

DESENVOLVIMENTO E PADRONIZAÇÃO DE PCR MULTIPLEX PARA DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE PAPILOMAVÍRUS CANINO

Universidade Federal de Sergipe. joseeneto33@gmail.com

Jordana DR Reis ¹

José Al Neto ²

Gerlane S Barros ³

Marcus VA Batista ⁴

Introdução: O papilomavírus canino (CPV) é responsável por diferentes tipos de lesões em cães, como papilomas orais e cutâneos, placas pigmentadas e carcinoma de células escamosas (CCE). Para o diagnóstico molecular do vírus já foram utilizados *primers* degenerados, *primers* para PCR em tempo real, mas não existem *primers* que identifiquem todos os tipos de CPV e nem uma estratégia de PCR multiplex que facilite a genotipagem do vírus. **Objetivo:** Desenvolver e padronizar uma estratégia para detecção molecular e genotipagem de CPV utilizando PCR multiplex. **Metodologia:** As sequências do gene L1 dos 23 tipos de CPV foram obtidas no banco de dados PaVE. Estas foram utilizadas para o desenho dos *primers* no Prime3plus. Os *primers* escolhidos foram testados no Blastn. Foram montados 5 blocos de *primers*; cada um agrupando os tipos com diferença de *amplicon* de 50 pb. O bloco 1 agrupou os tipos CPV1 (182pb), CPV7 (238pb), CPV4 (292pb), CPV3 (356pb). Este bloco foi testado em 33 amostras de lesões causadas pelo vírus. Para a PCR, as condições utilizadas foram: 2 min a 95°C; 40 ciclos de 30s por 95°C, 50s por 55°C e 10s por 72°C; e 10 min a 72°C. O volume final do produto para a reação foi de 25 µL, contendo Taq DNA Polimerase Master Mix Red, os *primers*, a água ultrapura e o DNA molde. Utilizou-se para a eletroforese, a Agarose 1,5%. **Resultados:** As 33 amostras apresentaram *amplicon* de aproximadamente 182pb, identificando o CPV1, que foi confirmado através do sequenciamento de DNA. A amostra de nº 33, que ainda não foi sequenciada, também teve este *amplicon*. **Conclusão:** Este é o primeiro trabalho a desenvolver e padronizar uma reação de PCR multiplex para detecção e genotipagem de CPV. Foi possível fazer a genotipagem do CPV1 em diferentes tipos de lesões, que apresentaram papilomas orais e cutâneos, e CCE oral, demonstrando-se, assim, a importância da estratégia para o diagnóstico molecular do CPV para inferência do tipo viral associado às diferentes lesões que afetam os cães.

Palavras-chave: Papilomavírus canino; PCR multiplex; *primers*.

1. Doutoranda, Universidade Federal de Sergipe, jordana.drreis@gmail.com

2. Graduando, Universidade Federal de Sergipe, joseeneto33@gmail.com

3. Doutoranda, Universidade Federal de Sergipe, gerlane15@live.com

4. Doutor, Universidade Federal de Sergipe, mbatista@academico.ufs.br