

MỘT SỐ ĐẶC TÍNH PHÂN TỬ CỦA PARVOVIRUS TYPE 2 Ở CHÓ PHÂN LẬP TẠI THÀNH PHỐ HÀ NỘI

Võ Văn Hải, Nguyễn Thị Yến, Đào Lê Anh, Hoàng Minh, Bùi Trần Anh Đào,
Bùi Thị Tố Nga, Nguyễn Thị Lan, Lê Văn Phan*

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: letranphan@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.08.2018

Ngày chấp nhận đăng: 10.05.2019

TÓM TẮT

Bệnh viêm ruột tiêu chảy trên chó do Canine Parvovirus type 2 (CPV-2) là một bệnh truyền nhiễm cấp tính nguy hiểm. Trong nghiên cứu này 4 mẫu phân tiêu chảy của chó mắc bệnh do Parvovirus đã được sử dụng để giải trình tự gen đoạn gen VP2. Kết quả giải trình tự và phân tích trình tự gen VP2 của Parvovirus type 2 trong nghiên cứu này cho thấy mức độ tương đồng cao về nucleotide (nt) và axit amin (aa) khi so sánh với các chủng Parvovirus vaccin và các chủng Parvovirus tham chiếu khác trên thế giới, tỷ lệ tương đồng trình tự nt từ 98,4-100% và aa từ 97,7-100%. Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy các chủng Parvovirus type 2 trong nghiên cứu này thuộc 2 nguồn gốc khác nhau là từ mèo và chó. Cụ thể 3 chủng Parvovirus type 2 ký hiệu VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 nằm trên nhánh phát sinh của các chủng Parvovirus gây bệnh giảm bạch cầu ở mèo (FPV), các chủng này gần gũi với các chủng FPV ở Trung Quốc. Chủng virus Parvovirus type 2 ký hiệu VNUA-CP17 nằm trên nhánh phát sinh của các chủng CPV và gần gũi với các chủng Parvovirus vaccin của Pfizer và của Hàn Quốc.

Từ khoá: Bệnh viêm ruột tiêu chảy, chó, Parvovirus, sinh học phân tử, cây phả hệ.

Molecular Characterization of Canine Parvovirus Type 2 Isolated from Dogs in Hanoi

ABSTRACT

Canine Parvovirus type 2 (CPV-2) has caused a highly contagious and fatal disease characterized by vomiting and hemorrhagic gastroenteritis in dogs of all age. In this study, four diarrheal stool samples collected from Parvovirus-infected dogs were used for VP2 gene sequencing. The results of VP2 gene sequencing and analysis of present CPV strains showed high nucleotide (nt) and amino acid (aa) identities when compared with those of other reference worldwide strains, sharing 98.4-100% nt and 97.7-100% aa. The results of the phylogenetic tree showed that the Parvovirus type 2 in this study was genetically classified into two distinct groups of Feline Panleukopenia Virus (FPV) and CPV. Three strains VNUA-CP31, VNUA-CP32 and VNUA-CP35 belonged to the branch of FPV and close to the FPV in China. Parvovirus type 2 VNUA-CP17 belongs to the branch of CPV and is close to Parvovirus vaccines of the Pfizer and South Korea.

Keywords: Canine Parvovirus, dogs, molecular characterization, phylogenetic tree.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Canine Parvovirus type 2 (CPV) nằm trong chi Parvovirus cùng với virus gây giảm bạch cầu ở mèo (Feline Panleukopenia Virus-FPV), virus gây viêm ruột non ở chồn (Mink enteritis virus-MEV). CPV được phát hiện vào năm 1978 ở Hoa Kỳ (Appel *et al.*, 1978).

