

Tabla 1. Detalle de las muestras procesadas.

	Procedencia	Hospedero	Muestras diagnosticadas	Muestras positivas	Genomas obtenidos	Variante/Linaje
CPV	Argentina	Perro, Gato	65	65	26	CPV-2b, 2c, FPV CPV-2c/2a (1 recombinante)
	Brasil	Perro	11	11	11	CPV-2b, 2c
	Chile	Gato doméstico rural, Guiña	8	8	8	CPV-2b, 2c, FPV
	Ecuador	Perro	8	8	7	CPV-2c CPV-2c/2b (1 recombinante) CPV-2c/2a (1 recombinante)
	Perú	Perro	35	27	27	CPV-2a, 2b, 2c
	México	Perro	33	20	8	CPV-2c
	Uruguay	Perro	76	62	55	CPV-2a, 2c CPV-2a/2c (2 co-infectantes) CPV-2c/2a (1 recombinante)
	Vacunales		2	2	2	CPV-2
TOTALES			238	203	144	
CDV	Argentina	Perro	1	1	1	SA2
	México	Perro, Coatí	23	16	4	Linaje Norteamericano
	Perú	Perro	35	27	2	NA4/SA4
	Uruguay	Perro	66	29	8	EU1/SA1
	Vacunales	Perro	1	1	1	N-CDV
TOTALES			125	74	16	

