



UDC 575:578:636.7:601

## The analysis of canine parvovirus strains based on the sequence VP-2 GENE

P. S. Yurko, O. V. Shcherbak, V. M. Borovkova, I. P. Danilov  
*Kharkiv State Zooveterinary Academy, Ukraine*

### Article info

Received 11.10.2019

Received in revised form  
04.11.2019

Accepted

15.11.2019

Kharkiv State  
Zooveterinary Academy  
Mala Danylovka, 1,  
Academichna str., Dergachi  
district, Kharkiv region,  
Ukraine, 62341  
E-mail:  
[yurkopolina81@gmail.com](mailto:yurkopolina81@gmail.com)

Yurko, P. S., Shcherbak, O. V., Borovkova, V. M., & Danilov, I. P. (2019). The analysis of canine parvovirus strains based on the sequence VP-2 GENE. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 4, 180-183. doi: 10.31890/vttp.2019.04.33.

One of the most dangerous diseases of dogs is canine parvovirus enteritis. The causative agent of enteritis is Canine Parvovirus type 2 (CPV-2) of the subgroup Feline panleukopenia virus (FPV) of the species *Carnivore protoparvovirus 1* of the family *Parvoviridae*. For prevention both in the world and in Ukraine vaccination is used. Despite this measure, parvovirus enteritis still causes death of dogs with a clinical and pathological pattern characteristic of the disease. The sequence of dog parvovirus strains was analyzed, which are presented in the GenBank database: No. MH213140.1, KP881653.1, GU212792.1, GU212790.1, FJ011098.1, GU212791.1, MG264079.1, GU392239.1, KF539801.1, MH491947.1, MH491855.1, DQ025952.1, MH329287.1, AY262281.1, KY921606.1. Among the given strains, 5 (GU212792.1, GU212790.1, FJ011098.1, GU212791.1, KY921606.1) are used for the manufacture of vaccines registered in Ukraine. Pathogenic isolates were isolated in Italy, Hungary, France, Taiwan, China, South Korea, etc. As a result of the studies, SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) were revealed in the sequences and studied, and a phylogenetic tree was constructed (method of attachment of neighbors). The smallest distances were established between the vaccine strains VAC\_M primodog (GU212790.1), VAC\_P vanguard (GU212791.1), VAC\_C quantum (GU212792.1). Intervet vaccine strains (FJ011098.1) and MX-VACVBC / 17 (KY921606.1) are in a separate cluster from the other three vaccine strains. They form a separate cluster. Also, the closest distances are established between the isolates according to the territorial distribution. The results obtained may indicate differences in the antigenic structure of circulating pathogenic strains of dog parvovirus. The lack of data from epizootological monitoring of the disease using molecular genetic methods in Ukraine shows the need for such studies.

**Keywords:** canine parvovirus, vaccine, strain, VP2 gene.

## Анализ штаммов парвовируса собак на основе последовательностей VP-2 гена

П. С. Юрко, Е. В. Щербак, В. Н. Боровкова, И. П. Данилов  
*Харьковская государственная зооветеринарная академия, Украина*