CPV là những virus nhỏ, không vỏ, sợi DNA đơn có chiều dài 5,2 kb. Hệ gen mã hoá cho hai

protein không cấu trúc (NS1 và NS2) và 2 protein cấu trúc (VP1 và VP2). Trong đó, protein VP2 có vai trò chính quyết định đặc tính kháng nguyên của virus và đáp ứng miễn dịch trên vật chủ (Chinchkar *et al.*, 2006; Zhong *et al.*, 2014). Sự thay đổi một số axit amin trong đoạn gen VP2, protein capsid chính quyết định đặc tính gây bệnh của Parvovirus. Những nghiên cứu về Parvovirus từ năm 1979 đến 1984 cho thấy phần lớn chó nhiễm hai chủng virus

CPV-2a và CPV-2b. Hiện tại, biến chủng CPV-2c lưu hành phổ biến trên thế giới cũng như Châu Á (Mira *et al.*, 2018) trong đó có Việt Nam (Nakamura *et al.*, 2003). Cả 3 biến chủng Parvovirus hiện nay đều có thể lây nhiễm từ chó sang mèo (Decaro *et al.*, 2011); tuy nhiên chưa có khẳng định cụ thể nào về lây nhiễm virus giảm bạch cầu từ mèo sang chó.

Hiện nay, nhiều nước trên thế giới trong đó có Việt Nam đã sử dụng vaccin để phòng bệnh do Parvovirus cho chó. Tuy nhiên, bệnh có thể gặp ở những chó chưa tiêm phòng và chó đã tiêm phòng. Vấn đề đặt ra là liệu có phải đã xuất hiện những sự thay đổi về đặc tính di truyền của các chủng Parvovirus ở thực địa so với chủng Parvovirus vaccin khiến việc sử dụng vaccin phòng bệnh kém hiệu quả hay không?, hay là do một nguyên nhân khác?. Xuất phát từ yêu cầu thực tiễn trên, chúng tôi thực hiện nghiên cứu làm rõ các đặc tính di truyền của các chủng Parvovirus từ chó mắc bệnh tại khu vực Hà Nội, so sánh trình tự nucleotide (nt) và amino acid (aa) với các dòng Parvovirus đã công bố khác. Kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp thêm thông tin về đặc tính sinh học phân tử của chủng Parvovirus gây bệnh cho chó tại địa điểm nghiên cứu, từ đó giúp cho các cơ sở chẩn đoán và phòng trị bệnh

do Parvovirus cho chó.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu

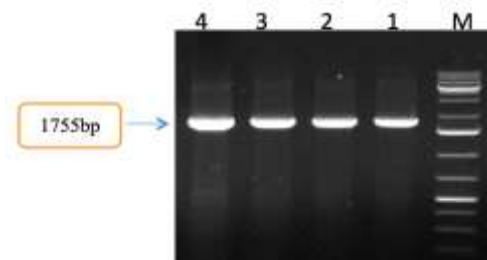
Trong nghiên cứu này 4 mẫu phân tiêu chảy của chó mắc bệnh do Parvovirus type 2 đã được sử dụng trong nghiên cứu. Những mẫu bệnh phẩm này thu thập được từ một số phòng khám chó mèo tại khu vực thành phố Hà Nội năm 2017. Thông tin chi tiết về các mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu được thể hiện trong bảng 1.

2.2. Tách chiết ADN tổng số

Tiến hành tách chiết ADN tổng số theo hướng dẫn của bộ Kit QIAamp (Qiagen, Đức). Cụ thể các bước tiến hành như sau: Mẫu phân được hòa với dung dịch PBS 1X, ly tâm thu phần dịch nổi, đem ly giải bằng dung dịch đệm ATL và Protein K. Cho dung dịch tủa bằng Ethanol qua cột lọc, sau đó rửa cột lọc hai lần bằng bộ đệm rửa AW1, AW2 được cung cấp kèm theo Kit, cuối cùng ADN được thu bằng 100 µl nước tinh khiết (kèm theo bộ Kit). ADN được bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích.