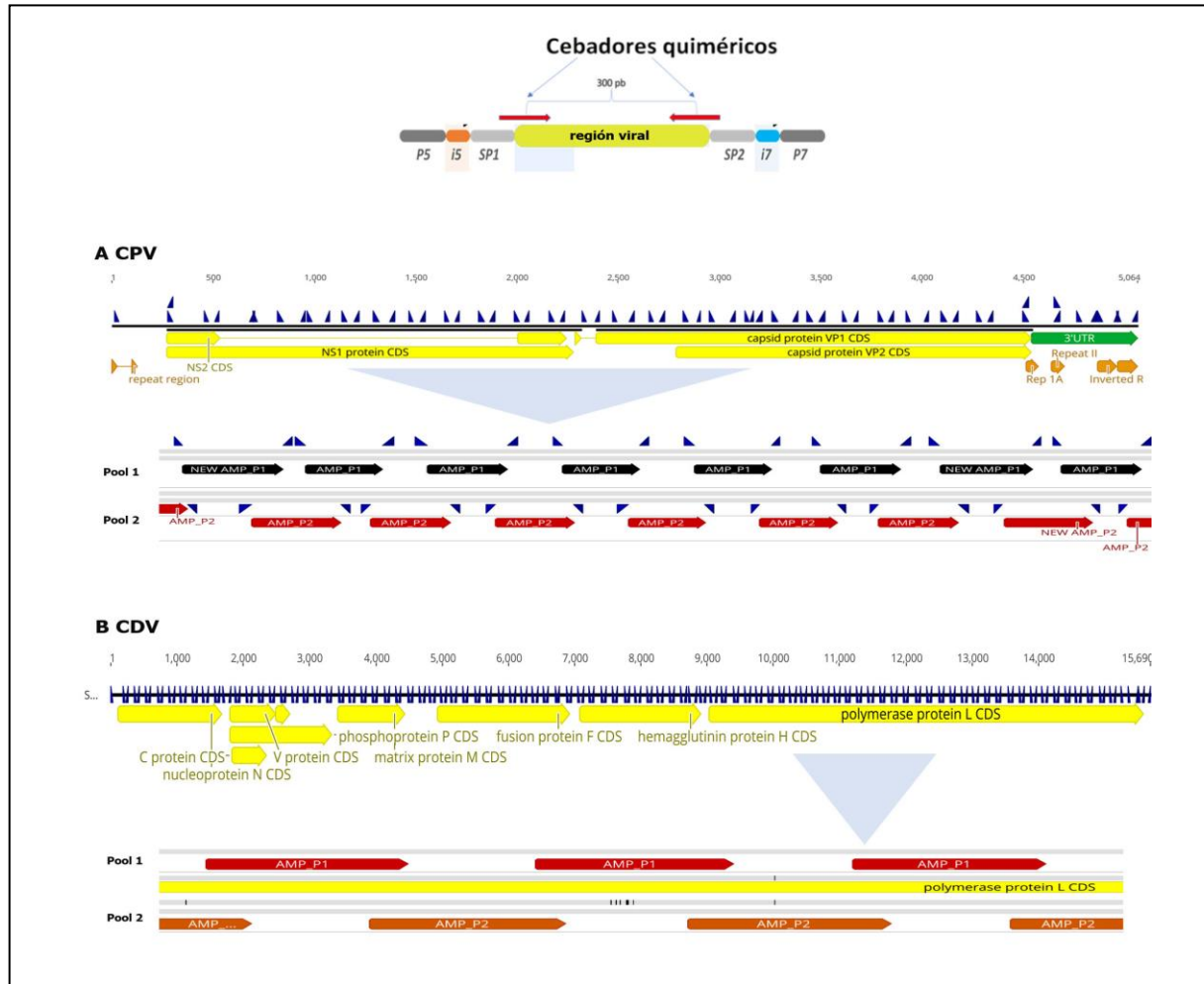


Figura 1. Se esquematiza el sistema de multiplex-PCR. Imagen superior indica la estructura de los cebadores quiméricos. Imágenes Inferiores muestra cada uno de los cebadores anotados en su respectiva secuencia de referencia y la conformación de ambos pools de PCR.

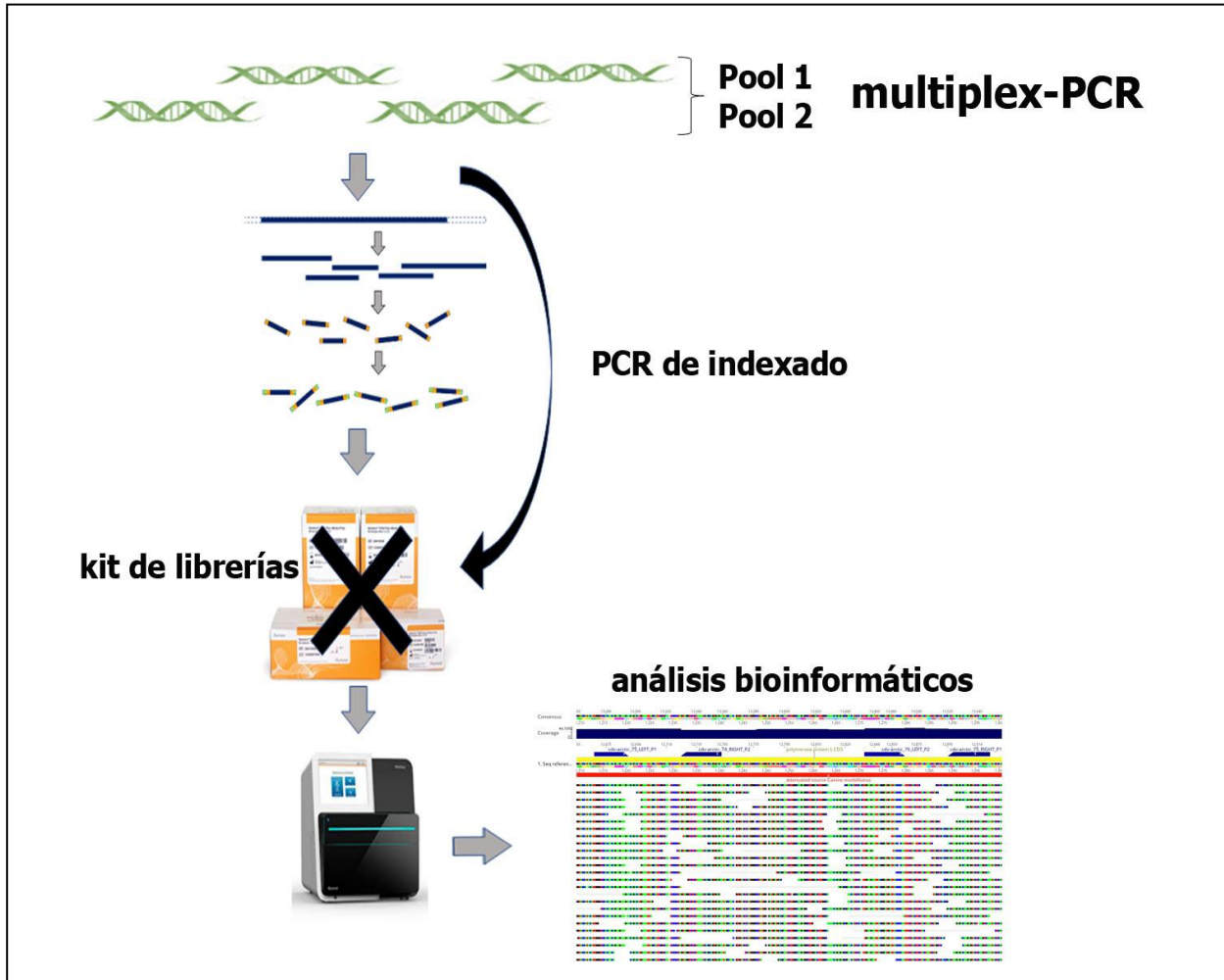


Figura 2. Flujo completo de trabajo. Generación de librerías Illumina por dos rondas de PCR, secuenciación en el MiniSeq y análisis informáticos

