

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DETERMINAÇÃO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS VIRAIS DE DIARREIA EM CÃES  
NO BRASIL

Autor: Oscar Fernando Ortiz Granados

Orientador: Cláudio Wageck Canal

Co-orientador: André Felipe Streck

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DETERMINAÇÃO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS VIRAIS DE DIARREIA EM CÃES  
NO BRASIL

Autor: Oscar Fernando Ortiz Granados

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Ciências Veterinárias na área de Virologia.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Co-orientador: Dr. André Felipe Streck

Porto Alegre

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**OSCAR FERNANDO ORTIZ GRANADOS**

DETERMINAÇÃO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS VIRAIS DE DIARREIA EM CÃES  
NO BRASIL

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela comissão formada pelos doutores:

Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal  
Orientador e Presidente da Comissão

Dr. André Felipe Streck  
Co-orientador

Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge  
Membro da Comissão

Prof. Dr. Itabajara, da Silva Vaz Junior  
Membro da Comissão

Prof. Dr. Alan Gomes, Pöpp  
Membro da Comissão

Prof. Dra. Ana Paula Ravazzolo  
Membro da Comissão (Suplente)

Porto Alegre

2015

**Oscar Fernando Ortiz Granados**

**DETERMINAÇÃO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS VIRAIS DE DIARREIA EM CÃES  
NO BRASIL**

Aprovada em 23 de março de 2015

**APROVADA POR:**

---

Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Dr. André Felipe Streck  
Co-orientador

---

Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Itabajara, da Silva Vaz Junior  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Alan Gomes, Pöpp  
Membro da Comissão

---

Prof. Dra. Ana Paula Ravazzolo  
Membro da Comissão (Suplente)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente aos meus pais, Rodolfo e Martha e a minha filha Ana Maria, pelo incentivo, apoio e compressão que permitiu que eu pudesse completar esta nova etapa na minha vida.

Agradeço ao meu orientador Cláudio Wageck Canal e co-orientador André Felipe Streck por terem acreditado no meu trabalho e pela oportunidade e auxílio com seu conhecimento.

Agradeço à Renata Budaszewski, Christian Diniz Travassos, Alessandra Borchardt, Priscilla Dupont, Simone Silveira, Matheus Nunes Weber, Luciane Pinto, Carine Kunzler, Catarina Marcon, Ana Cristina Mosená e Márcia Jorgens, pela amizade, ensino e apoio durante o mestrado.

As estagiárias Marcela Torikachvili e Mariana Soares, pela ajuda com os experimentos, sou muito grato a vocês.

A Cleusa Maria pelo amor, carinho e compreensão que tem me dado durante todo este tempo.

Aos queridos amigos e familiares pelo carinho, apoio e confiança nesses anos de estudos.

Ao CNPq, através do PEC-PG, pela concessão da bolsa e por ter me dado a possibilidade de realizar os meus estudos no Brasil.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Modelo da estrutura do capsídeo do parvovírus canino (CPV-2), microscopia eletrônica em contraste negativo das partículas do CPV-2..... 15
- Figura 2.** Microscopia eletrônica de uma partícula de adenovírus (esquerda) e organização estrutural de uma partícula viral mostrando as proteínas do capsídeo e do núcleo (direita) ..... 21
- Figura 3.** Estrutura das partículas virais e genoma de um coronavírus..... 27
- Figura 4.** Padrão eletroforético representando os genes segmentados do rotavírus em gel de poliacrilamida (esquerda). Ao centro, as migrações dos segmentos mostram a codificação proteica do vírus. A direita, a imagem ilustra a estrutura de uma partícula viral e sua composição. A numeração de cada segmento está de acordo com a migração genômica da cepa Sa11 do Grupo A de rotavírus..... 31
- Figura 5.** Organização estrutural das partículas virais e do genoma de um vírus do gênero *Morbilivirus*..... 36

## RESUMO

Os vírus entéricos causam infecções que podem ocasionar uma alta morbidade e mortalidade em cães. A diarreia se destaca como o principal sinal clínico e a subsequente desidratação pode causar a morte do animal. O *Carnivore protoparvovirus 1* (CPV-2), *Canine mastadenovirus A* tipo 1 (CAAdV-1), o *Canine coronavirus* (CCoV), o *Canine rotavirus* (CRV) e o *Canine distemper virus* (CDV) são considerados os principais agentes que causam gastroenterite viral aguda em cães jovens. O objetivo deste trabalho foi detectar a presença destas cinco espécies virais na população de cães do Brasil. Para isto, foram coletados 325 suabes retais de cães com ou sem diarreia, jovens (> 6 meses) e adultos (< 6 meses), com ou sem histórico de vacinação e de diversas regiões do Brasil. As amostras foram analisadas através da reação em cadeia da polimerase (PCR) ou transcrição reversa seguida de PCR (RT-PCR) utilizando iniciadores específicos para cada um dos agentes virais. Resultaram 81% (264/325) das amostras positivas para um destes vírus, das quais 30,7% (100/325) foram positivas para o CPV-2, 25,5% (83/325) para o CDV, 17,2% (56/325) para o CCoV, 4,6% (15/325) para o CRV e 2,7% (9/ 325) para o CAAdV-1. Algumas amostras apresentaram co-infecções, sendo que as espécies mais predominantemente encontradas em co-infecções foram o CDV e CPV-2 em 15,4% (50/325) e 15,0% (49/325), respectivamente, seguidos do CCoV em 10,1% (33/325), CRV em 3,0% (10/325) e CAAdV-1 em 1,5% (5/325) das amostras. A associação viral mais observada foi CDV e CPV-2 em 31/325 (9,5%) amostras positivas para ambos os vírus. Em conclusão, os resultados demonstram que CPV-2, CDV e CCoV são os principais vírus entéricos patogênicos que circularam no Brasil entre os anos de 2008 e 2014, infectando mais frequentemente animais jovens.

**Palavras chave:** Cão, Vírus, Diarreia, Co-infecção, Diagnóstico.

## ABSTRACT

Enteric viruses cause infections that lead to high morbidity and mortality. Diarrhea is the main clinical sign, whose subsequent dehydration can cause death of the animal. *Carnivore protoparvovirus 1* (CPV-2), *Canine mastadenovirus A* (CAAdV-1), *Canine coronavirus* (CCoV), *Canine rotavirus* (CRV) and *Canine distemper virus* (CDV) are considered the main agents that cause acute viral gastroenteritis in young dogs. The aim of this study was the detection of these five viral species in dogs from Brazil. Rectal swabs from 325 dogs, puppies (< six months old), adult dogs (> 6 months old), with or without a history of vaccination, were collected from various regions of the country. The samples were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) or reverse transcription followed by PCR (RT-PCR) using oligonucleotides specific for each one of this virus. As result, 81% (264/325) of the samples were observed to be positive for at least one virus, 30,7% (100/325) were positive for CPV-2, 25,5% (83/325) for CDV, 17,2% (56/325) for CCoV, 4,6% (14/325) for CRV and 2,7% (9/325) for CAAdV-1. Some samples showed co-infection, where the species most predominantly found were CDV and CPV-2 with 15,4% (50/325) and 15,0% (49/325), respectively, followed by CCoV with 10,1% (33/325), CRV with 3,0% (10/325) and CAAdV-1 1,5% (5/325). The most observed viral association was CDV and CPV-2, with 31/325 (9,5%) positive samples for both viruses. In conclusion, the results showed that CPV-2, CDV and CCoV are the main pathogenic enteric viruses that circulated in Brazil between the years 2008 and 2014, infecting more frequently puppies.

