

XXXIII ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES

E XV MOSTRA ACADÊMICA
DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA



PROBIC-
FAPERGS

CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS CIRCULANTES DO PARVOVÍRUS CANINO TIPO 2 (CPV-2) EM CÃES NO ESTADO DE SÃO PAULO

Rafael Sartori Flores, Luanda Ferreiro Cipriano, Júlia da Silva Ramos, Nicole Amoêdo Luvison,
Kétlin Milena Zardin, Pedro Augusto Freire de Sá Pontes, Ana Paula Longaray Delamare,
Fernando Joel Scariot, André Felipe Streck



INTRODUÇÃO / OBJETIVO

A parvovirose canina é uma doença viral altamente contagiosa, que acomete principalmente cães jovens e não vacinados, sendo responsável por altas taxas de mortalidade. Seu agente etiológico, o parvovírus canino tipo 2 (CPV-2) possui um capsídeo altamente resistente e capaz de permanecer no ambiente por longos períodos (Santana *et al.*, 2022).

Desde sua emergência, o vírus passou por um processo contínuo de evolução genética, com o surgimento de variantes associadas a mudanças em sua principal proteína estrutural, o VP2. Essas alterações podem influenciar aspectos como tropismo, transmissão, imunogenicidade e eficácia vacinal. O CPV-2 original, detectado no final da década de 1970, praticamente não circula mais, pois foi substituído por suas variantes: CPV-2a, 2b e 2c (Parrish, 1994; Hao *et al.*, 2022).

Considerando a importância da vigilância molecular para acompanhar a dinâmica das variantes vírais, este trabalho buscou caracterizar as cepas circulantes do CPV-2 e suas possíveis mutações, a partir de amostras de cães positivos e com sinais clínicos de parvovirose no estado de São Paulo. (Santana *et al.*, 2022).

MATERIAIS E MÉTODOS

32 cães do estado de São Paulo foram atendidos no HV/FMZ – UNESP Botucatu¹, com sinais de gastroenterite e foram positivos para parvovirose canina.

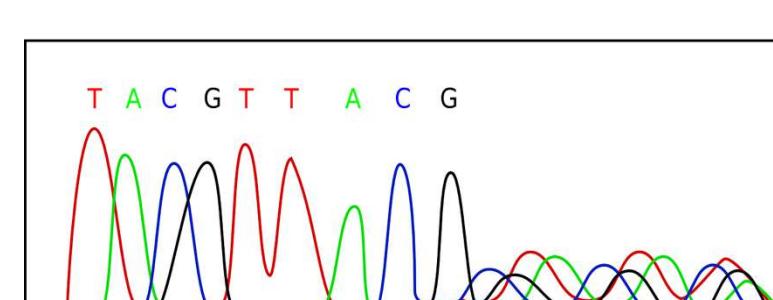


Foram coletados dados como: Raça, sexo, idade, escore corporal, histórico vacinal.



Foi realizada a coleta de amostra de fezes ou suave retal, e o DNA foi extraído e enviado para a Universidade de Caxias do Sul.

No LDMV – UCS², foi feita a amplificação da região do gene VP2 através de 3 primers H, M e 555.



O sequenciamento de Sanger, foi realizado no LEMA – UCS, onde foi possível obter as sequências do gene VP2.

Os contigs gerados a partir das leituras foram montados através do software Geneious Prime®.

No Mega11®, as sequências foram alinhadas juntamente com as 3 sequências ancestrais para análise das substituições de aminoácidos.

1- Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus Botucatu

2- Laboratório de Diagnóstico em Medicina Veterinária da Universidade de Caxias do Sul

3- Laboratório de Enologia e Microbiologia Aplicada da Universidade de Caxias do Sul

RESULTADOS

A população do trabalho foi composta por 32 cães, sendo 14 fêmeas (43,7%) e 18 machos (56,3%). Quanto à raça, 19 eram sem raça definida (59,4%), 6 da raça Pitbull (18,7%) e 7 (21,9%) de outras raças. A idade variou de 1 a 30 meses, com média de 5,59 meses e mediana de 4 meses. O escore corporal médio foi de 2,62 (de 1 a 5), com uma mediana de 3. Em relação ao histórico vacinal, 6 cães eram vacinados, 10 tinham protocolo vacinal incompleto e 16 não haviam sido vacinados.