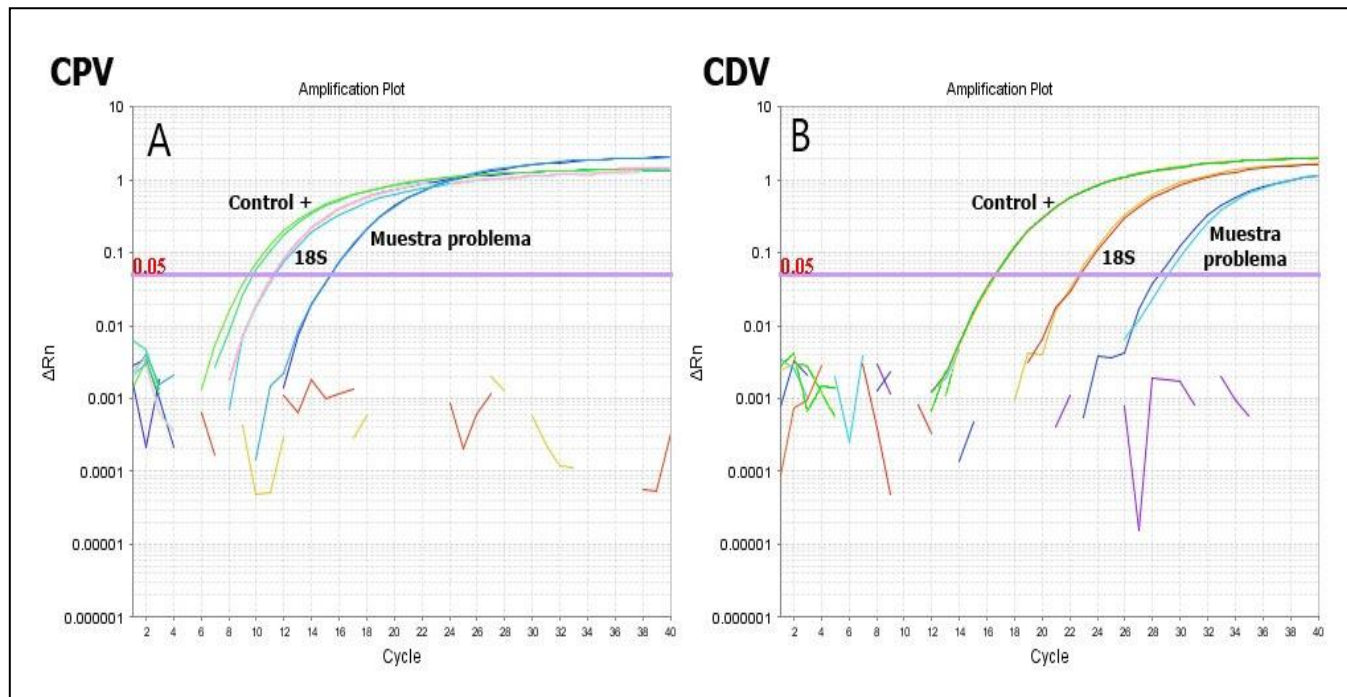


Figura 3. PCR en tiempo real diagn3stica. Todas las reacciones se realizaron por duplicado con un control positivo, un control negativo y un control del hospedero.

