

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta  
Dissertação será disponibilizado  
somente a partir de 03/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DETECÇÃO DO DNA DOS PAPILOMAVÍRUS EM AMOSTRAS  
DE CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS E SARCOIDE EM  
EQUINOS

ANA MARIA DIAS DA COSTA

BOTUCATU - SP  
2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DETECÇÃO DO DNA DOS PAPILOMAVÍRUS EM AMOSTRAS  
DE CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS E SARCOIDE EM  
EQUINOS

ANA MARIA DIAS DA COSTA

Dissertação apresentada junto ao  
programa de Pós-graduação em  
Medicina Veterinária para obtenção  
do título de Mestre.

Orientador: Prof. Assoc. Dr. José  
Paes de Oliveira Filho

BOTUCATU – SP

2025

C837d Costa, Ana Maria Dias da  
Detecção do DNA dos papilomavírus em amostras de carcinoma de células escamosas e sarcoide em equinos / Ana Maria Dias da Costa. -- , 2025  
44 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,  
Orientador: José Paes de Oliveira-Filho

1. Cavalo. 2. Diagnóstico. 3. EcPV 1. 4. Neoplasias. 5. PCR.  
I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

Nome do autor: Ana Maria Dias da Costa

Título: DETECÇÃO DO DNA DOS PAPILOMAVÍRUS EM AMOSTRAS DE  
CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS E SARCOIDE EM EQUINOS

### COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. José Paes Oliveira-Filho  
Presidente e Orientador  
Departamento de Clínica Veterinária  
FMVZ – UNESP – Botucatu, São Paulo.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thaís Gomes Rocha  
Membro Titular  
Departamento de Clínica e Cirurgia  
Veterinária  
FCAV – UNESP, Jaboticabal, São Paulo.

Prof. Dr. Didier Quevedo Cagnini  
Membro Titular  
Departamento de Patologia Veterinária  
FMVZ – UNESP – Botucatu, São  
Paulo.

Datada defesa: 03 de fevereiro de 2025

## **AGRADECIMENTOS**

Antes tudo, venho a agradecer a Deus pelas oportunidades oferecidas, a força e a saúde para a realização de mais um trabalho.

Agradeço à minha família, principalmente aos meus pais, Vandelina Dias da Costa e José Walter Dias da Costa, por todo apoio, paciência, compreensão e ensinamentos durante todos os anos de minha vida. Aos meus irmãos, Ana Paula Dias da Costa e José Walter Dias da Costa Júnior, que sempre estiveram ao meu lado, sendo desde cedo os meus alicerces.

Um agradecimento especial também a todos os amigos que surgiram ao longo dessa jornada, principalmente a vocês Thaís Fernanda Ribeiro, Lucas Gabriel Rocha e Kaíque de Moura Pires, que inúmeras vezes foram meus braços e minhas pernas nessa etapa, sendo responsáveis por momentos incríveis vividos por aqui. Não posso deixar de agradecer também ao senhor de Chapéu Preto, o Sr Marco Antônio (Marquinho), um paizão que ganhei aqui, por toda ajuda e suporte ao longo desses anos.

Ao professor José Paes de Oliveira-Filho, pelas oportunidades ofertadas, assim como todo o apoio fornecido. À equipe da Clínica de Grande Animais (GGA), do Laboratório de Biologia Molecular de Clínica Veterinária da Universidade Estadual Paulista (LBMCV-UNESP) e ao Serviço de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS), pela colaboração no desenvolvimento da pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil, nº 2021/10987-3; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil, nº 305172/2021-2; e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES), Brasil, Código de Financiamento 001, órgãos responsáveis pelo financiamento e apoio da pesquisa.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação do capsídeo de BPV. B- Micrografia eletrônica de contraste negativo de vírions do (HPV-1) (Adaptado de MACLACHLAN & DUBOVI, 2017) ..... 5
- Figura 2 – Crescimento de células neoplásicas pela ação das oncogenes virais E6 e E7 (Adaptado de HOPPE-SEYLER et al., 2017) ..... 7
- Figura 3 – Eventos na infecção de queratinócitos pelo papilomavírus. (1) Infecção primária – células do estrato basal. (2) Proliferação lenta das células infectadas. (3) Diferenciação celular associada a formação de um papiloma, com eliminação dos vírions com células esfoliadas do estrato córneo (Adaptado de MACLACHLAN & DUBOVI, 2017) ..... 8

