

Uso de diferentes espécimes clínicos para o diagnóstico molecular do vírus da cinomose canina

Makiejczuk, A¹; Cardoso, CH¹; Fischer, CDB²; Ikuta, N^{2,4}; Silveira Jr, MAT³ e Lunge, VR^{2,4}

¹ Acadêmicas do Curso de Medicina Veterinária ULBRA ² PPG Biologia Celular e Molecular aplicada à Saúde ULBRA

³ Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas ULBRA ⁴ Docente ULBRA

Introdução

A Cinomose canina é uma doença infecciosa caracterizada por sinais clínicos multi-sistêmicos, responsável por um alto índice de mortalidade entre cães domésticos e selvagens. O agente etiológico é o vírus da cinomose canina (CDV, *canine distemper virus*), o qual possui genoma de RNA fita simples e pertence ao gênero *Morbilivirus*, família *Paramixoviridae*. A partícula viral é constituída por seis proteínas estruturais: fusão, hemaglutinina, matriz, fosfoproteína, proteína L e nucleocapsídeo (figura 1). O diagnóstico clínico da cinomose é presuntivo e se estabelece após exame clínico e anamnese. O conjunto de sinais clínicos entéricos, respiratórios, dermatológicos e neurológicos é o que caracteriza a doença, entretanto, se confunde com outras afecções. Visando auxiliar no diagnóstico, exames laboratoriais estão sendo inseridos na rotina clínica. A técnica de diagnóstico molecular mais utilizada é a RT-PCR, com o uso de sangue e urina como amostras para análise. O objetivo deste estudo foi avaliar uma técnica de *nested*-RT-PCR para análise do CDV em diferentes espécimes clínicos.

Materiais e Métodos

Coleta das amostras (sangue, urina, *swab* anal e *swab* conjuntival) de 88 cães com suspeita clínica de cinomose

Extração de RNA viral

Amplificação do gene do Nucleocapsídeo

Deteção por eletroforese em gel de poliacrilamida e Real Time

Resultados

A evolução clínica foi observada em 84 animais, sendo que 52 (59,1%) tiveram alta, 21 (23,9%) foram eutanasiados e 11 (12,5%) foram a óbito. Um total de 25 destes animais tiveram a infecção pelo CDV confirmada pelo teste rápido comercial (kit Anigen). Na avaliação por RT-PCR, 48 cães (54,54%) apresentaram resultado positivo para CDV em pelo menos um dos espécimes clínicos analisados e foram considerados como positivos (Tabela 1).