Bảng 1. Thông tin mẫu bệnh phẩm được sử dụng trong nghiên cứu

Tên mẫu	Loài	Tuổi chó	Triệu chứng lâm sàng	Tiêm vaccin phòng bệnh do Parvovirus	Kết quả test thử Parvovirus
VNUA-CP17	Chó	2 tháng	Nôn mửa và tiêu chảy	Đã tiêm phòng	Dương tính
VNUA-CP31	Chó	3 tháng	Nôn mửa và tiêu chảy	Đã tiêm phòng	Dương tính
VNUA-CP32	Chó	3 tháng	Nôn mửa và tiêu chảy	Chưa tiêm phòng	Dương tính
VNUA-CP35	Chó	4 tháng	Nôn mửa và tiêu chảy	Chưa tiêm phòng	Dương tính



Ghi chú: M: Marker; Giếng 1-4: Các mẫu bệnh phẩm tương ứng với các chủng parvovirus VNUA-CP17, VNUA-CP31, VNUA-CP32, và VNUA-CP35

Hình 1. Kết quả chạy điện di trên gel agarose để kiểm tra sản phẩm PCR

2.3. Phản ứng PCR

Mẫu ADN sau khi tách chiết sẽ được tiến hành phản ứng PCR theo bộ Kit Promega (M-7122). Cặp mồi được sử dụng trong nghiên cứu để nhân đoạn gen VP2 bao gồm mồi xuôi (Forward primer) ParvoVP2FL-F: 5'- CGG TGC AGG ACA AGT AAA AA -3' và mồi ngược (Reverse primer) ParvoVP2FL-R: 5'- GGT GCT AGT TGA TAT GTA ATA -3'). Cặp mồi này do nhóm tác giả thiết kế dựa trên trình tự gen của đoạn VP2 của các chủng virus CPV type 2 tham chiếu trên dữ liệu trên ngân hàng gen thế giới (GenBank). Chu kỳ nhiệt của phản ứng PCR như sau: 94°C - 5 phút, 35 chu kỳ (94°C - 1 phút, 50°C - 1 phút, 72°C - 1 phút 30 giây), 72°C - 10 phút và cuối cùng giữ sản phẩm ở 4°C.

2.4. Giải trình tự gen và xây dựng cây sinh học phân tử

Sản phẩm PCR được gửi sang công ty MacroGen của Hàn Quốc để tiến hành giải trình tự gen. Dữ liệu trình tự gen thu được sẽ được phân tích xử lý bằng phần mềm Bioedit) và MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0) (Kumar, 2016). Trên cơ sở trình tự đoạn gen VP2 của các chủng Parvovirus thu được, xây dựng cây sinh học phân tử bằng phần mềm MEGA, sử dụng phương pháp Neighbor-Joining với giá trị Bootstrap là 1.000 đơn vị. Các chủng virus tham chiếu sử dụng để xây dựng cây sinh học phân tử được thu thập từ dữ liệu trên ngân hàng gen thế giới (GenBank).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân tích trình tự nucleotide và axit amin suy diễn của gen VP2 của Parvovirus

Các mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu là các mẫu phân tiêu chảy của chó mắc bệnh do Parvovirus được thu thập từ một số phòng khám chó mèo khu vực Hà Nội (Bảng 1). Kết quả phản ứng PCR sử dụng cặp mồi ParvoVP2FL-F/ParvoVP2FL-R đã thu được sản phẩm PCR đặc hiệu và có kích thước khoảng 1.755 bp, đúng với kích thước theo thiết kế ban đầu của cặp mồi (Hình 1). Sản phẩm PCR thu

được đã được sử dụng trực tiếp để giải trình tự và phân tích trình tự gen VP2.

Từ kết quả giải trình tự gen, thu được trình tự nt của gen VP2 hoàn chỉnh của Parvovirus với độ dài 1.755 bp. Kết quả phân tích trình tự gen VP2 hoàn chỉnh cho thấy 4 chủng Parvovirus trong nghiên cứu này có mức độ tương đồng về nt và aa với nhau là 98,2-100%. Trong đó 3 chủng Parvovirus VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 có mức độ tương đồng về nt và aa với nhau là 100% (Bảng 2).