## LISTA DE ABREVIações

BPV - *Bos taurus* papillomavirus

CCE - Carcinoma de células escamosas

EcPV - *Equus caballus* papillomavirus

FFPE - fixados em formalina e embebidos em parafina

Kb - Quilobases

Kg - Quilograma

LCR - Região de códon longo

Mg - Miligrama

min. - Minutos

ng - Nanograma

nm – Nanômetros

OaPV - *Ovine* papillomavirus

pb - Pares de bases

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

pRb – Proteína retinoblastoma

s - Segundos

μL - Microlitro

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO I	
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Papilomavírus.....	5
2.2. <i>Bos taurus</i> papillomavirus.....	9
2.3. <i>Equus caballus</i> papillomavirus.....	9
2.4. Sarcoide.....	10
2.5. Carcinoma de Células Escamosas.....	11
3. REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO II	
Trabalho científico.....	20
CAPÍTULO III	
Conclusão Geral.....	34
Anexos.....	35

COSTA, A.M.D. **Detecção do DNA dos papilomavírus em amostras de carcinoma de células escamosas e sarcoide em equinos.** Botucatu, 2025. 44p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

Os *Equus caballus* papillomavirus (EcPV) têm sido associados a diversas neoplasias em equinos, como papilomatose clássica e genital, carcinomas de células escamosas (CCE) e placa aural. Uma vez que os EcPV 2, 4, 7 e 9 já foram associados a lesões neoplásicas genitais e penianas em equinos, e que o papilomavírus bovino (BPV) participa da etiologia do sarcoide equino, o objetivo deste estudo foi identificar a presença do BPV 1 e 2 e dos EcPV 1 ao 10 em amostras de CCE e sarcoides em equinos por PCR. Foram avaliadas 50 amostras de sarcoide e 26 amostras de CCE, entre amostras de tecido fresco congelado e fixado em formalina e embebido em parafina (FFPE). Todas as amostras tiveram o diagnóstico confirmado por histopatologia. O DNA do BPV foi identificado em 60% (30/50), desses 57% (17/30) foram positivos para o DNA do BPV 1, enquanto 37% (11/30) positivos para o BPV 2, com codetecção ocorrendo em 6% (2/30) das amostras de sarcoide avaliadas. Enquanto o EcPV estava presente em 54% (14/26) dos CCE e em 4% (2/50) dos sarcoides avaliados, confirmadas por meio de sequenciamento. Apenas os EcPV 1 (14%, 2/14) e EcPV 2 (86%, 12/14) foram detectados nas amostras de CCE, enquanto apenas o EcPV 1 foi identificado nos sarcoides (100% 2/2). Os EcPV 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 não foram identificados em nenhuma amostra avaliada. Dessa forma, os resultados sugerem que além do EcPV 2, o tipo 1 pode ser um possível agente envolvido nos casos de CCE e sarcoide em equinos. O esclarecimento sobre os agentes envolvidos nas neoplasias é fundamental para o direcionamento de medidas preventivas assim como controle mais eficaz dessas enfermidades.

**Palavras-chave:** Cavalos; Diagnóstico; EcPV 1; Neoplasias; PCR.

COSTA, A.M.D. **Detection of papillomavirus DNA in samples of squamous cell carcinoma and sarcoid in horses.** Botucatu, 2025. 44p. Dissertação (Mestrado) – School of Veterinary Medicine and Animal Science, Campus de Botucatu, São Paulo State University.