Quando comparadas às três sequências ancestrais do CPV-2 (CPV6, CPV9, CPV12), substituições de aminoácidos foram observadas nos sítios: 87, 92, 101, 297, 300, 305, 324, 375, 426, 574 e 575. O sítio 426 da proteína VP2 é utilizado para a diferenciação de cepas do CPV-2. Neste trabalho, foram identificadas as três variantes: CPV-2a, 2b e 2c, sendo a CPV-2b significantemente mais prevalente CPV-2b em 24 cães (75%).

RESULTADOS

Substituições de aminoácidos encontradas na proteína VP2 por sítio

ID	Cepa	87	92	101	297	300	305	324	375	426	574	575
CPV6	2a	M	V	I	S	A	D	Y	N	N	E	K
CPV9	2a
CPV12	2a
1	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
2	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	Y	I
3	2a	L	.	T	N	G	Y	L	D	.	.	.
4	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
5	2c	L	I	T	N	G	Y	L	D	E	.	.
6	2c	L	.	T	N	G	Y	L	D	E	.	.
7	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
8	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	Y	I
9	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
10	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
11	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
12	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
13	2a	L	.	T	N	G	Y	L	D	.	.	.
14	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
15	2a	L	.	T	N	G	Y	L	D	.	.	.
16	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
17	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
18	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
19	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
20	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
21	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
22	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
23	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
24	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
25	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
26	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
27	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
28	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
29	2b	L	.	T	N	G	Y	L	D	D	.	.
30	2a	L	.	T	N	G	Y	L	D	.	.	.
31	2a	L	.	T	N	G	Y	L	D	.	.	.
32	2c	L	.	T	N	G	Y	L	D	E	.	.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as substituições encontradas, M87L e I101T, localizadas na primeira alça da proteína VP ficam próximas a um importante epítopo de reconhecimento por anticorpos monoclonais (Chapman & Rossmann, 1993).

A300G, D305Y e Y324I estão presentes na terceira alça da VP, situada na região tríplice do capsídeo e são associadas à especificidade de espécie (Lee *et al.*, 2019).

As mutações nos resíduos 87 e 300 se tornaram globalmente disseminadas, reforçando o papel das interações entre o capsídeo e o receptor de transferrina (TfR) na evolução do vírus. Y324I pode indicar escape vacinal (Hao *et al.*, 2022). A mutação N375D, fica localizada na base da tríplice, não exposta diretamente na superfície mas pode gerar alterações conformativas indiretas na superfície da proteína.

Substituições identificadas na quarta alça N426D e N426E, também na tríplice espícula, região que interage com o receptor celular, representam mudanças de carga elétrica e polaridade, sendo consideradas substituições não conservativas, com possível impacto na interação vírus-hospedeiro (Parrish, 1994; Chapman & Rossmann, 1993).

Este trabalho confirma a circulação das 3 cepas de CPV-2 no estado de São Paulo, com a predominância da cepa CPV-2b, além de identificar mutações localizadas em regiões críticas do capsídeo, que podem influenciar a interação vírus-hospedeiro e favorecer possíveis casos de escape vacinal, destacando a necessidade de vigilância contínua.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHAPMAN, M. S.; ROSSMANN, M. G. Structure, sequence, and function correlations among parvoviruses. *Virology*, v. 194, n. 2, p. 491-508, 1993. doi:10.1006/viro.1993.1288.
- HAO, X. Y.; XIAO, X.; CHEN, B.; ZHOU, P.; LI, S. The Changes in Canine Parvovirus Variants over the Years. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Sep;23(19):11540. doi: 10.3390/ijms231911540
- LEE, H.; CALLAWAY, H. M.; CIFUENTE, J. O.; BATOR, C. M.; PARRISH, C. R.; HAFENSTEIN, S. L. Transferrin receptor binds virus capsid with dynamic motion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 116, n. 41, p. 20462-20471, 2019. https://doi.org/10.1073/pnas.1904918116.
- PARRISH, C. R. The emergence and evolution of canine parvovirus—an example of recent host range mutation. *Seminars in Virology*, London, v. 5, n. 4, p. 265-271, 1994.
- SANTANA, W. O.; SILVEIRA, V. P.; WOLF, J. M.; KIPPER, D.; ECHEVERRIGARAY, S.; CANAL, C. W.; TRUYEN, U.; LUNGE, V. R.; STRECK, A. F. Molecular phylogenetic assessment of the canine parvovirus 2 worldwide and analysis of the genetic diversity and temporal spreading in Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 98, 2022. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.10522.