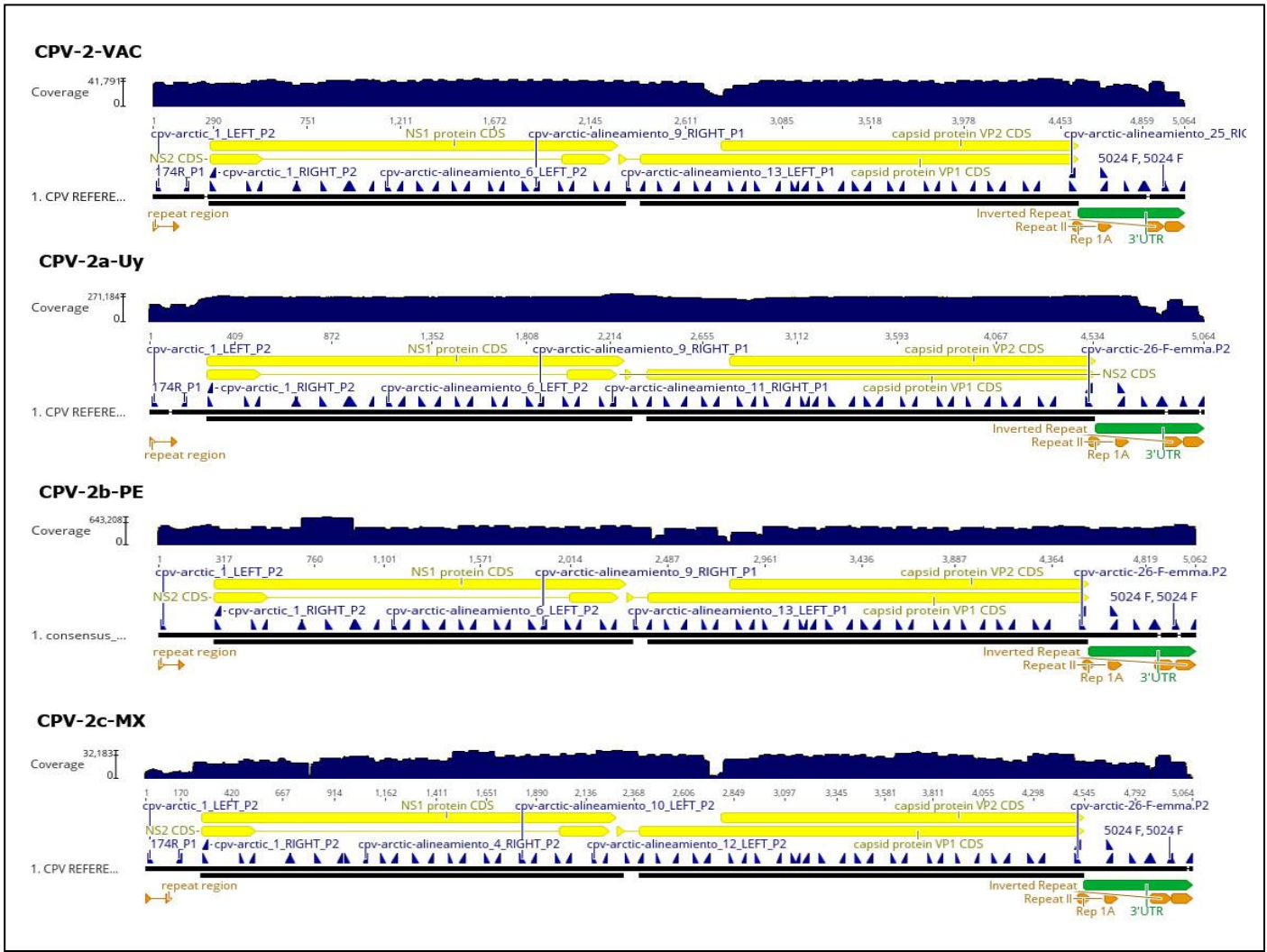


Figura 4. Mapeo de referencia. La gráfica superior indica la profundidad de cobertura promedio y la cobertura genómica

Tabla 2. Se indican los marcadores nucleotídicos y aminoacídicos en las Ns y las VPs para dos muestras recombinantes de Ecuador, se indican los posibles parentales.

ORFs	NS-1										VP-1				VP-1/VP-2							
Nt position	165	444	562	1062	1098	1377	1449	1631	1975	2004	2086	2113	2259	2355	3153	3315	3333	3790	3792	3832	3864	3921
Aa position	E55	R148	L188	L354	Q366	I459	I483	F544Y	L659	D668E	Int	Int	L58	K90	Q213	F267	C273	N426E	N426E	T440S	T450	I469
2a	A	T	C	A	A	C	T	T	T	A	A	G	G	A	G	C	C/T	A	T	T	T	C
2b (Ecuador)	A	T	C	A	A	C	T	T	T	A	A	G	G	A	G	C	C	G	T	T	T	C
Muestra de Ecuador (2b)	G	C	T	G	G	T	C	A	C	T	G	A	A	G	G	C	C	G	T	T	T	C
2c (europea)	G	C	T	G	G	T	C	A	C	T	G	A	A	G	A	T	T	G	A	A	C/T	T

ORFs	NS-1										VP-1				VP-1/VP-2							
Nt position	165	444	562	1062	1098	1377	1449	1631	1975	2004	2086	2113	2259	2355	3153	3315	3333	3790	3792	3832	3864	3921
Aa position	E55	R148	L188	L354	Q366	I459	I483	F544Y	L659	D668E	Int	Int	L58	K90	Q213	F267	C273	N426E	N426E	T440S	T450	I469
2b (Ecuador)	A	T	C	A	A	C	T	T	T	A	A	G	G	A	G	C	C	G	T	T	T	C
2a	A	T	C	A	A	C	T	T	T	A	A	G	G	A	G	C	C/T	A	T	T	T	C
Muestra de Ecuador (2a)	G	C	T	A	A	T	T	A	C	T	G	A	A	G	A	T	T	A	T	T	T	C
2c (europea)	G	C	T	G	G	T	C	A	C	T	G	A	A	G	A	T	T	G	A	A	C/T	T

Tabla 3. Se muestran los cambios nucleotídicos y la frecuencia de cada uno de ellos en las distintas posiciones del genoma de una muestra uruguaya co-infectante.