## **ABSTRACT**

*Equus caballus* papillomavirus (EcPV) has been associated with several neoplasms in horses, such as classic and genital papillomatosis, SCC, and aural plaque. Since EcPV 2, 4, 7, and 9 are associated with genital and penile neoplastic lesions in horses and bovine papillomaviruses (BPV) are involved in the etiology of equine sarcoid, this study aimed to identify the presence of BPV and EcPV in samples of squamous cell carcinoma (SCC) and sarcoids in horses by PCR. Fifty sarcoid samples and 26 SCC samples were evaluated, allotted between fresh tissue and FFPE samples, all with confirmatory diagnoses performed via histopathology and tested for the presence of BPV by PCR. BPV 1 and 2 DNA was identified in 60% (30/50) of these, 57% (17/30) were positive for BPV 1 DNA, while 37% (11/30) were positive for BPV 2, with co-detection occurring in 6% (2/30) of sarcoid samples. While EcPV were present in 54% (14/26) of SCC and 4% (2/50) of sarcoids evaluated, confirmed by sequencing. Only EcPV 1 (14%, 2/14) and EcPV 2 (86%, 12/14) were detected in SCC samples, while only EcPV 1 was identified in sarcoids (100% 2/2). EcPV 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10 were not identified in any sample evaluated. Thus, the results suggest that in addition to EcPV 2, type 1 may be a possible agent involved in SCC and sarcoid cases in horses. Clarification of the agents involved in neoplasias is essential for directing preventive measures as well as more effective control of these diseases.

**Keywords:** Equine; Diagnosis; EcPV 1; Neoplasia; PCR.

# ***CAPÍTULO I***

## 1. INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas (CCE) e o sarcoide são as principais neoplasias cutâneas descritas em equinos (CARVALHO et al., 2014; CHRISTEN et al., 2014; KNOTTENBELT et al., 2015; ZAHRA et al., 2019). Os CCE são tumores epiteliais malignos formados a partir da transformação neoplásica de queratinócitos (SCOTT & MILLER, 2011). As lesões podem ser encontradas em qualquer parte do corpo dos equinos, entretanto, são mais comuns em áreas de pele não pigmentada e em junções mucocutâneas, como na região ocular e genitália externa (SCOTT & MILLER 2011; SYKORA et al., 2012).

Já os sarcoides, considerados como tumores fibroblásticos benignos, apresentam altas taxas de recorrências e elevada capacidade infiltrativa, o que dificulta sua resposta a diferentes terapias (PLUMMER, 2005; HOLLIS, 2024). Presentes em qualquer região do corpo do equino, mas com maior frequência em região de cabeça, membros e região ventral do corpo (SCOTT & MILLER, 2011), os sarcoides podem ser classificados de acordo com sua aparência, como: oculto, verrucoso, nodular, fibroblástico, misto e maligno (KNOTTENBELT et al., 2015; ZAHRA et al., 2019),

Entretanto, mesmo sendo as principais neoplasias cutâneas identificadas em equinos (CARVALHO et al., 2014; CHRISTEN et al., 2014), alguns dos agentes envolvidos e os mecanismos relacionados ao desenvolvimento ainda não foram totalmente definidos (SYKORA & BRANDT, 2017). Os principais fatores relacionados ao surgimento dessas neoplasias são exposição solar relacionados aos casos de CCE, inflamações crônicas e a predisposição genética (SCOTT & MILLER, 2011). Além disso, o papilomavírus desempenha um papel considerável no surgimento dessas neoplasias (SYKORA et al., 2012; KNOTTENBELT et al., 2015; MUNDAY et al., 2021).

Dos papilomavírus, os *Equus caballus* papillomavirus (EcPV) 2 e 7 são relacionados aos casos de CCE em equinos, enquanto a infecção pelo *Bos taurus* papillomavirus (BPV) tipo 1, 2 e 13 são considerados os principais fatores desencadeantes do sarcoide na espécie (LUNARDI et al., 2013; CHRISTEN et al., 2014; KNOTTENBELT et al., 2015; ZAHRA et al., 2019; MUNDAY et al., 2021).

that it may influence the formation of these neoplasms, but further research is needed to confirm this statement.