**Keywords:** Dog, Virus, Diarrhea, Co-infections, Diagnostic.



## LISTA DE ABRAVIATURAS E SIGLAS

<b>A 72:</b>	<i>Fibroblast Canine Cell Line</i>
<b>AT:</b>	Adenina e timina
<b>CPV-2:</b>	Parvovírus canino
<b>CPV-2a:</b>	Parvovírus canino 2a
<b>CPV-2b:</b>	Parvovírus canino 2b
<b>CPV-2c:</b>	Parvovírus canino 2c
<b>CAdV-1:</b>	Adenovírus canino tipo 1
<b>CAdV-2:</b>	Adenovírus canino tipo 2
<b>CCoV:</b>	Coronavírus canino
<b>CCoV-2a:</b>	Coronavírus canino 2a
<b>CCoV-2b:</b>	Coronavírus canino 2b
<b>CCoV-2c:</b>	Coronavírus canino 2c
<b>CID:</b>	Coagulação intravascular disseminada
<b>CRFK:</b>	<i>Feline Kidney Cells</i>
<b>CRV:</b>	Rotavírus canino
<b>CDV:</b>	Vírus da cinomose
<b>dsRNA:</b>	Fita dupla do RNA
<b>DNA:</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>E:</b>	Fase Inicial
<b>ELISA:</b>	Ensaio imunoenzimático
<b>HA:</b>	Hemaglutinação direta
<b>HI:</b>	Inibição da hemaglutinação
<b>ICH:</b>	Hepatite contagiosa canina
<b>IgA:</b>	Imunoglobulina A
<b>IF:</b>	Imunofluorescência

<b>IFI:</b>	<b>Imunofluorescência indireta</b>
<b>IHC:</b>	<b>Imunoistoquímica.</b>
<b>IV:</b>	<b>Isolamento viral</b>
<b>MCH-1:</b>	<b>Complexo maior de histocompatibilidade tipo 1</b>
<b>MDCK:</b>	<i>Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cell line</i>
<b>ME:</b>	<b>Microscopia eletrônica</b>
<b>ML-CDV:</b>	<b>Vacinas vivas modificadas contra CDV</b>
<b>MLP:</b>	<b>Promotor tardio principal</b>
<b>mRNA:</b>	<b>RNA mensageiro</b>
<b>NSP:</b>	<b>Proteína não estrutural</b>
<b>L:</b>	<b>Fase tardia</b>
<b>ORF:</b>	<b>Sequência aberta de leitura</b>
<b>p53:</b>	<b>Supressor tumoral celular</b>
<b>PAGE</b>	<b>Eletroforese em gel de poliacrilamida</b>
<b>PCR:</b>	<b>Reação em cadeia da polymerase</b>
<b>pH:</b>	<b>Potencial de hidrogênio</b>
<b>PT:</b>	<b>Proteína promotora tardia</b>
<b>qPCR:</b>	<b>PCR em tempo real</b>
<b>qRT-PCR:</b>	<b>RT-PCR em tempo real</b>
<b>RdRp:</b>	<b>RNA polimerase RNA-dependente</b>
<b>RER:</b>	<b>Retículo endoplasmático rugoso</b>
<b>RNA:</b>	<b>Ácido ribonucleico</b>
<b>RT-PCR:</b>	<b>Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase</b>
<b>SN:</b>	<b>Soroneutralização</b>
<b>SNC:</b>	<b>Sistema nervoso central</b>
<b>TNF:</b>	<b>Fator de necrose tumoral</b>
<b>VP:</b>	<b>Proteína estrutural</b>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
<b>2.1. <i>Carnivore protoparvovirus 1, parvovirus canino</i></b> .....	14
2.1.1. Histórico.....	14
2.1.2. Caracterização e Patogenia.....	14
2.1.3. Epidemiologia e Patogenia.....	16
2.1.4. Manifestações Clínicas e Lesões.....	17
2.1.5. Diagnóstico.....	18
2.1.6. Prevenção e Controle.....	18
<b>2.2. <i>Canine mastadenovirus A tipo 1</i></b> .....	19
2.2.1. Histórico.....	19
2.2.2. Caracterização e Classificação.....	20
2.2.3. Epidemiologia e Patogenia.....	21
2.2.4. Manifestações Clínicas e Lesões.....	23
2.2.5. Diagnóstico.....	24
2.2.6. Prevenção e Controle.....	25
<b>2.3. <i>Coronavírus Canino</i></b> .....	25
2.3.1. Histórico.....	25
2.3.2. Caracterização e Classificação.....	26
2.3.3. Epidemiologia e Patogenia.....	26
2.3.4. Manifestações Clínicas e Lesões.....	28
2.3.5. Diagnóstico.....	29
2.3.6. Prevenção e Controle.....	29
<b>2.4. <i>Rotavírus Canino</i></b> .....	30
2.4.1. Histórico.....	30
2.4.2. Caracterização e Classificação.....	30
2.4.3. Epidemiologia e Patogenia.....	32

2.4.4.	Manifestações Clínicas e Lesões .....	34
2.4.5.	Diagnóstico.....	34
2.4.6.	Prevenção e Controle.....	35
<b>2.5. Vírus da Cinomose.....</b>		<b>35</b>
2.5.1.	Histórico.....	35
2.5.2.	Caracterização e Classificação.....	36
2.5.3.	Epidemiologia e Patogenia.....	37
2.5.4.	Manifestações Clínicas e Lesões.....	39
2.5.5.	Diagnóstico.....	39
2.5.6.	Prevenção e Controle .....	41
<b>2.6. Imunidade.....</b>		<b>42</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>		<b>44</b>
3.1. OBJETIVO GERAL .....		44
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....		44
<b>4. ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>		<b>45</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>		<b>85</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>		<b>86</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>		<b>88</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Existe uma grande quantidade de patógenos que provocam infecções intestinais em caninos, tais como bactérias, parasitas e vírus. Os agentes etiológicos virais que causam gastroenterite são conhecidos em todo o mundo como uma das principais causas de morte em canídeos domésticos nos primeiros anos de vida, principalmente naqueles não vacinados (POLLOCK e COYNE, 1993; PRATELLI et al., 2001).