Name	Type	Genome Position	Variant Frequency	Sequence	Change	Amino Acid Change
NS1 CDS	CDS	1				
NS2 CDS	CDS	1				
G	Polymorphism	81	7.5%	A	A -> G	
G	Polymorphism	81	7.5%	A	A -> G	
T	Polymorphism	342	6.5%	C	C -> T	
G	Polymorphism	516	7.8%	A	A -> G	
G	Polymorphism	659	23.1%	T	T -> G	V -> G
G	Polymorphism	1058	92.3%	A	A -> G	K -> R
G	Polymorphism	1062	7.5%	A	A -> G	
G	Polymorphism	1098	7.7%	A	A -> G	
C	Polymorphism	1170	8.0%	T	T -> C	
T	Polymorphism	1173	8.2%	C	C -> T	
G	Polymorphism	1215	52.2%	A	A -> G	
	Polymorphism	1215	10.6%	A	(A) ⁴ -> (A) ³	
G	Polymorphism	1216	5.8%	A	A -> G	K -> E
T	Polymorphism	1377	4.5%	C	C -> T	
G	Polymorphism	1464	6.3%	A	A -> G	
T	Polymorphism	1542	51.3%	C	C -> T	
G	Polymorphism	1714	62.2%	A	A -> G	K -> E
G	Polymorphism	1875	7.5%	A	A -> G	
G	Polymorphism	1875	7.5%	A	A -> G	T -> A
C	Polymorphism	1889	44.5%	T	T -> C	L -> P
C	Polymorphism	1889	44.5%	T	T -> C	
C	Polymorphism	1975	8.0%	T	T -> C	
VP1 CDS	CDS	2014				

G	Polymorphism	2054	2.6%	T	T -> G	
G	Polymorphism	2059	32.7%	A	A -> G	
A	Polymorphism	2063	32.7%	G	G -> A	
AG	Polymorphism	2085	11.7%	GA	GA -> AG	
G	Polymorphism	2114	15.6%	T	T -> G	
C	Polymorphism	2136	3.4%	T	T -> C	
	Polymorphism	2315	2.4%	G	(G)8 -> (G)7	
T	Polymorphism	2382	14.8%	A	A -> T	
A	Polymorphism	2432	8.4%	G	G -> A	R -> K
C	Polymorphism	2460	8.7%	T	T -> C	
	Polymorphism	2463	23.2%	A	(A)13 -> (A)12	
	Polymorphism	2464	5.3%	A	(A)13 -> (A)12	
A	Polymorphism	2476	2.0%	G	G -> A	A -> T
C	Polymorphism	2476	6.0%	G	G -> C	A -> P
AT	Polymorphism	2483	3.0%	CA	CA -> AT	A -> D
G	Polymorphism	2494	3.7%	A	A -> G	K -> E
VP2 CDS	CDS	2515				
G	Polymorphism	2528	30.4%	C	C -> G	A -> G
G	Polymorphism	2528	30.4%	C	C -> G	A -> G
A	Polymorphism	2550	8.3%	G	G -> A	
A	Polymorphism	2550	8.3%	G	G -> A	
T	Polymorphism	2551	8.3%	C	C -> T	P -> S
T	Polymorphism	2551	8.3%	C	C -> T	P -> S
A	Polymorphism	2574	8.2%	T	T -> A	
A	Polymorphism	2574	8.2%	T	T -> A	
G	Polymorphism	2649	19.9%	C	C -> G	F -> L
G	Polymorphism	2649	19.9%	C	C -> G	F -> L
A	Polymorphism	2676	11.4%	G	G -> A	
A	Polymorphism	2676	11.4%	G	G -> A	
T	Polymorphism	2817	8.6%	C	C -> T	
T	Polymorphism	2817	8.6%	C	C -> T	
	Polymorphism	3217	12.0%	G	-G	