Kết quả phân tích về trình tự aa suy diễn của đoạn gen VP2 cho thấy chủng VNUA-CP17 có 10 aa sai khác so với 3 chủng Parvovirus VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35. Các vị trí aa sai khác gồm vị trí 44 (A↔T), 80 (R↔K), 93 (N↔K), 101 (I↔T), 103 (A↔V), 232 (I↔V), 323 (N↔D), 564 (S↔N), 568 (G↔A) và 573 (F↔Y) (Hình 2).

Để so sánh về mức độ tương đồng về trình tự nt và aa của gen VP2 giữa các chủng Parvovirus trong nghiên cứu này với các chủng Parvovirus tham chiếu khác trên thế giới, 2 chủng virus vaccin là chủng Pfizer/vaccine/06 của Mỹ (GenBank: EU914139) và chủng CPVpf (vaccine) của Hàn Quốc (GenBank: FJ197847) và 9 chủng Parvovirus phân lập được từ thực địa khác cũng đã được sử dụng, bao gồm 2 chủng ở Hàn Quốc (GenBank: HQ184203, KT899745); 1 chủng ở Bồ Đào Nha (GenBank: KU662349), 1 chủng ở Mỹ (GenBank: MF069445), 1 chủng ở Italy (GenBank: EU498686), 1 chủng ở Canada (GenBank: EU498686) và còn lại 3 chủng phân lập ở Trung Quốc (GenBank: KC713592, GQ857600 và KJ194463).

Kết quả phân tích so sánh về trình tự nt và aa của đoạn gen VP2 của Parvovirus cho thấy 04 chủng của Việt Nam có mức độ tương đồng từ 97,7-99,8% khi so sánh với 2 chủng virus vaccin Pfizer/vaccine/06 và CPVpf ở trên. Trong đó, chủng Parvovirus VNUA-CP17 có tỷ lệ tương đồng về trình tự nt và aa cao hơn so với 2 chủng virus vaccin, tỷ lệ tương đồng từ 99,7-99,8% nt và 99,4-99,8% aa. Ngược lại 3 chủng virus VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 có tỷ lệ tương đồng về nt và aa thấp hơn lần lượt là 99,4-99,8% nt và 97,7-98,1% aa (Bảng 2).