Atualmente, métodos para o controle destes agentes têm sido desenvolvidos, tais como a vacinação e outras medidas preventivas que ajudaram a reduzir o impacto que estas viroses causam em populações de cachorros suscetíveis (APPEL et al., 1973; POLLOCK e CARMICHAEL, 1982; McCLADISH, 2001; BERGMAN et al., 2006; DECARO et al., 2007; HORZINEK, 2010). Os vírus entéricos estão entre os principais agentes em circulação na população de cães sendo os principais o *Carnivore protoparvovirus 1* (CPV-2), o *Canine mastadenovirus A* tipo 1 (CAV-1), o *Canine rotavirus* (CRV), o *Canine coronavirus* (CCoV) e o *Canine distemper virus* (CDV) (HOSKINS, 1997; TAMS, 2005).

A diarreia é um dos principais sinais clínicos de gastroenterite que resulta no quadro de desidratação, emagrecimento e redução da microbiota digestiva do animal. O diagnóstico convencional, através de técnicas laboratoriais, baseia-se em exames sorológicos, teste de inibição da hemaglutinação e exames hematológicos, embora estes métodos, muitas vezes, não sejam conclusivos (REMOND et al., 1992).

O uso de técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), permite a detecção de regiões específicas do genoma viral, com alta especificidade e sensibilidade (HERREWEGH et al., 1998; GOUVEA et al., 1990; BOUNAGLOVIA et al., 2001; PRATELLI et al., 2001; DECARO et al., 2005). Posteriormente à PCR, as amostras podem ainda ser submetidas a análises adicionais, visando sua caracterização genética (DESARIO et al., 2005).

A identificação destas cinco espécies entéricas virais, ajuda a monitorá-las dentro da população de cães no Brasil. Além disso, estes estudos podem contribuir na realização de estudos epidemiológicos e preventivos destes vírus em caninos.

O objetivo deste trabalho foi detectar as principais espécies de vírus (CPV-2, CAV-1, CRV, CCoV e CDV) que infectam cães com e sem sinais clínicos de diarreia no Brasil.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 *Carnivore protoparvovirus 1*, parvovírus canino (CPV-2)

#### 2.1.1 Histórico

A parvovirose canina é considerada uma das principais causas de enterite viral, de origem infecciosa, em cães com idade inferior a seis meses (POLLOCK et al., 1993; PRITTIE et al., 2004). A doença é causada pelo parvovírus canino (*Carnivore protoparvovirus 1*, CPV-2), o qual foi descrito na década de 70 e disseminou-se rapidamente por todos os continentes (APPLE et al., 1979; COTMORE et al., 2013).

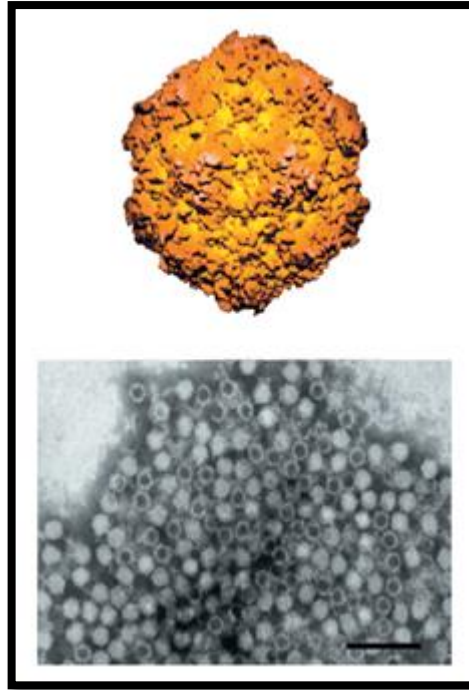
Na década de 80, uma nova variante emergente do CPV-2 foi descoberta, sendo designada CPV-2a. O vírus continuou mutando, e rapidamente um novo tipo, CPV-2b, surgiu em 1984 (POLLOCK, 1984; PARRISH, 1988). Atualmente, os subtipos CPV-2a e CPV-2b do parvovírus canino são os principais agentes causais de doenças gastroentéricas em caninos no mundo inteiro. Nos últimos quinze anos, uma nova estirpe, CPV-2c, emergiu (GODDARD e LEISEWITZ, 2008). Este novo subtipo da espécie CPV-2 e foi relatada pela primeira vez por Buonavoglia et al., (2000) na Itália e, posteriormente também foi identificada no Vietnã por Nakamura et al., (2004), na Espanha por Decaro et al., (2006), nos Estados Unidos por Hong et al., (2007), em Portugal por Vieira et al., (2008), na Alemanha e no Reino Unido por Decaro et al., (2007). Em países da América do Sul, esta nova variante foi relatada pela primeira vez por Perez et al., (2007), no Uruguai.

No Brasil, Streck et al., (2009) foram os primeiros a identificar o CPV-2c circulando dentro das populações de cães na região metropolitana de Porto Alegre, no estado do Rio Grande do Sul. Posteriormente, Pinto et al., (2012) realizaram um estudo de prevalência do CPV-2 em 144 amostras de fezes de cães, onde a taxa de detecção foi de 29,2% (42/144) entre as amostras avaliadas para o vírus, revelando, desta maneira, que o CPV-2 ainda tem uma alta ocorrência dentro das populações de cães no Brasil.

#### 2.1.2 Caracterização e Classificação

O parvovírus possui um genoma linear do tipo DNA fita simples. Seu vírion tem 25 nm de diâmetro e é composto por um capsídeo não envelopado de morfologia esférica o qual infecta

vertebrados e insetos (Figura 1), (MUZYCZKA e BERNS, 2013; DECARO e BUONAVOGLIA 2012).



**Figura 1.** Modelo da estrutura do capsídeo do parvovírus canino (CPV-2), microscopia eletrônica em contraste negativo das partículas do CPV-2 Adaptado de: Parrish et al., 2011.

O genoma do parvovírus é composto por duas fases abertas de leitura (ORF) sobrepostas, que codificam duas proteínas não estruturais (NS1 e NS2) e duas proteínas estruturais (VP1 e VP2). A proteína estrutural VP2 é a mais abundante do CPV-2, já que está compõe 90% do capsídeo viral. Além disso, ela é a principal responsável pela variabilidade das interações vírus-hospedeiro e também sua clivagem com as proteases do hospedeiro gera a proteína VP3 (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012).

O genoma do CPV-2 apresenta entre seis e dez sequências palindrômicas que favorecem a formação de estruturas em forma de grampo nas regiões terminais. Isto é fundamental tanto para a replicação como para a formação do capsídeo viral. Devido a sua dependência por células na fase S do ciclo celular, este vírus atua preferencialmente em órgãos de multiplicação rápida, como a medula óssea e o intestino delgado (MORAIS E COSTA, 2012).