The detection of EcPV 3 to 10, was not observed in any of the samples evaluated. Clarification of the agents involved in neoplasms is essential for determining preventive measures, especially those related to the immunization of animals.

### Conflict of interest statement

No competing interests have been declared.

### Acknowledgments

This study was funded by the São Paulo Research Foundation (FAPESP, Brazil), grant numbers 21/10987-3, National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), grant 305172/2021-2 and by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES), Brasil (finance code 001).

### References

- [1] S. Sykora, S. Brandt, Papillomavirus infection and squamous cell carcinoma in horses, *Vet. J.* 223 (2017) 48 – 54. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.05.007>.
- [2] BK de Alcântara, AA Alfieri, AS Headley, WB Rodrigues, RAA Otonel, M. Lunardi, AF, Alfieri, Caracterização molecular de DNA do papilomavírus Delta bovino (BPV 1, 2 e 13) em sarcoides equinos, *Pesq. Vet. Bras.* 35 (2015) 431 – 6. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000500007>.
- [3] S. Sykora, L. Samek, K. Schönthaler, F. Palm, G. Borzacchiello, C. Aurich, S. Brandt, Ecpv-2 Is transcriptionally active in equine SCC but only rarely detectable in swabs and semen from healthy horses, *Vet. Microbiol.* 158 (2012) 194 – 198. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.02.006>.
- [4] CG Knight, M. Dunowska, JS Munday, J. Peters-Kennedy, BV Rosa, Comparison of the levels of Equus caballus papillomavirus type 2 (EcPV-2) DNA in equine squamous cell carcinomas and non-cancerous tissues using quantitative PCR, *Vet. Microbiol.* 166 (2013) 257 – 262. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.06.004>.

- [5] JS Munday, CG Knight, JA Luff, Papillomaviral skin diseases of humans, dogs, cats and horses: A comparative review. Part 2: Preneoplastic and neoplastic diseases, *Vet. J.* 288 (2022) 105898. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2022.105897>.
- [6] E. Alloway, K. Linder, S. May, T. Rose, J. DeLay, S. Bender, A. Tucker, J. Luff A subset of equine gastric squamous cell carcinomas is associated with *Equus caballus* Papillomavirus-2 infection, *Vet. Pathol.* 57 (2020) 427 – 431. <https://doi.org/10.1177/0300985820908797>.
- [7] I. Porcellato, P. Modesto, K. Cappelli, K. Varello, S. Peletto, C. Brachelente, I. Martini, L. Mechelli, A. Ferrari, A. Ghelardi, E. Razzuoli, *Equus caballus* papillomavirus type 2 (EcPV2) in co-occurring vulvar and gastric lesions of a pony, *Res. Vet. Sci.* 132 (2020) 167 – 171. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.06.003>.
- [8] N. Yamashita-Kawanishi, S. Ito, JK Chambers, K. Uchida, M. Sato, HW Chang, C. Knight, F. van der Meer, T. Haga, Vulvar squamous cell carcinoma associated with *Equus caballus* papillomavirus type 2 infection in a Japanese mare. *Tumor Virus. Res.* 12 (2021) 200226. <https://doi.org/10.1016/j.tvr.2021.200226>.
- [9] G. Tura, B. Brunetti, L. Ressel, A. Kapetanou, B. Bacci, EcPV2 IN-SITU hybridization and expression of cell cycle proteins P53 and CDKN2A in equine squamous cell carcinomas, *J. Comp. Pathol.* 191 (2022) 16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2021.11.037>
- [10] L. Tuomisto, J. Virtanen, K. Kegler, L. Levanov, A. Sukura, T. Sironen, M. Kareskoski, 2024. *Equus caballus* papillomavirus type 2 (EcPV2) associated benign penile lesions and squamous cell carcinomas. *Vet. Med. Sci.* e1342. <https://doi.org/10.1002/vms3.1342>.
- [11] JS Munday, CG Knight, CJ Bodaan, C. Codaccioni, MR Hardcastle, *Equus caballus* papillomavirus Type 7 is a rare cause of equine penile squamous cell carcinomas, *Vet. J.* 306 (2024) 106155. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2024.106155>.
- [12] A. Martens, A. de Moor, R. Ducatelle, PCR detection of bovine papilloma virus DNA in superficial swabs and scrapings from equine sarcoids, *Vet. J.* 161 (2001) 280 – 286. <https://doi.org/10.1053/tvj.2000.0524>.

