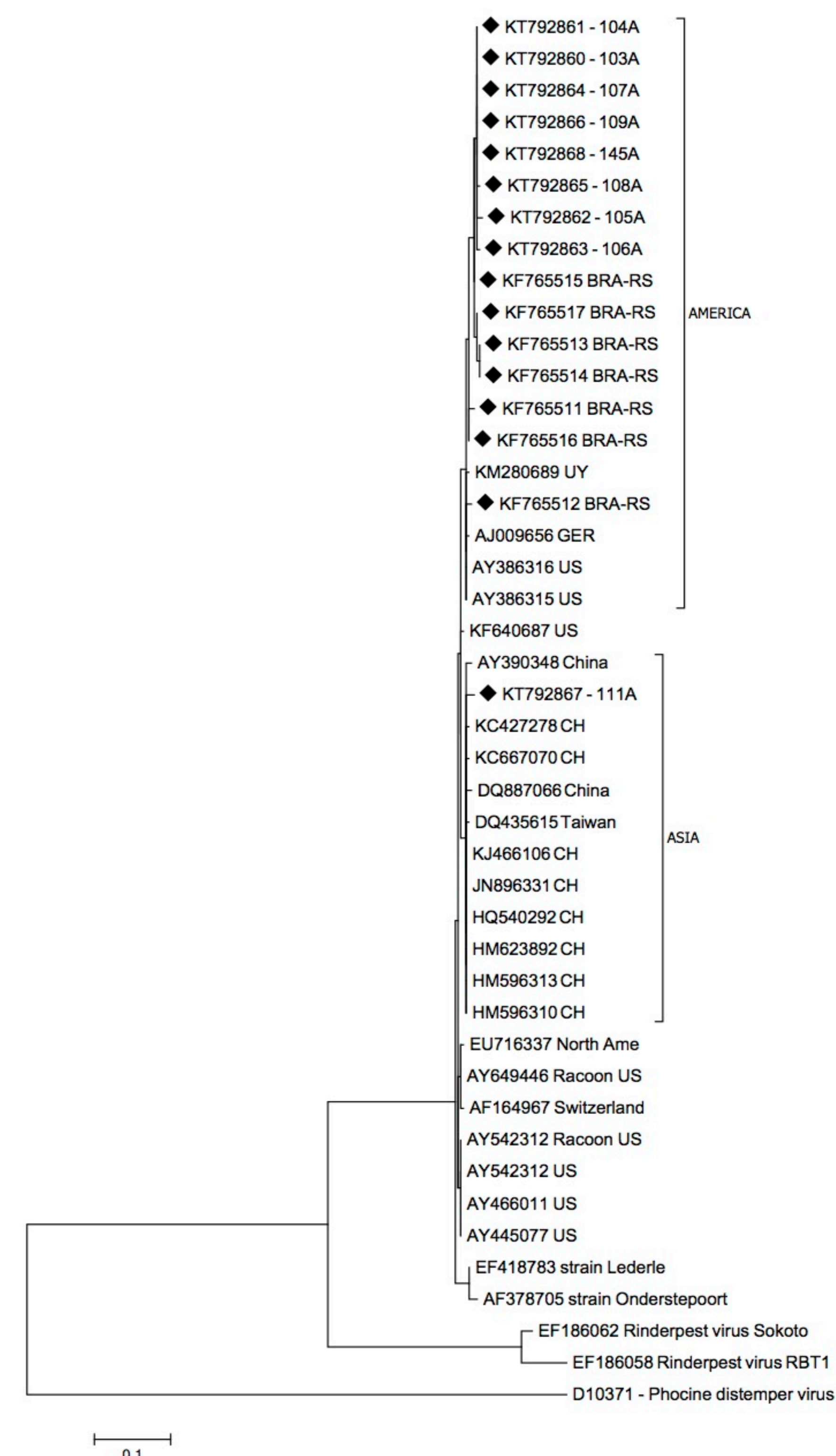


Figura 1. Cepas de CDV de Porto Alegre,RS (indicadas por ♦) agrupadas com isolados disponíveis no Genbank.

## Conclusão

Ao menos duas variantes patogênicas do CDV estão em circulação em cães da região de Porto Alegre

Nesta população amostrada, 93,75% das amostras foram agrupadas com as variantes uruguaias e norte-americanas, ao passo que uma pequena proporção destas amostras (6,25%) parece mais relacionada com isolados chineses e taiwaneses. Conclui-se que estas cepas são semelhantes àquelas circulantes em outros países baseado na análise das sequências de nucleotídeos.

Órgão financiador: FINEP

## Referências

- CASTILHO, J.G. et al . Molecular analysis of the N gene of canine distemper virus in dogs in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v. 59, n. 3, p. 654-659, 2007.
- MEGID, J. et al . Canine distemper virus infection in a lesser grison (*Galictis cuja*): first report and virus phylogeny. *Pesq. Vet. Bras.*, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 247-250, 2013.
- YOSHIDA, E. et al. Molecular analysis of the nucleocapsid protein of recent isolates of canine distemper virus in Japan. *Vet. Microbiol.*, Amsterdam, v. 16, p. 237-244, 1998.
- KEAWCHAROEN, J. et al. Nucleotide sequence analysis of nucleocapsid protein gene of canine distemper virus isolates in Thailand. *Vet. Microbiol.*, Amsterdam, v. 105, p. 137-142, 2005.