	Polymorphism	3217	12.0%	G	-G	
T	Polymorphism	3246	23.0%	C	C -> T	
T	Polymorphism	3246	23.0%	C	C -> T	
T	Polymorphism	3314	5.8%	A	A -> T	Y -> F
T	Polymorphism	3314	5.8%	A	A -> T	Y -> F
T	Polymorphism	3345	55.0%	C	C -> T	
T	Polymorphism	3345	55.0%	C	C -> T	
C	Polymorphism	3390	4.6%	T	T -> C	
C	Polymorphism	3390	4.6%	T	T -> C	
T	Polymorphism	3403	50.2%	G	G -> T	A -> S
T	Polymorphism	3403	50.2%	G	G -> T	A -> S
TA	Polymorphism	3484	3.4% -> 5.3%	AT	AT -> TA	I -> Y
TA	Polymorphism	3484	3.4% -> 5.3%	AT	AT -> TA	I -> Y
A	Polymorphism	3739	4.4%	T	T -> A	Y -> N
A	Polymorphism	3739	4.4%	T	T -> A	Y -> N
GAA	Polymorphism	3790	6.7% -> 6.8%	AT	AAT -> GAA	N -> E
GAA	Polymorphism	3790	6.7% -> 6.8%	AT	AAT -> GAA	N -> E
A	Polymorphism	3832	52.6%	G	G -> A	A -> T
A	Polymorphism	3832	52.6%	G	G -> A	A -> T
G	Polymorphism	3850	2.5%	A	A -> G	N -> D
G	Polymorphism	3850	2.5%	A	A -> G	N -> D
A	Polymorphism	4023	21.8%	G	G -> A	
A	Polymorphism	4023	21.8%	G	G -> A	
G	Polymorphism	4226	9.7%	T	T -> G	I -> S
G	Polymorphism	4226	9.7%	T	T -> G	I -> S