- [13] M. Lunardi, BK de Alcântara, RAA Otonel, WB Rodrigues, AF Alfieri, AA Alfieri, Bovine papillomavirus type 13 DNA in equine sarcoids, *J. Clin. Microbiol.* 51 (2013) 2167–2171. <https://doi.org/10.1128/jcm.00371-13>.
- [14] R. Lecis, G. Tore, A. Scagliarini, E. Antuofermo, C. Dedola, C. Cacciotto, GM Dore, E. Coradduzza, M. Gallina, M. Battilani, AG Anfossi, M. Muzzeddu, B. Chessa, SR Pittau, A. Alberti, *Equus asinus* papillomavirus (EaPV1) provides new insights into equine papillomavirus diversity, *Vet. Microbiol.* 170 (2014) 213 – 223. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.016>.
- [14] CK Ikechukwu, K. Qin, H. Zhang, J. Pan, W. Zhang, Novel equid papillomavirus from domestic donkey, *Equine Vet. J.* 56 (2024) 171 – 177. <https://doi.org/10.1111/evj.13957>.
- [16] C-X Li, W-S Chang, K. Mitsakos, J. Rodger, EC Holmes, BJ Hudson, Identification of a novel equine Papillomavirus in semen from a thoroughbred stallion with a penile lesion, *Viruses* 11 (2019) 713. <https://doi.org/10.3390/v11080713>.
- [17] J. Peters-Kennedy, CE Lange, SL Rine, RP Hackett, *Equus caballus* papillomavirus 8 (EcPV8) associated with multiple viral plaques, viral papillomas, and squamous cell carcinoma in a horse, *Equine Vet. J.* 51 (2019) 470 – 474. <https://doi.org/10.1111/evj.13046>.
- [18] L. de Paolis, CG de Ciucis CG, S. Peletto, K. Cappelli, S. Mecocci, T. Nervo, L. Guardone, MI Crescio, D. Pietrucci, F. Fruscione, F. Gabbianelli, S. Turco, K. Varello, GG Donato, C. Maurella, P. Modesto, M.G. Maniaci, G. Chillemi, A. Ghelardi, E. Razzuoli, *Equus caballus* papillomavirus type-9 (EcPV9): First detection in asymptomatic Italian horses, *Viruses* 14 (2022) 2050. <https://doi.org/10.3390/v14092050>.
- [19] S. Turco, F. Gabbianelli, CN Mavian, D. Pietrucci, L. de Paolis, R. Gialletti, L. Mechelli, CG Ciucis, K. Cappelli, F. Dell'Anno, S. Mecocci, GG Donato, T. Nervo, F. Fruscione, MI Crescio, A. Ghelardi, G. Chillemi, E. Razzuoli, Genetic characterization of a novel *Equus caballus* Papillomavirus isolated from a thoroughbred mare, *Viruses* 15 (2023) 650. <https://doi.org/10.3390/v15030650>.
- [20] CE Lange, K. Tobler, M. Ackermann, C. Favrot, Identification of two novel equine papillomavirus sequences suggests three genera in one cluster, *Vet. Microbiol.* 149 (2011) 85 – 90. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.10.019>.