O CPV-2 está classificado dentro da Família *Parvoviridae*, a qual compreende duas subfamílias, *Parvovirinae* e *Densovirinae*, que infectam vertebrados e insetos, respectivamente

(TATTERSALL et al., 2005). Atualmente, oito gêneros estão incluídos na subfamília *Parvovirinae*, nomeados *Amdoparvovirus*, *Aveparvovirus*, *Bocaparvovirus*, *Copiparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Protoparvovirus*, *Tetraparvovirus*. Atualmente o ICTV classifica o CPV-2, no gênero *Protoparvovirus* onde foi incluído como a espécie *Carnivore protoparvovirus 1*, conjuntamente com *Primate protoparvovirus 1*, *Rodent protoparvovirus 1*, *Rodent protoparvovirus 2* e *Ungulate protoparvovirus* (COTMORE et al., 2013).

### 2.1.3 Epidemiologia e Patogenia

A enterite aguda causada pelo CPV-2 pode ser vista em cães de qualquer raça, idade, ou sexo, porém, filhotes entre seis semanas e seis meses de idade parecem ser mais suscetíveis. A imunidade adquirida após a vacinação contra o CPV-2 é de longa duração (POLLOCK e COYNE, 1993; HOSKING, 1997; PRITTIE, 2004). Nas primeiras semanas de vida, os filhotes são protegidos contra a infecção pelo anticorpo de origem materna (supondo que a fêmea tenha anticorpos). A doença é, portanto, raramente encontrada nos recém-nascidos (POLLOCK e CARMICHAEL, 1982).

Entre os fatores que predisõem os cães à infecção pelo CPV-2 se encontram: a falta de imunidade, parasitas intestinais e condições ambientais insalubres e estressantes (BRUNNER e SWANGO, 1985; SMITH-CARR e MACINTIRE, 1997; HOSKING, 1997;). Algumas raças têm demonstrado serem mais suscetíveis a apresentar um quadro clínico mais severo quando infectadas pelo CPV-2, incluindo o rottweiler, doberman, pinscher, american pit bull terrier, labrador retriever, e pastor alemão (HOUSTON et al., 1996; GODDARD, 2010; NELSON e COUTO, 2013).

O CPV-2 se propaga rapidamente entre as populações de cães pela via fecal-oral, através da exposição oro nasal, fômites contaminados por fezes, roedores, insetos e seres humanos que atuam como veículos de propagação viral. A excreção das partículas virais nas fezes começa a partir do terceiro dia após infecção (JHONSON e SMITH, 1983; HOSKINS, 2004).

A replicação do vírus se inicia em tecidos linfoides associados ao sistema gastroentérico e é disseminada por leucócitos infectados para o epitélio germinativo das criptas do intestino delgado, ocasionando assim a diarreia. Durante a infecção intestinal, o vírus consegue destruir a base das criptas intestinais e se replicar em células epiteliais da mucosa entérica. Este tipo celular permanece em fase contínua de mitose, reconstituindo o epitélio absorptivo das



vilosidades (APPEL e MEUNIER, 1980; MEUNIER e COOPER, 1985a; Mc CANDLISH, 2001; GODDARD, 2010). Entre o primeiro e quinto dia pós-infecção, se observa um quadro de viremia plasmática. Após isso, o CPV-2 passa a ser observado, predominantemente, no epitélio que reveste a língua, a cavidade oral e do esôfago; intestino delgado; medula óssea; e tecido linfoide, como gânglios linfáticos e timo (MEUNIER e COOPER, 1985b; HOSKING, 1997; PRITTIE, 2004). A eliminação viral acontece por um período de 3 a 4 semanas após adquirir a doença clínica ou sub-clínica (MACARTNEY e MCCANDLISH, 1984).

#### **2.1.4 Manifestações Clínicas e Lesões**

A forma clínica mais característica induzida pelo CPV-2 é a enterite hemorrágica (DECARO et al., 2005) que, em alguns casos, pode se apresentar de uma forma extremamente severa, devido às infecções secundárias concomitantes, baixos níveis de anticorpos maternos e fatores ambientais (PRITTIE, 2004). Os sinais clínicos ocorrem após um período de incubação de três a sete dias e incluem anorexia, depressão, febre e desidratação. Filhotes afetados podem começar a desenvolver vômitos e diarreia sanguinolenta em um período que varia de 24 a 48 horas após o início dos sinais clínicos (SMITH-CARR e MACINTIRE, 1997).

As grandes perdas de fluídos e proteínas através do trato gastrointestinal, a desidratação e o choque hipovolêmico, muitas vezes, desenvolvem-se rapidamente. Lesões secundárias à infecção viral no trato intestinal aumentam o risco de translocação bacteriana e subsequente, septicemia por coliformes, que podem levar ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória sistêmica podendo progredir para o choque séptico (TURK et al., 1990; OTTO et al., 1997; GODDARD, 2010).

Entre os achados hematológicos associados à infecção causada pelo CPV-2 está a linfopenia e, em alguns casos, a panleucopenia pode ser observada (BRUNNER e SWANGO, 1985). Infecções pulmonares causadas por patógenos oportunistas podem levar ao aparecimento de doenças respiratórias. Infecções subclínicas e inaparentes são detectadas com frequência, principalmente em filhotes com títulos intermediários de anticorpos e em cães adultos. A taxa de mortalidade pode ser elevada (até 70%) em filhotes, mas, em cães adultos, geralmente são menores do que 1% (DECARO e BOUNAVOGLIA, 2011).

### 2.1.5 Diagnóstico

Testes diagnósticos utilizados na detecção do CPV-2 em pacientes infectados incluem: sorologia, histopatologia e necropsia (POLLOCK e CARMICHEL, 1983). Testes sorológicos, microscopia eletrônica (ME), hemaglutinação direta (HA), isolamento viral (IV) e cultivo celular, são altamente sensíveis e específicos, porém, dependem de diversos fatores, tanto relacionados à técnica, quanto ao período pós-infecção em que o paciente se encontra. Testes sorológicos indiretos também podem ser usados, tais como: inibição da hemaglutinação (HI), soroneutralização (SN), ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) indireto e imunofluorescência indireta (IFI). Estes identificam uma infecção passada ou podem ser utilizados para monitorar a condição imunológica do cão após vacinação. O diagnóstico *post-mortem* é realizado com base nos achados de necropsia e nas lesões histológicas características (HOSKINS, 2004).

Cultivos celulares feitos a partir de linhagens de origem canina como as células MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cell line*) e A 72 (*Fibroblast Canine Cell Line*), ou de linhagem felina como as células CRFK (*Feline Kidney Cells*), podem ser realizados através do isolamento de partículas virais nas fezes e nos tecidos dos pacientes infectados (MORAIS e COSTA, 2012). Entretanto, resultados falso-positivos podem ser observados de três a dez dias após a vacinação em cães imunizados contra o CPV. Estes falso-positivos podem ocorrer devido a ligação dos anticorpos neutralizantes presentes no soro, com antígenos nas partículas virais que estão presentes nas fezes dos pacientes (PRITTIE, 2004; GODDARD, 2010).