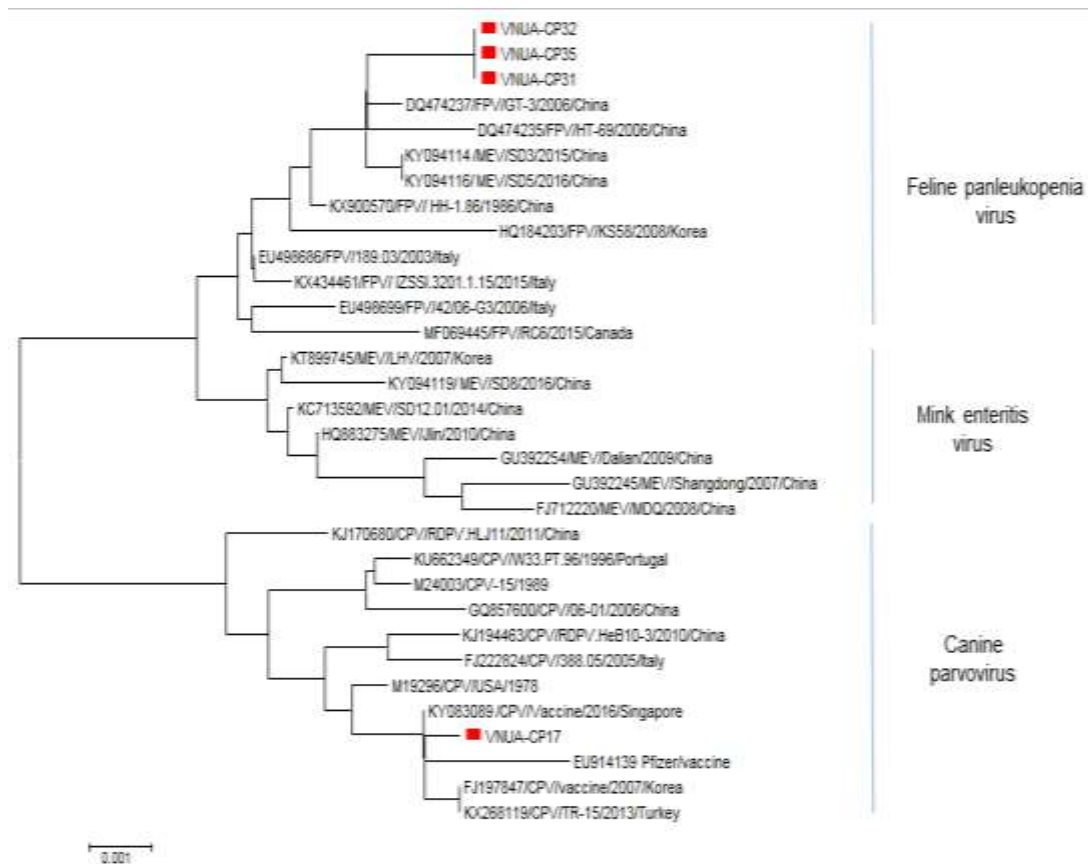
Ghi chú: Dấu (.) biểu thị trình tự aa giống với trình tự aa của chủng VNUA-CP17

Hình 2. So sánh trình tự aa của gen VP2 giữa các chủng Parvovirus trong nghiên cứu này với nhau và với các chủng Parvovirus tham chiếu khác

Một số đặc tính phân tử của Parvovirus type 2 ở chó phân lập tại thành phố Hà Nội

Bảng 2. Tỷ lệ (%) tương đồng về trình tự nt (dưới đường chéo) và aa (trên đường chéo) của gene VP2 của các chủng Parvovirus trong nghiên cứu này với nhau và với các chủng Parvovirus tham chiếu khác

Tên chủng	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
VNUA-CP17		98,2	98,2	98,2	98,1	98,2	98,2	98,1	97,9	98,8	98,9	99,4	99,4	99,4	99,8
VNUA-CP31	98,6		100	100	99,8	100	100	99,8	99,6	98,1	98,2	98,1	98,4	97,7	98,1
VNUA-CP32	98,6	100		100	99,8	100	100	99,8	99,6	98,1	98,2	98,1	98,4	97,7	98,1
VNUA-CP35	98,6	100	100		0,998	100	100	99,8	99,6	98,1	98,2	98,1	98,4	97,7	98,1
HQ184203/FPV-VP2/KS58/Korea/2008	98,5	99,3	99,3	99,3		99,8	99,8	99,6	99,4	97,9	98,1	97,9	98,2	97,6	97,9
EU498686/FPV/189.03/Italy/2003	98,9	99,6	99,6	99,6	99,6		100	99,8	99,6	98,1	98,2	98,1	98,4	97,7	98,1
MF069445/FPV/RC6/Canada/2015	98,7	99,3	99,3	99,3	99,3	99,6		99,8	99,6	98,1	98,2	98,1	98,4	97,7	98,1
KT899745/MEV-LHV/Korea/2007	98,8	99,4	99,4	99,4	99,3	99,7	99,5		99,8	98,1	98,2	97,9	98,2	97,6	97,9
KC713592/MEV.SD12.01/China/2014	98,8	99,4	99,4	99,4	99,3	99,7	99,5	99,8		97,9	98,1	97,7	98,1	97,4	97,7
KU662349/CPV/W33.PT.96/Portugal/1996	99,4	98,6	98,6	98,6	98,6	99,0	98,8	98,9	98,90		99,8	98,6	98,9	98,2	98,6
GQ857600/CPV/06-01/China/2006	99,3	98,5	98,5	98,5	98,5	98,9	98,6	98,9	98,80	99,7		98,8	99,1	98,4	98,8
KJ194463/CPV/RDPV HeB10-3/China/2010	99,6	98,6	98,6	98,6	98,5	98,9	98,7	98,8	98,8	99,4	99,3		99,3	99,1	99,3
M19296/CPV2/USA/1978	99,7	98,7	98,7	98,7	98,6	99,0	98,8	98,9	98,9	99,6	99,4	99,6		98,9	99,3
EU914139/CPV/Pfizer/vaccine	99,7	98,4	98,4	98,4	98,4	98,8	98,5	98,6	98,6	99,3	99,2	99,4	99,6		99,3
FJ197847/CPV/vaccine/Korea	99,8	98,6	98,6	98,6	98,5	98,9	98,7	98,8	98,8	99,4	99,3	99,6	99,7	99,70	