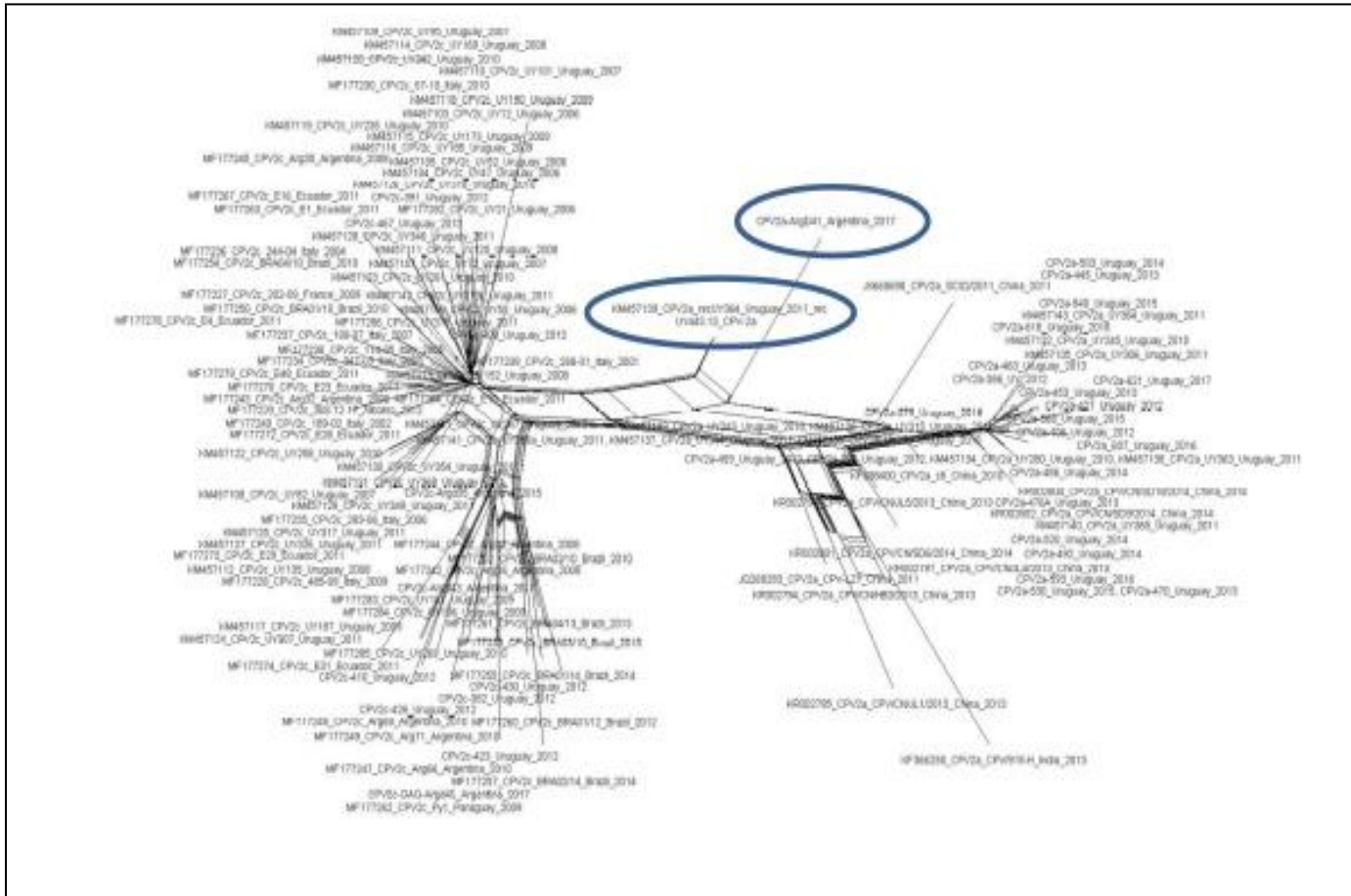


Figura 5. Red filogenética generada a partir de un dataset con 391 secuencias genómicas completas de CPV. Se presentan dos clados principales (cepas CPV-2c y CPV-2a y dos posibles eventos de recombinación (círculo).

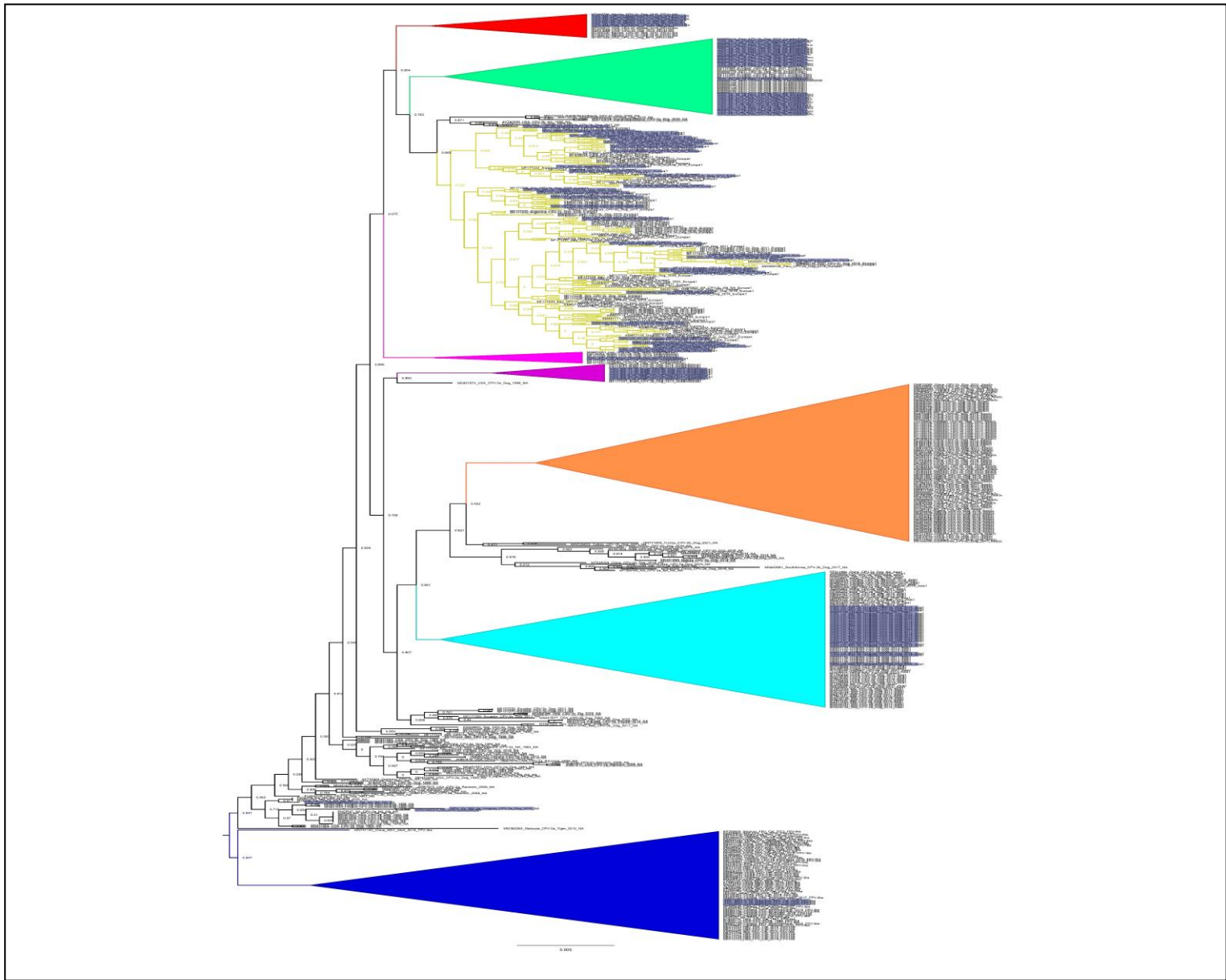


Figura 6. Árbol filogenético obtenido a partir de secuencias genómicas de CPV. Se ven colapsados los clados identificados: en azul las secuencias FPV-like utilizadas para enraizar el árbol, en violeta en grupo 1, naranja el grupo 2, celeste el grupo 3, rosado el grupo 4, rojo el grupo 5, verde el grupo 6 y amarillo el grupo 7. En azul sobre las taxas se resaltan las secuencias obtenidas en el proyecto.