Nas últimas décadas, foram desenvolvidos métodos de diagnóstico molecular, como a hibridização de ácidos nucleicos (REMOND et al., 1992) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (BOUNAVOGLIA et al., 2001). Esses métodos geralmente não são afetados pela resposta imune do hospedeiro. Vários protocolos de PCR foram desenvolvidos para detectar material genético em amostras de fezes por ser mais sensível e específico, se comparados com outros (DESARIO et al., 2005). Atualmente, este é o método mais utilizado, já que ajuda a excluir muitos resultados falso-positivos e falso-negativos (MORAIS e COSTA, 2012).

### 2.1.6 Prevenção e Controle

Historicamente, os surtos de enterites causados pelo CPV-2 são de difícil controle. O vírus pode sobreviver por mais de seis meses em temperatura ambiente e pode ser facilmente transmitido para os cães através de gaiolas contaminadas, roupas de cama ou através de seres

humanos que carreguem o vírus. Em lugares como canis, é necessário adotar boas práticas de higiene, as quais incluem a desinfecção de todas as superfícies e do pessoal que foi exposto ao vírus, o que é fundamental para a prevenção da transmissão nosocomial da infecção viral (PRITTIE, 2004).

Para prevenir a infecção pelo CPV-2, mais importante do que uma boa higiene, é a garantia de uma forte imunidade individual do cão através de adoção de protocolos eficazes de imunização. Títulos de anticorpos no soro estão correlacionados com a imunidade. Cães soronegativos são sensíveis à doença; cães com títulos baixos de anticorpos, normalmente não se tornam sistemicamente doentes, mas vão eliminar o vírus nas suas fezes podendo propagar a infecção. Cães com altos títulos de anticorpos não desenvolvem a infecção, porém, podem contribuir na propagação do vírus (POLLOCK e CARMICHAEL, 1982; POLLOCK e COYNE, 1993).

O protocolo de vacinação mais eficaz para prevenir a infecção do CPV-2 é imunizar sistemicamente os filhotes, com três doses de vacinas iniciais (WANER et al., 1996; McCLADISH, 2001; BERGMAN et al., 2006; NELSON e COUTO, 2013) e recomenda-se revacinar anualmente (HORZINEK, 2010). Um estudo feito por Twark et al., em 2000, revelou que 93,7% dos cães vacinados mantiveram uma resposta adequada após dois anos da vacinação. Em outro estudo, Kapil et al., em 2007, mostraram que duas vacinas vivas modificadas, uma contendo a variante CPV-2 e a outra o subtipo CPV-2b, conseguiram induzir proteção cruzada contra o subtipo CPV-2c. Existem ainda disponíveis no mercado, detergentes e desinfetantes que inativam o CPV-2. O hipoclorito de sódio (água sanitária comum) é um desinfetante viricida altamente eficaz, mas a sua exposição deve durar pelo menos uma hora para se obter uma ação eficaz (HOSKING, 1997).

## **2.2. *Canine mastadenovirus A tipo 1 (CAdV-1)***

### **2.2.1 Histórico**

O primeiro relato envolvendo o mastadenovírus canino A tipo 1 (CAdV-1) foi em 1947, na Suécia. Neste estudo, Rubarth et al., descreveram a hepatite infecciosa canina como uma doença aguda que causava lesões no fígado, no endotélio vascular e no tecido linfóide de cães,

denominada hepatite contagiosa canina (ICH) ou doença de Rubarth (PARRY e LARIN 1950; PAY, 1950; HIPÓLITO E FREITAS, 1964).

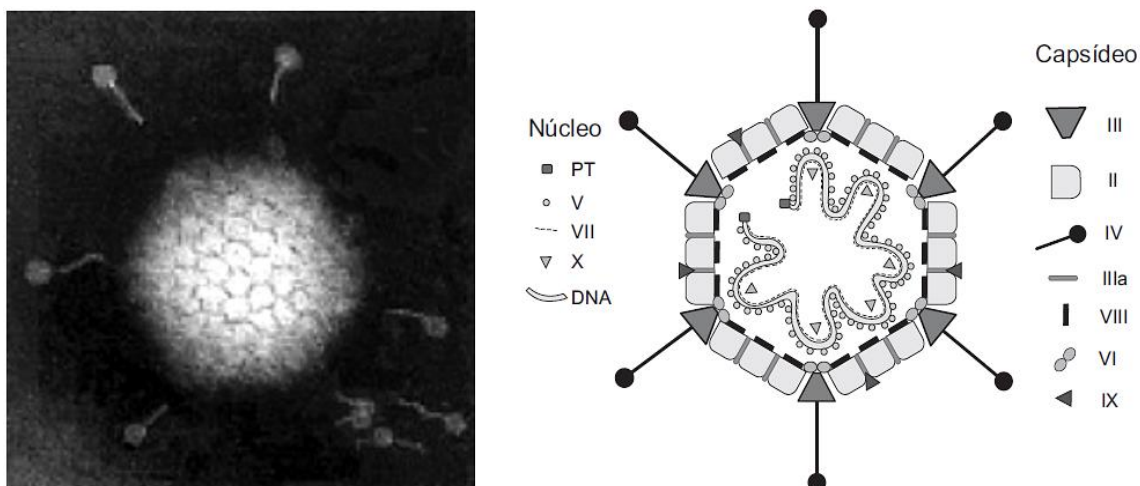
A partir do seu descobrimento, esta espécie viral tem sido amplamente estudada no mundo inteiro em caninos que apresentam variadas formas clínicas (subclínica, aguda e crônica) da infecção. Atualmente, este tipo de doença tem uma incidência muito baixa, devido à implementação de programas eficazes de vacinação nas populações caninas (APPEL et al., 1987; KOBAYASHI et al., 1993; HAN et al., 1996; BISCHOFF et al., 1996; LUTZ et al., 1997; RIDGWAY et al., 1997; CHOUINARD et al., 1998; HALL et al., 1998; VOLLMER et al., 1999; PRATELLI et al., 2001; CAUDELL et al., 2005; DECARO et al., 2007; AKERSTEDT et al., 2010; THOMPSON et al., 2010; PIACESI et al., 2014).

### 2.2.2 Caracterização e Classificação

O genoma do adenovírus é linear, DNA fita dupla, não envelopado, com um diâmetro de aproximadamente 90 nm e possui uma proteína promotora tardia (PT) ligada covalentemente na região 5' terminal (REKOSH et al., 1977). Os adenovírus são compostos por um capsídeo icosaédrico, que consiste de três proteínas maiores, do hexon (II), a base do penton (III) e uma fibra nodosa (IV), juntamente com as proteínas menores, VI, VIII, IX, IIIa e IVa2 e por um núcleo constituído pelas proteínas V, VII, X e a proteína PT (Figura 2) (RUSSELL, 2000).