Ghi chú: Những chủng Parvovirus sử dụng trong nghiên cứu này được đánh dấu hình vuông (■)

Hình 3. Cây phả hệ nguồn gốc phát sinh loài của Parvovirustype 2 dựa trên đoạn gen VP2

Khi so sánh trình tự đoạn gen VP2 của 3 chủng Parvovirus VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 với 2 chủng virus gây bệnh giảm bạch cầu mèo (Feline panleukopenia virus), bao gồm 1 chủng ở Italia (GenBank: EU498686) và 1 chủng ở Canada (GenBank: MF069445) cho thấy mức độ tương đồng 100% về trình tự aa.

3.2. Kết quả xây dựng cây sinh học phân tử

Kết quả xây dựng cây phả hệ dựa trên trình tự nt của gen VP2 của các chủng Parvovirus cho thấy 4 chủng Parvovirus trong nghiên cứu này thuộc 2 nhánh phát sinh khác nhau. Cụ thể 3 chủng Parvovirus VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 nằm trên nhánh phát sinh của các chủng Parvovirus gây bệnh cho mèo và có mối quan hệ gần gũi với các chủng Parvovirus phân

lập được trên mèo ở Trung Quốc như chủng HT-69 (GenBank: DQ474235), chủng GT-3 (GenBank: DQ474237 và chủng MEV-SD3 (GenBank: KY094114). Chủng Parvovirus còn lại VNUA-CP17 nằm trên cùng nhánh phát sinh với các chủng Parvovirus gây bệnh trên chó và có mối quan hệ gần gũi với các chủng virus vaccin Pfizer/vaccine/06 của Mỹ (GenBank: EU914139), chủng CPVpf (vaccine) của Hàn Quốc (GenBank: FJ197847) (Hình 3).

Như vậy, dựa trên kết quả mức độ tương đồng nt, aa và kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy đã phát hiện 03 chủng Parvovirus (ký hiệu VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35) gây bệnh giảm bạch cầu ở mèo (Feline Panleukopenia Virus-FPV) từ mẫu phân chó có biểu hiện bệnh viêm ruột tiêu chảy.

3.3. Thảo luận

Bệnh viêm ruột tiêu chảy trên chó do Parvovirus phân bố khắp thế giới và bệnh nghiêm trọng với đối tượng chó con. Parvovirus có 3 genotype (2a, 2b và 2c) được phân biệt dựa vào sự khác nhau một số aa trên trình tự của đoạn gen VP2 (Martella *et al.*, 2006). Đoạn gen VP2 mã hoá cho protein capsid của virus, đó là protein có vai trò chính trong cấu trúc của CPV2 và quyết định đến tính gây bệnh trên vật chủ. Vì vậy, một sự thay đổi nhỏ thành phần aa trong VP2 sẽ ảnh hưởng đến thay đổi đặc tính gây bệnh của Parvovirus (Lin *et al.*, 2014). Vì vậy, nghiên cứu về sự thay đổi trên đoạn gen VP2 là mối quan tâm lớn liên quan đến nghiên cứu vaccin và đặc tính di truyền của Parvovirus.