Figura 7. Mapeo de referencia CDV: A la izquierda se muestra la estadística donde se indica la profundidad de cobertura (coverage mean) y la cobertura genómica (Ref-Seq %).

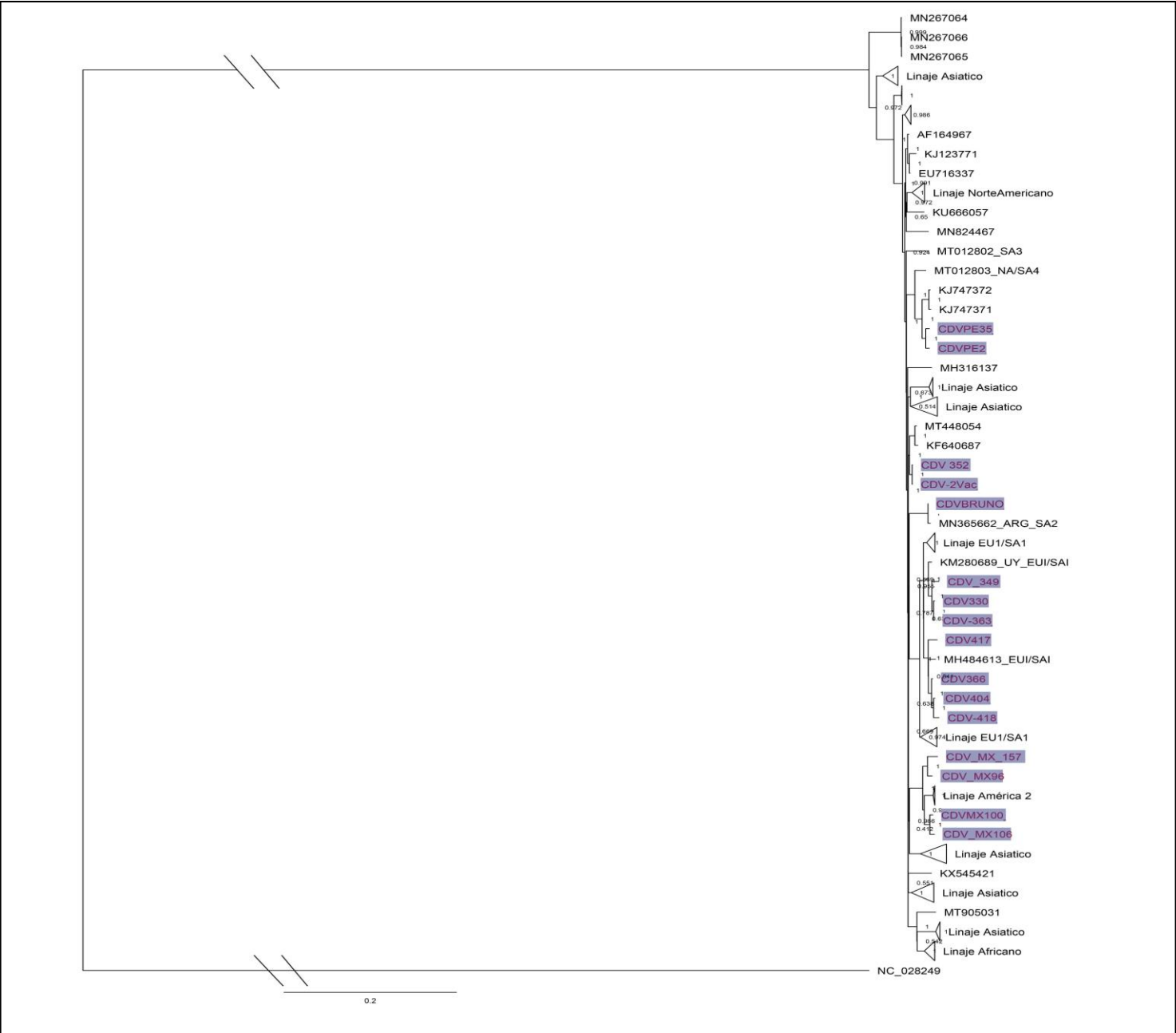


Figura 8. Análisis filogenético basado de CDV. Se colapsaron los linajes que no incluyen cepas Latinoamericanas. Las secuencias obtenidas durante el proyecto se encuentran sombreadas.