O capsídeo está composto por 252 capsômeros, os quais são formados por 240 hexons que compõem as faces e bordas do capsídeo e por 12 bases pentons que constituem as fibras nodosas dos virions (VELLINGA et al., 2005). As proteínas que compõem o núcleo estão fusionadas com o genoma viral. Algumas das funções destas proteínas parecem estar envolvidas no empacotamento, compactação e no processo replicativo do genoma (RUSSELL, 2000).

De acordo com a classificação atual do ICTV, o adenovírus canino está agrupado em cinco gêneros dentro da família *Adenoviridae*, os quais são: o *Mastadenovirus*, *Avianadenovirus*, *Atadenovirus*, *Ichtadenovirus* e *Siadenovirus*. O CAdV-1 pertence ao gênero *Mastadenovirus* onde está incluído na espécie *Canine mastadenovirus A* (DAVISON et al., 2013).



**Figura 2.** Microscopia eletrônica de uma partícula de adenovírus (esquerda) e organização estrutural de uma partícula viral mostrando as proteínas do capsídeo e do núcleo (direita). Adaptado de: MORAIS e COSTA, 2012.

### 2.2.3 Epidemiologia e Patogenia

A implementação em grande escala das vacinas contra o CAdV-1, além de conferir proteção cruzada contra o CAdV-2 desde os anos 60, reduziu em grandes proporções a ocorrência da enfermidade (APPEL et al., 1987; PRATELLI et al., 2001). Estudos realizados na Suécia (RUBARTH et al., 1947), Japão (KOBAYASHI et al., 1993), Estados Unidos (CAUDELL et al., 2005) e na Itália (DECARO et al., 2007) mostram que a infecção causada pelo CAdV-1 está distribuída pelo mundo todo. Um recente estudo feito no Brasil por Piacesi et al., (2014) revela que apesar do CAdV-1 ser uma enfermidade rara, este tipo de infecção pode apresentar surtos esporádicos.

Em regiões onde os cães não são imunizados, é possível que caninos entre um mês e dois anos de idade possam desenvolver a infecção com um quadro febril discreto (STALKER e HAYES, 2007). Além da vacinação, há outros fatores que podem contribuir para a prevenção da doença, incluindo uma correta desinfecção e uma boa higiene de gaiolas e das instalações, que são determinantes no controle da doença (PRATELLI et al., 2001).

Cães suscetíveis à infecção podem contaminar-se tanto por contato direto quanto indireto, sendo as vias oro – nasal e conjuntival as principais formas de contaminação. A principal via de excreção das partículas virais é a urina. É possível excretar o vírus por períodos maiores que seis meses, e os principais disseminadores do vírus são animais clinicamente

recuperados da infecção (APPEL et al., 1987). Animais silvestres, como lobos, raposas, gambás e guaxinins, atuam como reservatórios do vírus, já que desenvolvem a infecção naturalmente (BICHARD e SHERDING, 2004; AKERSTEDT et al., 2010; THOMPSON et al., 2010).

O ciclo infeccioso do CAdV-1 é composto por uma fase inicial (E), constituída por cinco regiões de transcrição E1A, E1B, E2, E3 e E4 e por uma fase tardia (L), composta por cinco regiões de transcrição (L1 a L5). Outros integrantes da transcrição viral são os genes IX e IVa2, os quais são expressos em níveis elevados (LUTZ e KEDINGER, 1996; LUTZ et al., 1997). A fase inicial do ciclo infeccioso pode levar cerca de seis a oito horas, enquanto que a fase tardia normalmente é mais curta, gerando um novo vírus entre quatro e seis horas (RUSELL, et al., 2000).

A região E1A do genoma viral codifica proteínas que são essenciais para a transcrição inicial do vírus. Estas desempenham três funções principais: a primeira é a indução na progressão do ciclo celular (síntese de DNA), para proporcionar um ótimo ambiente para a replicação viral; a segunda é proteger as células infectadas das defesas imunitárias antivirais do hospedeiro, tais como o fator de necrose tumoral (TNF) ou da apoptose; e a terceira é promover a sínteses de proteínas virais necessárias para a replicação do DNA viral (HALL et al., 1998; GOODRUM e ORNELLES, 1999; KANNABIRAN et al., 1999; YUN et al., 1999). As regiões de transcrição E1A e E1B são responsáveis pela transformação e oncogenicidade geradas dentro da célula hospedeira. Ambas as regiões, interagem com o gene p53 (supressor tumoral celular), interferindo na regulação normal, e desta forma, induzindo a apoptose e necrose (HAN et al., 1996; BISCHOFF et al., 1996; RIDGWAY et al., 1997; VOLLMER et al., 1999; HARADA e BERK, 1999).

Os produtos da região E2 estão envolvidos no mecanismo de replicação do DNA viral e na transcrição dos genes tardios (HAY et al., 1995). A região E3 é conhecida por interagir com os mecanismos de defesa imune do hospedeiro, modulando a resposta do paciente à infecção por adenovírus. Também é responsável pela inibição da expressão de antígenos do complexo maior de histocompatibilidade tipo 1 (MHC-I), em células infectadas e na inibição do TNF (TOLLEFSON et al., 1996; BENNETT et al., 1999). Por último, se encontra a região E4, a qual está envolvida em regular o ciclo celular e a replicação viral (HALBERT et al., 1985; GOODRUM e ORNELLES, 1999; WEIGEL e DOBBELSTEIN, 2000).

Em seguida, segue a transcrição tardia, onde as cinco regiões de transcrição (L1 a L5), são responsáveis pela produção dos componentes estruturais do vírus e pela encapsidação e maturação de partículas virais no núcleo. Um dos elementos chaves no controle da transcrição é o principal promotor tardio (PT), que se atenua durante a transcrição dos genes precoces. No

entanto, observa-se uma diminuição no nível basal de transcrição tardia no início da infecção mesmo antes do promotor tardio principal (MLP) entrar em ação (RUSELL, 2000).

Após o início da replicação do DNA viral, os genes IVa2 e IX são expressos em níveis elevados de transcrição devido ao MLP, que é totalmente funcional através de ativação específica. Isto é possível através dos produtos do gene IX e IVa2 (LUTZ e KEDINGER, 1996; LUTZ et al., 1997). O processo de formação do capsídeo é regulado pela presença do DNA viral através de um sinal de empacotamento enviado pela extremidade esquerda do genoma, que se compõe de uma série de sequências ricas em adenina e timina (AT). Estes eventos são acompanhados por grandes mudanças na estrutura nuclear e na permeabilização da membrana nuclear. Essas mudanças facilitam a saída do vírus do citoplasma, a conseguinte desintegração da membrana plasmática e a liberação das partículas virais da célula hospedeira (HEARING et al., 1987; RAO et al., 1996; TOLLEFSON et al., 1996; RUSELL, et al., 2000).