Parvovirus có tính đa vật chủ, có thể gây bệnh ở chó, mèo, chồn... Parvovirus gây bệnh giảm bạch cầu mèo (FPV-Feline Panleukopenia virus) được phát hiện từ trên 100 năm trước và được phân lập lần đầu tiên vào năm 1965 (Johnson *et al.*, 1967). Sau đó, năm 1978 đã phát hiện chủng Canine Parvovirus-CPV gây bệnh cho chó và lan truyền rất nhanh trên nhiều quốc gia (Appel MJG *et al.*, 1978). CPV có nguồn gốc từ FPV bằng cách thay đổi năm hoặc sáu axit amin trong đoạn gen protein capsid (Truyen *et al.*, 1992). FPV có thể liên kết với thụ thể transferrin của chó và gây bệnh cho chó nếu axit amin vị trí 93 và 323 ở protein VP2 của FPV thay đổi giống như protein của CPV (Hueffer K và cộng sự, 2003). Những nghiên cứu trước đây cho biết Parvovirus có thể truyền lây từ chó sang mèo (Mochizuki *et al.*, 1996; Jing *et al.*, 2015), tuy nhiên những nghiên cứu chứng minh giảm bạch cầu lây từ mèo sang chó còn rất hạn chế. Trong nghiên cứu này, điều thú vị là dựa vào các vị trí thay đổi axit amin 80 (Lys), 93 (Lys), 103 (Val), 232 (Val) và 323 (Asp) (Decaro *et al.*, 2012) đã phát hiện 3 chủng Parvovirus VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 là các chủng Parvovirus gây bệnh giảm bạch cầu ở mèo ở các mẫu phân thu thập từ chó mắc bệnh viêm ruột tiêu chảy do Parvovirus. Phát hiện thấy chủng Parvovirus gây bệnh giảm bạch cầu ở mèo trên mẫu phân

của chó mắc bệnh Parvo trong nghiên cứu này là bằng chứng quan trọng cho thấy có thể đã có sự lây truyền virus giảm bạch cầu từ mèo sang chó. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy rất cần triển khai các nghiên cứu tiếp theo về cơ chế truyền lây và vai trò của FPV gây bệnh ở chó.

4. KẾT LUẬN

Gen VP2 của 4 chủng Parvovirus VNUA-CP17, VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 đã được giải trình tự và phân tích trình tự gen. Kết quả phân tích trình tự nt và aa của gen VP2 cho thấy trong số 4 chủng virus VNUA-CP17, VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35, chủng VNUA-CP17 có mức độ tương đồng cao hơn khi so sánh với 2 chủng virus vaccin Pfizer/vaccine/06 của Mỹ (GenBank: EU914139) và chủng CPVpf (vaccin) của Hàn Quốc (GenBank: FJ197847), mức độ tương đồng từ 98,4-99,8% về nt và 97,7-99,8% về aa.

Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy 4 chủng Parvovirus type 2 trong nghiên cứu này thuộc 2 nguồn gốc khác nhau là từ mèo và chó. Cụ thể 3 chủng Parvovirus type 2 ký hiệu VNUA-CP31, VNUA-CP32 và VNUA-CP35 nằm trên nhánh phát sinh của các chủng Parvovirus gây bệnh giảm bạch cầu ở mèo (FPV), trong khi chủng VNUA-CP17 nằm trên nhánh phát sinh của các chủng Parvovirus gây bệnh trên chó (CPV).