- [21] CE Lange, E. Vetsch, M. Ackermann, C. Favrot, K. Tobler, Four novel papillomavirus sequences support a broad diversity among equine papillomaviruses, *J. Gen. Virol.* 94 (2013) 1365 – 1372. <https://doi.org/10.1099/vir.0.052092-0>.
- [22] SMF Torres, SN Koch, Papillomavirus-Associated Diseases, *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 29 (2013) 643 – 655. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2013.08.003>.
- [22] SA Taniwaki, AJ Magro, AC Gorino, JP Oliveira-Filho, MRM Fontes, AS Borges, JP Araujo-Junior, Phylogenetic and structural studies of a novel equine papillomavirus identified from aural plaques, *Vet. Microbiol.* 162 (2013) 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.08.025>.
- [24] KE Linder, P. Bizikova, J. Luff, D. Zhou, H. Yuan, B Breuhaus, E. Nelson, R. Mackay, Generalized papillomatosis in three horses associated with a novel equine papillomavirus (EcPV8), *Vet. Dermatol.* 29 (2018) 72-e30. <https://doi.org/10.1111/vde.12481>.
- [25] CR Bromberger, JR Costa, M. Herman, JM Hernandez, LG Albertino, CEF Alves, AS Borges, JP. Oliveira-Filho, Detection of *Equus caballus* Papillomavirus in Equine Aural Plaque Samples. *J. Equine Vet. Sci.* 128 (2023) 104877. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104877>.
- [26] GG Rodrigues, DS Alves, CR Bromberger, QSS Nomelini, AS Borges, JP Oliveira-Filho, DJZ Delfiol, Clinical and epidemiological aspects in equine aural plaques, *Vet. Res. Commun.* 49 (2024) 1. <https://doi.org/10.1007/s11259-024-10572-0>.
- [27] RC Postey, GD Appleyard, BA Kidney, Evaluation of equine papillomas, aural plaques, and sarcoids for the presence of Equine papillomavirus DNA and Papillomavirus antigen, *Can. J. Vet. Res.* 71 (2007) 28 – 33. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1635997/>.
- [28] JP Oliveira Filho, PR Badial, PHJ Cunha, TF Cruz, JP Araújo Jr, TJ Divers, NJ Winand, AS Borges, Cloning, sequencing and expression analysis of the equine hepcidin gene by real-time PCR, *Vet. Immunol. Immunopathol.* 135 (2010) 34 – 42. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.10.027>
- [29] JS Munday, G. Orbell, RA Fairley, M. Hardcastle, B. Vaatstra, Evidence from a series of 104 equine sarcoids suggests that most sarcoids in New Zealand are caused by bovine Papillomavirus type 2, although both BPV1 and BPV2

- DNA are detectable in around 10% of sarcoids, *Animals (Basel)* 11 (2021) 3093. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8614326/>.
- [30] SE Jones, Papillomaviruses in equids: A decade of discovery and more to come?, *Equine Vet. Educ.* 34 (2022) 236 – 240. <https://doi.org/10.1111/eve.13506>.
- [31] L. Bogaert, A. Martens, M. Van Poucke, R. Ducatelle, H. Cock, J. Dewulf, C. Baere, L. Peelman, F. Gasthuys, High prevalence of bovine papillomaviral DNA in the normal skin of equine sarcoid-affected and healthy horses. *Vet. Microbiol.* 129 (2008) 58 – 68. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.11.008>.
- [32] H. Broström, E. Fahlbrink, ML Dubath, S. Lazary, Association between equine leucocyte antigens (ELA) and equine sarcoid tumors in the population of Swedish halfbreds and some of their families, *Vet. Immunol. Immunopathol.* 19 (1988) 215 – 223. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(88\)90109-2](https://doi.org/10.1016/0165-2427(88)90109-2).
- [33] RP Araldi, SMR Assaf, RF Carvalho, MACR Carvalho, JM Souza, RF Magnelli, Papillomaviruses: a systematic review, *Genet. Mol. Biol.* 40 (2017) 1 – 21. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2016-0128>.
- [34] Ö. Kanat, VS Ataseven, S. Babaeski, F. Derelli, C. Kumaş, F. Dogan, Equine and bovine papillomaviruses from Turkish brood horses: a molecular identification and immunohistochemical study, *Vet. Arh.* 89 (2019) 601 – 611. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0507>.
- [35] F. De Falco, A. Cutarelli, R. Pellicanò, S. Brandt, S. Roperto, Molecular detection and quantification of Ovine Papillomavirus DNA in equine sarcoid, *Transbound. Emerg. Dis.* 2024 (2024) 1 – 9. <https://doi.org/10.1155/2024/6453158>.
- [36] J. Luff, S. Weingart, S. May, B. Murphy, A subset of equine oral squamous cell carcinomas is associated with *Equus caballus* papillomavirus 2 infection, *J. Comp. Pathol.* 205 (2023) 1 – 6. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10953808/>.
- [37] S-K Lee, J. Yoon, Y. Kim, I. Lee. Penile neoplasm associated with *Equus caballus* papillomavirus type 2 infection in a miniature Appaloosa, *Korean J. Vet. Res.* 64 (2024) e8. <https://doi.org/10.14405/kjvr.20240011>.
- [38] C. Kainzbauer, J. Rushton, R. Tober, T. Scase, B. Nell, S. Sykora, S. Brandt, Bovine papillomavirus type 1 and *Equus caballus* papillomavirus 2 in equine