#### **2.2.4 Manifestações Clínicas e Lesões**

No hospedeiro, o CAdV-1 é encontrado em todos os tecidos, onde é eliminado em todas as secreções durante a infecção aguda. O período de eliminação das partículas virais é de seis a nove meses através da urina, que ocorre após a recuperação do paciente. Esta espécie viral é altamente resistente à inativação, o que facilita a transmissão através de fômites e ectoparasitas (BICHARD e SHERDING, 2004). O CAdV-1 se replica em células endoteliais vasculares e hepatócitos, produzindo uma hemorragia aguda no fígado e necrose hepática, com um curso clínico mais grave em jovens do que em cães adultos (CHOUINARD et al., 1998; STALKER e HAYES, 2007).

Este tipo de infecção pode se apresentar nas formas subclínica, aguda e hiperaguda. A forma subclínica da doença se caracteriza por ser discreta e inaparente (PARRY e LARIN, 1950; HODGMAN e LARIN, 1953), enquanto que nas formas aguda e superaguda podem levar o paciente a óbito em poucas horas (PAY, 1950; PARRY e LARIN, 1950; LARIN, 1958), com uma taxa de letalidade que oscila entre 12% (PARRY e LARIN, 1950) e 25% (KELLY, 1993).

Na maioria dos casos, a doença aguda é a mais frequente. Os sinais clínicos incluem febre, inapetência, hemorragias difusas, dor abdominal, vômitos, diarreia e dispnéia. A opacidade da córnea (olho azul) e a nefrite intersticial podem ocorrer de uma a três semanas após a recuperação clínica como consequência da deposição de complexos imunes circulantes (CARMICHAEL, 1965; WRIGHT, 1976, DECARO et al., 2007). Caso a infecção seja superaguda, os sinais clínicos incluem palidez das mucosas, coagulação intravascular

disseminada (CID), petéquias, convulsões e coma. Cães que alcançam esta fase vêm a óbito em poucas horas, devido a um possível caso de envenenamento (GREENE, 2006).

### **2.2.5 Diagnóstico**

O diagnóstico inicia através do exame físico, uma vez que os sinais clínicos são variáveis, podendo ser leves ou graves. Diagnosticar a hepatite infecciosa canina é difícil, pois os sinais clínicos não são específicos para esta doença. Com o objetivo de diferenciar de outras patologias que apresentam uma sintomatologia semelhante, exames laboratoriais como isolamento viral, IF, ME, IHC, ELISA e a PCR, assumem importância na hora de detectar e identificar o patógeno (SWANGO, 1992; PRATELLI, 2001; CAUDELL et al., 2005; DECARO et al., 2007; PARK et al., 2007;).

O ELISA é considerado um teste altamente eficiente e rápido para determinar o estado imunitário de cães para o vírus da hepatite infecciosa canina e adenovírus canino tipo 2 (GÜR et al., 2009). A PCR (LINNÉ et al., 1992) é uma técnica específica e sensível que pode detectar o DNA viral em um baixo número de cópias. Esta técnica tem sido utilizada para detectar o DNA viral do CAdV-1 em cultura de tecidos e em amostras de fígado em cães com hepatite infecciosa canina (KISS et al., 1996; CHOUINARD et al., 1998).

O vírus pode ser isolado a partir do sangue, urina, fezes e secreções da orofaringe (WOODS et al., 1999) e sua replicação pode ser realizada em células MDCK (*Madin-Darby canine kidney*), sendo esta linhagem celular a mais indicada para realizar o cultivo celular (MORAIS e COSTA, 2012). Tanto em infecções naturais como experimentais a presença do CAdV-1 foi confirmada por IHC (RAKICH et al., 1986; CAUDELL et al., 2005).

### **2.2.6 Prevenção e Controle**

Entre as medidas de prevenção implementadas contra infecção causada pelo CAdV-1 encontra-se a vacinação. Desde os anos 60 o uso de vacinas vivas modificadas contra o CAdV-1 vem sendo implementado, porém, estas vacinas vêm causando reações adversas em cães infectados. Embora as vacinas contra o CAdV-2 terem sido desenvolvidas como uma alternativa na prevenção da hepatite infecciosa canina, atualmente são caninas, são mais eficazes e seguras (FAIRCHILD et al., 1969; APPEL et al., 1973). Vacinações generalizadas



têm reduzido a circulação do vírus na população canina, de modo que hoje em dia este tipo de infecção é raramente relatada (DECARO et al., 2007). Recomenda-se imunizar os filhotes administrando duas doses com intervalos que oscilam entre as três e dez semanas. A idade ótima para administrar a vacina nos cães está entre as doze e quatorze semanas de idade. Adicionalmente, revacinar anualmente é amplamente recomendado, já que isto garante o controle da infecção (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

## **2.3 Coronavírus Canino (CCoV)**

### **2.3.1 Histórico**

O coronavírus canino (CCoV) está associado a surtos esporádicos de enterites em cães. O vírus foi pela primeira vez observado quando Binn e colaboradores, em 1971, o isolaram das fezes de cães com enterite aguda em uma unidade canina militar na Alemanha (BINN, 1974; DECARO e BUONAVOGLIA, 2008). Desde então, esse agente tem sido amplamente detectado em cães clinicamente saudáveis e em caninos que apresentam vômitos e diarreia severa, mostrando que CCoV é um patógeno entérico importante nestes animais. Testes de diagnóstico demonstram que CCoV está disseminado em todas populações de cães, sendo altamente prevalente em canis e abrigos (CARMICHAEL, 1978; RIMMELZWAAN et al., 1991; TENNANT et al., 1993; BANDAI et al., 1999; NAYLOR et al., 2001b; SCHULZ et al., 2008, DECARO e BUONAVOGLIA, 2008; LE PODER, 2011).