LỜI CẢM ƠN

Bài báo này được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài: “Nghiên cứu phân lập Parvovirus (CPV) trên chó và xác định đặc tính sinh học, sinh học phân tử của virus” do Học viện Nông nghiệp Việt Nam tài trợ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Appel MJG, Cooper BJ, Greisen H, et al. (1978). Status report: canine viral enteritis. J Am Vet Med Assoc. 173: 1516-1518.
- Chinchkar S.R., Subramanian B.M., Rao N.H., Rangarajan P.N., Thiagarajan D. & Srinivasan V.A. (2006). Analysis of VP2 gene sequences of

- canine parvovirus isolates in India. Arch Virol. 151: 1881-1887.
- Decaro N., Desario C., Addie D.D., Martella V., Vieira M.J., Elia G. & Buonavoglia C. (2007). The study molecular epidemiology of canine parvovirus. Europe. Emerg Infect Dis. 13: 1222.
- Decaro N. & Buonavoglia C. (2012). Canine Parvovirus- A review of epidemiological and diagnostic aspects with emphasis on type 2c. Vet Microbiol. pp. 155, 1-12.
- Decaro N., Desario C., Amorisco F., Losurdo M., Colaïanni M. & Buonavoglia C. (2011). Canine parvovirus type 2c infection in a kitten associated with intracranial abscess and convulsions. J Feline Med Surg. 13: 231-236.
- Hueffer K., Parker J.S., Weichert W.S., Geisel R.E., Sgro J.Y. & Parrish C.R. (2003). The natural host range shift and subsequent evolution of canine parvovirus resulted from virus-specific binding to the canine transferrin receptor. J Virol. 77: 1718-1726
- Johnson R.H., Margolis G. & Kilham L. (1967). Identity of feline ataxia virus with feline panleukopenia virus. Nature. 214(5084): 175-177.
- Kumar S., Stecher G. & Tamura K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Mol Biol Evol. 33: 1870-1874.
- Lin C.N., Chien C.H., Chiou M.T., Chueh L.L., Hung M.Y. & Hsu H.S. (2014). Genetic characterization of type 2a canine parvoviruses from Taiwan reveals the emergence of an Ile324 mutation in VP2. Virol J. 11: 39.
- Mochizuki M., Horiuchi M., Hiragi H., San Gabriel M.C., Yasuda N. & Uno T. (1996). Isolation of canine parvovirus from a cat manifesting clinical signs of feline panleukopenia. Journal Clin Microbiol. 34(9): 2101-2105.
- Martella V., Decaro N., Buonavoglia C. (2006). Evolution of CPV-2 and implication for antigenic/genetic characterization. Virus Genes. 33(1): 11-13.
- Mira F., Purpari G., Lorusso E., Di Bella S., Gucciardi F., Desario C., Macaluso G., Decaro N. & Guercio A. (2018). Introduction of Asian canine parvovirus (CPV) in Europe through dog importation. Transbound Emerg Dis. 65(1):16-21.
- Nakamura M, Tohya Y, Miyazawa T, Mochizuki M, Phung HT, Nguyen NH. (2004). A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. Arch Virol. 149: 2261-2269.
- Truyen U. & Parrish C.R. (1992). Canine and Feline host ranges of canine Parvovirus and Feline Panleukopenia virus: distinct host cell tropisms of each virus *in vitro* and *in vivo*. J Virol. pp. 5399-5408.
- Wu J., Gao XT., Hou SH., Guo XY., Yang XS., Yuan WF., Xin T., Zhu HF., Jia H. (2015). Molecular epidemiological and phylogenetic analyses of canine parvovirus in domestic dogs and cats in Beijing, 2010-2013. J Vet Med Sci. 77(10): 1305-1310.
- Zhong Z., Liang L., Zhao J., Xu X., Cao X., Liu X. & Peng G. (2014). First isolation of new canine parvovirus 2a from Tibetan Mastiff and global analysis of the full length VP2 gene of canine parvoviruses 2 in China. Int J Mol Sci. 15: 12166-12187.