Одним из опасных заболеваний собак является парвовирусный энтерит. Возбудитель энтерита – *Canine Parvovirus* типа 2 (CPV-2) подгруппы *Feline panleukopenia virus* (FPV) вида *Carnivore protoparvovirus 1* семейства *Parvoviridae*. Для профилактики как в мире, так и в Украине применяют вакцинацию. Несмотря на это, парвовирусный энтерит по-прежнему вызывает гибель собак с характерной для заболевания клинической и патологоанатомической картиной. Проанализировано последовательности штаммов парвовируса собак, которые представлены в базе данных GenBank: №№ MH213140.1, KP881653.1, GU212792.1, GU212790.1, FJ011098.1, GU212791.1, MG264079.1, GU392239.1, KF539801.1, MH491947.1, MH491855.1, DQ025952.1, MH329287.1, AY262281.1, KY921606.1. Среди приведенных штаммов 5 (GU212792.1, GU212790.1, FJ011098.1, GU212791.1, KY921606.1) используются для изготовления вакцин, зарегистрированных на территории Украины. Патогенные изоляты были выделены в Италии, Венгрии, Франции, Тайване, Китае, Южной Корее и т.д. В результате исследований выявлено SNP (однонуклеотидный полиморфизм, Single Nucleotide Polymorphism) в исследованных последовательностях, построено филогенетическое дерево (метод присоединения соседей). Наименьшие расстояния установлены между вакцинными штаммами VAC\_M primodog (GU212790.1), VAC\_P vanguard (GU212791.1), VAC\_C quantum (GU212792.1). Вакцинные штаммы Intervet (FJ011098.1) и MX-VACVBC/17 (KY921606.1) находятся в отдельном кластере от других

трех вакцинных штаммов. Они формируют отдельный кластер. Также самые близкие расстояния установлены между изолятами согласно территориального распределения. Полученные результаты могут указывать на отличия в антигенной структуре циркулирующих патогенных штаммов парвовируса собак. Отсутствие данных эпизоотологического мониторинга заболевания с использованием молекулярно-генетических методов на территории Украины показывает необходимость проведения таких исследований.

**Ключевые слова:** биотехнология, парвовирус собак, вакцина, штамм, VP2 ген.

## Аналіз штамів парвовірусу собак на основі послідовностей VP-2 гену

**П. С. Юрко, О. В. Щербак, В. М. Боровкова, І. П. Данилов**  
Харківська державна зооветеринарна академія, Україна

В роботі проведено аналіз вакцин, що зареєстровані в Україні, досліджено поліморфізм VP2 гену вакцинних та патогенних штамів. Встановлено наявність SNP у послідовності VP2 гену, що дозволило провести філогенетичний аналіз дослідних штамів.

**Ключові слова:** парвовірус собак, вакцина, штам, VP2 ген.

### Вступ

**Актуальність теми.** Розвиток науки сприяє удосконаленню засобів діагностики та профілактики інфекційних захворювань взагалі та вірусних хвороб собак зокрема. З цією метою широко використовують молекулярно-генетичні методи (Csagola, Varga, Lorincz, & Tuboly, 2014; Hao et al, 2019; Matsuda, 2017; Zhou, Zeng, Zhang, & Li, 2017).

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Парвовірусний ентерит собак є одним з найпоширеніших, небезпечних та висококонтагіозних захворювань собак. Збудник ентериту – *Canine Parvovirus* типу 2 (CPV-2) підгрупи *Feline panleukopenia virus* (FPV) виду *Carnivore protoparvovirus 1* родини *Parvoviridae*. Особливо сприйнятливими до парвовірусної інфекції є цуценята. Інфікування відбувається найчастіше аліментарно. Інкубаційний період захворювання становить від 3 до 7 днів. Симптомами парвовірусного ентериту є млявість, втрата апетиту, лихоманка, блювота та сильна, часто з кров'ю, діарея. Причиною загибелі через 48 – 72 години після появи симптомів стає зневоднення організму (Miranda, & Thompson, 2016; Polat, Sahan, Aksoy, Timurkan, & Dincer, 2019; Sun et al, 2019; Tucciarone et al., 2018)

В Україні вакцинація парвовірусного ентериту собак – один із головних заходів боротьби із захворюванням. При цьому спостерігається захворювання цуценят з характерною для парвовірусного ентериту клінічною картиною (Radzykhovskiy, & Zaika, 2017). Також, слід відзначити, що не має даних щодо структури циркулюючих на території України ізолятів.

**Метою** дослідження було провести філогенетичний аналіз штамів парвовірусу собак за VP2 геном.

**Завдання роботи:** дослідити відмінності у структурі гену VP2 вакцинних та патогенних штамів парвовірусу собак та побудувати філогенетичне дерево.