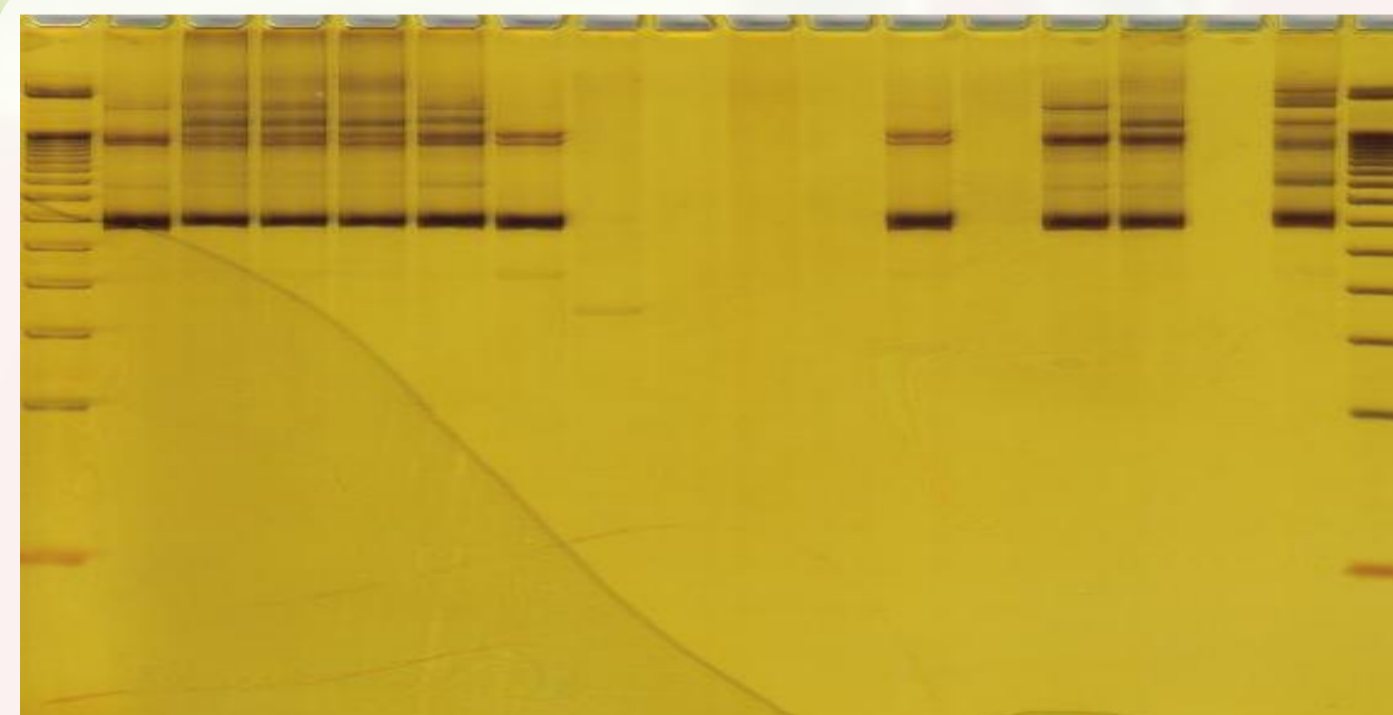


Figura 2: Deteção em gel de poliacrilamida

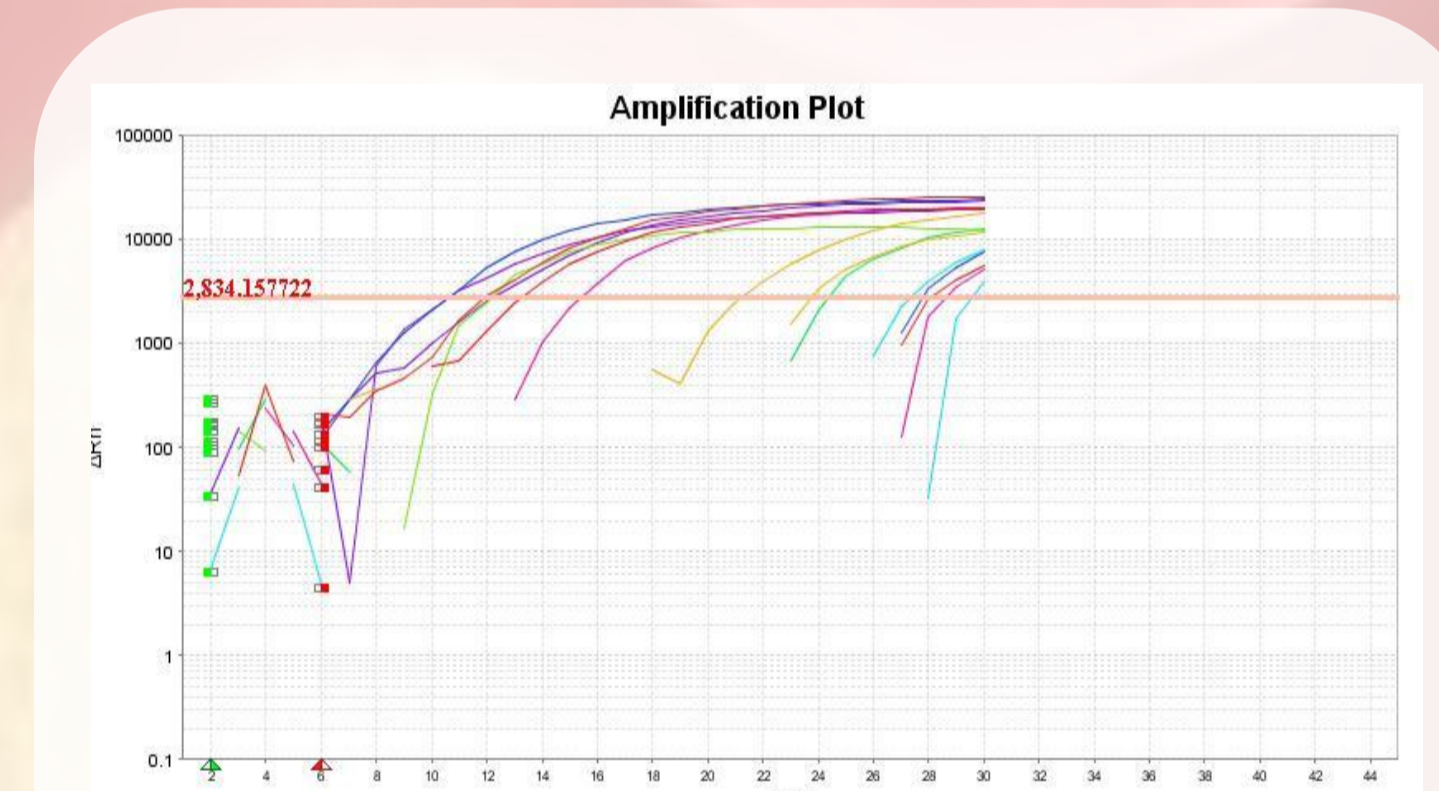


Figura 3: Deteção por Real Time

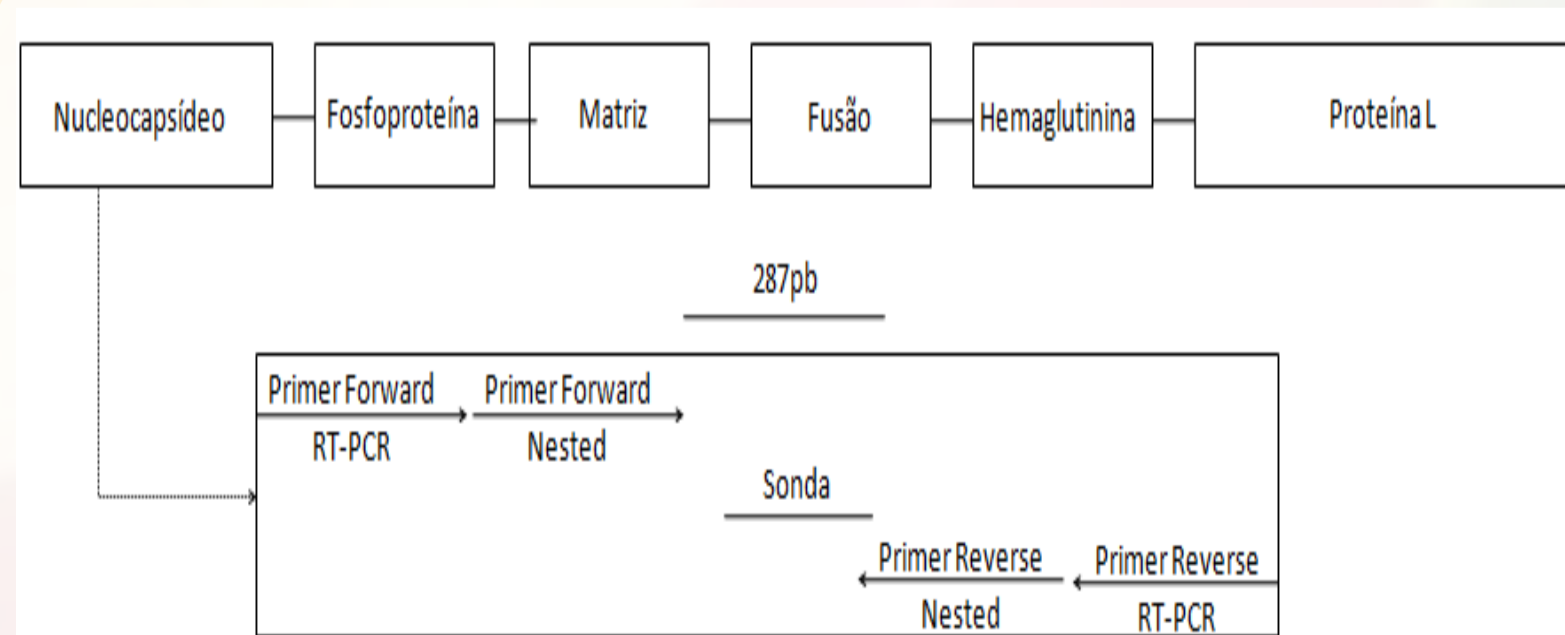


Figura 1: Desenho esquemático do genoma do CDV e Localização dos primers e sonda.

CDV	Sangue	Urina	Swab anal	Swab conjuntival	n (%)
Positivo	+	+	+	+	23 (26.1)
	+	+	+	-	10 (11.4)
	+	+	-	+	1 (1.1)
	+	-	+	+	1 (1.1)
	+	+	-	-	4 (4.5)
	+	-	+	-	2 (2.3)
	+	-	-	-	6 (6.8)
Negativo	-	+	-	-	1 (1.1)
	-	-	-	-	41 (46.6)
Total					88

Tabela 1: Comparação entre os espécimes clínicos

Discussão

Um total de 47 amostras de sangue (53,4%), 39 de urina (44,3%), 36 de *swab* anal (40,8%) e 25 de *swab* conjuntival (28,4%) apresentaram resultado positivo. Em 6 casos a amostra de sangue foi a única que apresentou resultado positivo, enquanto em em 1 caso a urina foi a única que apresentou resultado positivo. Em todos os casos de amostras positivas de swabs anal e conjuntival, a amostra de sangue também apresentou resultado positivo. Estes resultados demonstram que o espécime clínico preferencial para detecção do CDV deve ser o sangue e, alternativamente a este espécime, urina e *swab* anal são espécimes mais adequados do que swab conjuntival.

Financiadores: CNPq e Simbios Biotecnologia