- squamous cell carcinoma of the head and neck in a Connemara mare: EcPV-2 in SCC of the head and neck, *Equine Vet. J.* 44 (2012) 112 – 115. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00358.x>.
- [39] J Peters-Kennedy, CE Lange, K. Ortved, Progression of aural plaques to squamous cell carcinoma in a horse, *Vet. Dermatol.* 31 (2020) 397 – 400. <https://doi.org/10.1111/vde.12870>.
- [40] J. Dong, W. Zhu, N. Yamashita, JK Chambers, K. Uchida, A. Kuwano, T. Haga, Isolation of equine papillomavirus type 1 from racing horse in Japan, *J. Vet. Med. Sci.* 79 (2017) 1957 – 1959. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0322>.
- [41] J. Mira, M. Herman, LS Zakia, G. Olivo, JP Araújo Jr, AS Borges, JP Oliveira-Filho, Factors associated with equine aural plaque in Brazil, *Vet. Dermatol.* 27 (2016) 408-e104. <https://doi.org/10.1111/vde.12360>.
- [42] RC Postey, GD Appleyard, BA Kidney, Evaluation of equine papillomas, aural plaques, and sarcoids for the presence of Equine papillomavirus DNA and Papillomavirus antigen, *Can. J. Vet. Res.* 71 (2007) 28 – 33. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1635997/>.
- [43] LS Zakia, RM Basso, G. Olivo, M. Herman, JP Araujo Jr, AS Borges, JP Oliveira-Filho, Detection of papillomavirus DNA in formalin-fixed paraffin-embedded equine aural plaque samples, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 67 (2015) 1193 – 1196. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8077>.

**Table 1. Distribution of samples used in this study**

Samples	Fresh Tissue	FFPE	Total
SCC	10	16	26
Sarcoid	5	45	50

**Table 2. PCR and sequencing primer sets used in this study.**

	Primers	Product (bp)	Melting	Authors
JPEcPV1	GTGGTGTCTGGCTCCTTATTT GGTATCCTTCTCCCTCTCATCT	186	56 °C	Mira et al. [41]
JPEcPV2	ATGGTAACAGCGAGCGTATG CGAGGTCTCTGGGTTGTAAATG	179	52 °C	Mira et al. [41]
JPEcPV3	TTGCGCCAGGTTTCCACATCTA TTGTTCTGGCCTTGTGCACGTT	116	60 °C	Zakia et al. [43]
JPEcPV4	ACAATGGTGTGTTGCTGGCACGA TTGTTCTGGCCTTGTGCACGTT	187	60 °C	Zakia et al. [43]
JPEcPV5	GGCTCCGTAGACATTCTAAAG CTGTTACACCCACGCCTAAT	184	62 °C	Zakia et al. [43]
JPEcPV6	CTACCAGAGGAACGAGCTTTAC TAGCTCCAATCCTCCAAGATA	203	62 °C	Zakia et al. [43]
JPEcPV7	GGACGTATGGAGTGACTTTG TTTCCATAGGGTCGGGTAG	202	60 °C	Mira et al. [41]
EcPV 8	CTCAATAGGAGGGCAAGACC AAACAGTCACGGTTCCAAG	392	55 °C	Peters-Kennedy et al. [17]
CB_EcPV9	CCGTGGAGTTTGAGGAAGAAA CCATTATATCCTCGCGTGGTG	202	60 °C	Bromberger et al., [25]
EcPV10	GTGTCACAGTAACCCCTG AAGCGTGTCTTCCCTCCAGTG	175	60 °C	Turco et al. [19]
JMBPV1	AGCTGTGATTTCCACAGAGC TGGAACCCCACTAACAGAGT	111	60 °C	Munday et al. [29]
JMBPV2	CTGTGCCTCCTAGTGGTTGG TACCAAGTCACTGTGGGGGA	198	60 °C	Munday et al. [29]
<i>β-actin</i>	CATTGTCCACCTTCCAGCAGATGT CTAGAAGCATTGCGGTGGACGAT	86	60 °C	Oliveira-Filho et al. [28]