### Матеріал і методи досліджень

Для порівняльного аналізу нуклеотидних послідовностей гену VP2 парвовірусу собак використовували базу даних GenBank. Вирівнювання послідовностей та філогенетичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення Unipro UGENE 1.32.0.

### Результати та їх обговорення

За даними Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів згідно переліку ветеринарних імунобіологічних препаратів, що зареєстровані в Україні станом на 10.04.2019 р., вакцин, що утримують аттенуований штам парвовірусу собак, налічується 27. Випускають ці препарати 7 фармацевтичних компаній різних країн світу, а саме: Інтервет (Нідерланди), АТ «Біовета» (Чеська Республіка), ТОВ «Ветбіохім» (Російська Федерація), ДІНТЕК (Чеська Республіка), МЕРІАЛ та ВІРБАК (Франція), а також Зоетіс (США). Кожна з цих компаній використовує для виготовлення вакцин свій аттенуований штам, більшість із яких секвенована та представлена у базі даних GenBank. Крім того, у даній базі наявна велика кількість послідовностей патогенних штамів, виділених у різних країнах Світу, однак даних щодо України немає.

Для нашого дослідження було обрано послідовності VP2 гену 15 штамів парвовірусу собак, як патогенних, так і вакцинних (табл. 1).

Таблиця 1

**Штами парвовірусу собак, використані у дослідженнях**

№ з/п	№ GenBank	Назва	Штам	Країна, в якій ізольовано
1.	AY262281.1	30 from Thailand coat protein VP2	патогенний	Таїланд
2.	DQ025952.1	03B12	патогенний	Франція
3.	FJ011098.1	Intervet/vaccine/06	вакцинний	Тайвань
4.	GU212790.1	VAC_M	вакцинний	Таїланд
5.	GU212791.1	VAC_P vanguard	вакцинний	Таїланд
6.	GU212792.1	VAC_S	вакцинний	Таїланд
7.	GU392239.1	HB6	патогенний	Китай
8.	KF539801.1	H-25	патогенний	Угорщина
9.	KP881653.1	MAF.4	патогенний	Нова Зеландія
10.	KY921606.1	MX-VACVBC/17	вакцинний	Мексика
11.	MG264079.1	EC/C3/2017	патогенний	Еквадор



## Висновок

Встановлено відмінності між вакцинними штамми та патогенними ізолятами, що виділені у різних країнах світу та представлені у базі даних GenBank. Це може вказувати на відмінності у антигенній структурі циркулюючих патогенних штамів парвовірусу собак, для чого потрібні подальші дослідження.

*Перспективи подальших досліджень.*

Результати досліджень свідчать про необхідність епізоотичного моніторингу парвовірусного ентериту собак, виділення та дослідження циркулюючих штамів на території України.