**Table 3. Distribution of positive sarcoid samples, according to lesion location.**

<b>Tissue</b>	<b>Nº of samples</b>	<b>Lesion location</b>	<b>BPV</b>	<b>ECPV</b>
Fresh	2	Groin	-	EcPV 1
FFPE	1	Armpit/chest	BPV 1	-
FFPE	1	Chest/corner of the mouth	BPV 1	-
FFPE	1	Ear	BPV 1	-
FFPE	1	Ventral abdomen	BPV 1	-
FFPE	1	Axila/ear	BPV 1	-
FFPE	1	Face/chest/ear	BPV 1	-
FFPE	1	Limbs	BPV 1	-
FFPE	1	Neck	BPV 1	-
FFPE	1	Eyelid	BPV 1	-
FFPE	1	Chest/Limbs	BPV 1	-
FFPE	1	Fetlock	BPV 1	-
FFPE	1	Scapula	BPV 1	-
FFPE	2	Face	BPV 1	-
FFPE	3	NI	BPV 1	-
FFPE	1	Face/flank	BPV 2	-
FFPE	1	Neck/croup	BPV 2	-
FFPE	1	Inguinal	BPV 2	-
FFPE	1	Scapula/Limbs	BPV 2	-
FFPE	1	Neck/fetlock	BPV 2	-
FFPE	1	Croup	BPV 2	-
FFPE	1	Eyelid	BPV 2	-
FFPE	1	Limbs	BPV 2	-
FFPE	1	Chest	BPV 2	-
FFPE	2	NI	BPV 2	-
FFPE	1	Eyelid/ventral abdomen	BPV 1, 2	-
FFPE	1	Pastern	BPV 1, 2	-

NI - Not informed

**Table 4. Distribution of positive SCC samples, according to lesion location.**

<b>Tissue</b>	<b>Nº of samples</b>	<b>Lesion location</b>	<b>BPV</b>	<b>ECPV</b>
Fresh	2	Ocular	-	EcPV1
Fresh	2	Penile	-	EcPV 2
FFPE	4	Vulvar	-	EcPV 2
FFPE	4	Ocular	-	EcPV 2
FFPE	1	Perianal	-	EcPV 2
FFPE	1	Nasal plane	-	EcPV 2

## ***CAPÍTULO III***

## **Conclusão Geral**

Os resultados obtidos nesse trabalho reforçam a presença do BPV 1 e 2 em lesões de sarcoide equino, bem como a presença do EcPV 2 em amostras de CCE de região ocular, oral e genital da espécie. A identificação do DNA do EcPV 1 em CCE de região ocular e tecidos de sarcoide em região de virilha sugere que pode haver a influência desse tipo viral na formação dessas neoplasias, sendo necessário mais pesquisas para confirmação.

Os EcPV 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 não foram identificados em nenhuma das amostras avaliadas.

O esclarecimento a respeito dos principais agente envolvidos e fatores desencadeadores da carcinogênese são fundamentais para o direcionamento de medidas preventivas e de controle dos casos abordados, principalmente aquelas voltadas para a imunização dos animais.