## References

- Csagola, A., Varga, S., Lorincz, M. & Tuboly, T. (2014). Analysis of the full-length VP2 protein of canine parvoviruses circulating in Hungary. *Archives of Virology*, 159 (9), 2441–2444. doi: [10.1007/s00705-014-2068-5](https://doi.org/10.1007/s00705-014-2068-5).
- De la Torre, D., Mafla, E., Puga, B., Erazo, L., Astolfi-Ferreira, C., & Ferreira, A. P. (2018). Molecular characterization of canine parvovirus variants (CPV-2a, CPV-2b, and CPV-2c) based on the VP2 gene in affected domestic dogs in Ecuador. *Vet World*, 11(4), 480-487. doi: [10.14202/vetworld.2018.480-487](https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.480-487).
- Hao, X., Liu, R., He, Y., Xiao, X., Xiao, W., Zheng, Q., Lin, X., Tao, P., Zhou, P., & Li, S. (2019). Multiplex PCR methods for detection of several viruses associated with canine respiratory and enteric diseases. *PLoS One*, 14(3):e0213295. doi: [10.1371/journal.pone.0213295](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213295).
- Li, X., Wu, H., Wang, L., Spibey, N., Liu, C., Ding, H., Liu, W., Liu, Y., & Tian, K. (2018). Genetic characterization of parvoviruses in domestic cats in Henan province, China. *Transbound Emerg Dis*, 2018, (6), 1429-1435. doi: [10.1111/tbed.13014](https://doi.org/10.1111/tbed.13014).
- Matsuda, K. (2017) PCR-Based Detection Methods for Single-Nucleotide Polymorphism or Mutation: Real-Time PCR and Its Substantial Contribution Toward Technological Refinement. *Adv Clin Chem*, 80, 45-72. doi: [10.1016/bs.acc.2016.11.002](https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.11.002).
- Miranda, C., & Thompson, G. (2016). Canine parvovirus: the worldwide 1 occurrence of antigenic variants. *Journal of General Virology*, 97, 2043–2057. doi: [10.1099/jgv.0.000540](https://doi.org/10.1099/jgv.0.000540).
- Ohneiser, S. A., Hills, S. F., Cave, N. J., Passmore, D., & Dunowska, M. (2015). Canine parvoviruses in New Zealand form a monophyletic group distinct from the viruses circulating in other parts of the world. *Vet Microbiol*, 178(3-4), 190-200. doi: [10.1016/j.vetmic.2015.05.017](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.05.017).
- Phromnoi, S., Sirinarumit, K., & Sirinarumit, T. (2010). Sequence analysis of VP2 gene of canine parvovirus isolates in Thailand. *Virus Genes*, 41(1), 23-29. doi: [10.1007/s11262-010-0475-6](https://doi.org/10.1007/s11262-010-0475-6).
- Polat, P. F., Sahan, A., Aksoy, G., Timurkan, M. O., & Dincer, E. (2019). Molecular and restriction fragment length polymorphism analysis of canine parvovirus 2 (CPV-2) in dogs in southeast Anatolia, Turkey. *Onderstepoort J Vet Res*, 86 (1):e1-e8. doi: [10.4102/ojvr.v86i1.1734](https://doi.org/10.4102/ojvr.v86i1.1734).
- Radzykhovskiy, M. L., & Zaika, S. S. (2017). Patomorfologichna kharakterystyka parvovirusnoho enterytu v sobak. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnologii imeni S. Z. Hzhyskoho : zb. nauk. prats*, 82 (19), 45–49. doi: [10.15421/nvlvet8210](https://doi.org/10.15421/nvlvet8210). (in Ukrainian).
- Sakulwira, K., Vanapongtipagorn, P., Theamboonlers, A., Oraveerakul, K., & Poovorawan, Y. (2003). Prevalence of canine coronavirus and parvovirus infection in dogs with gastroenteritis in Thailand. *Vet Med Czech*, 48(6), 163-167.
- Sun, Y., Cheng, Y., Lin, P., Zhang, H., Yi, L., Tong, M., Cao, Z., Li, S., Cheng, S., & Wang, J. (2019). Simultaneous detection and differentiation of canine parvovirus and feline parvovirus by high resolution melting analysis. *BMC Vet Res*, 15(1):141. doi: [10.1186/s12917-019-1898-5](https://doi.org/10.1186/s12917-019-1898-5).
- Tucciarone, C. M., Franzo, G., Mazzetto, E., Legnardi, M., Caldin, M., Furlanello, T., Cecchinato, M., & Drigo, M. (2018). Molecular insight into Italian canine parvovirus heterogeneity and comparison with the worldwide scenario. *Infection, Genetics and Evolution*, 66, 171–179. doi: [10.1016/j.meegid.2018.09.021](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.09.021).
- Zhou, P., Zeng, W., Zhang, X., & Li, S. (2017). The genetic evolution of canine parvovirus - A new perspective. *PLoS One*, 12(3):e0175035. doi: [10.1371/journal.pone.0175035](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175035).