### **2.3.2 Caracterização e Classificação**

O genoma do coronavírus consiste de uma única molécula de sentido positivo-linear, RNA fita simples, com envelope, com 27,6 a 31 kilobases (kb) (LAI, 2001; DECARO e BUONAVOGLIA, 2008; PERLMAN et al., 2008). As proteínas virais não estruturais são codificadas na região mais próxima da extremidade 5' do genoma, enquanto que as proteínas estruturais são codificadas próximas à extremidade 3'. Os dois terços iniciais do genoma correspondem ao gene L e codificam a polimerase viral (polimerase de RNA dependente de

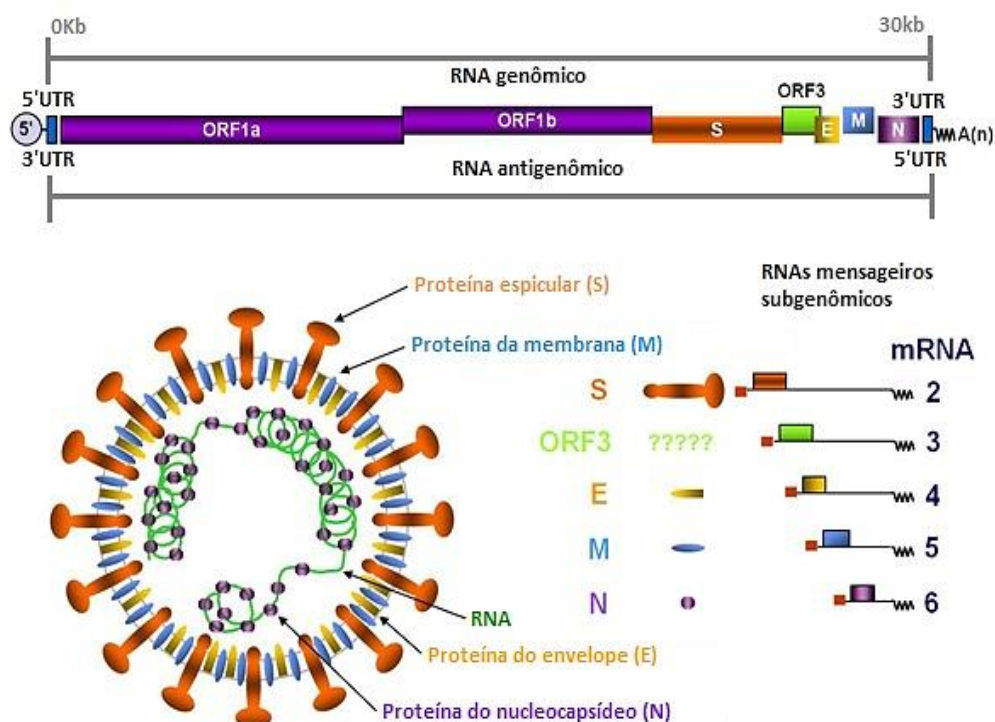
RNA – replicase). Esta região possui duas ORF sobrepostas, que são traduzidas em uma poliproteína no início do ciclo replicativo (PRATELLI, 2011).

As principais proteínas dos vírions dos coronavírus incluem uma proteína do nucleocápsideo (N), proteínas do envelope espicular (S), proteína transmembrana (M) e proteína transmembrana pequena (E). Estas duas últimas são essenciais para a montagem do vírion do coronavírus. As espículas secundárias, menores, consistem de um dímero de uma proteína de membrana de classe I, a hemaglutinina esterase (HE) e possuem identidade de sequência de 30% com a região amino-terminal da proteína de fusão do vírus da influenza (Figura 3) (MACLACHLAN e DUBOVI, 2011; PRATELLI, 2011).

O CCoV está classificado dentro da família *Coronaviridae*, a qual compreende duas subfamílias *Coronavirinae* e *Torovirinae*. Quatro gêneros conformam a subfamília *Coronaviridae*, denominados, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, e *Deltacoronavirus*. Atualmente o ICTV classifica o CCoV, no gênero *Alphacoronavirus* formando a espécie *Alphacoronavirus 1*, juntamente com o coronavírus felino (FCoV), o vírus da gastroenterite transmissível (TGEV) e o coronavírus humano 229E (PRATELLI, 2006; CARSTENS, 2010).

### 2.3.3 Epidemiologia e Patogenia

A coronavirose entérica canina é uma doença infecciosa cosmopolita que ocorre de forma endêmica e ocasiona altas taxas de mortalidade e morbidade (CARMICHEL e BINN, 1981; ZAPULLI et al., 2008; DECARO e BUONAVOGLIA, 2008). Estudos epidemiológicos feitos na última década, revelaram que o CCoV tipo I está atualmente generalizada em cães na Turquia (YEŞILBAĞET et al., 2004), Áustria (BENETKA et al., 2006) e China (WANG et al., 2006). Na Áustria, o CCoV tipo 1 foi reportado em gatos (BENETKA et al., 2006). Na China, os genótipos CCoV tipo 1 e CCoV tipo 2, foram detectados em amostras de fezes de coiotes e guaximins saudáveis, mostrando uma alta similaridade como os isolados caninos no gene M (MA e LU, 2005; WANG et al., 2006).



**Figura 3.** Estrutura das partículas virais e genoma de um coronavírus. Fonte: <http://virus.knu.ac.kr/images/research01.jpg>. Adaptado de: BRANDÃO, LOVATO e SLHESSARENKO, 2012.

No Brasil, Guirão et al., (2009) analisaram 100 amostras de fezes de cães para CCoV, resultando em 47 positivas (47%). Já em um estudo realizado por Mosca et al., (2012), através da RT-PCR detectou 55 amostras positivas de um total de 80 cães testados (68,8%). Um estudo feito no estado do Rio Grande do Sul, realizado por Dezengrini et al., (2007), analisou 817 cães para o CCoV e obteve 412 amostras (50,4%) como positivas.

A infecção por coronavírus, normalmente, é restrita ao trato entérico. A infecção é autolimitante e normalmente produz as formas leves ou assintomáticas de enterites em cães (TENNANT et al., 1991). O vírus entra no hospedeiro através da via oral, sendo que fezes e fômites de animais contaminados são as fontes primordiais do vírus. A eliminação do vírus ocorre através das fezes por até duas semanas pós-infecção. Dados de prevalência são variáveis e alguns fatores podem interferir nos resultados desses estudos, tais como: o pequeno número de amostras testadas, o uso de diferentes técnicas de detecção de anticorpos, a presença de amostras de soro de cães vacinados e a maior importância da imunidade local após a infecção.

natural (BRANDÃO, LOVATO e SLHESSARENKO, 2012). O vírus é contagioso e acomete canis, abrigos e outros locais com uma alta densidade populacional (CARMICHEL e BINN, 1981; ZAPULLI et al., 2008; DECARO e BUONAVOGLIA, 2008).

O vírus replica no epitélio duodenal e começa se disseminar pela superfície do intestino até chegar ao íleo. A infecção também pode alcançar os linfonodos mesentéricos e, em alguns casos, o fígado e o baço podem ser acometidos. A forma fatal da doença geralmente ocorre como consequência de infecções múltiplas de CCoV com o CPV-2 (DECARO et al., 2006, 2007), CAdV-1 (DECARO et al., 2007), ou de CCoV com o CDV (DECARO et al., 2004; DECARO e BUONAVOGLIA, 2008).

### **2.3.4 Manifestações Clínicas e Lesões**

A manifestação clínica inicia-se entre o primeiro e quarto dia pós-infecção. Animais com coronavirose desenvolvem sinais de diarreia, desidratação, vômito, letargia e inapetência, o que em alguns casos pode levar o animal à morte. Co-infecções com outros patógenos, como vírus, bactérias e parasitas, corroboram com a cronificação da doença. Caso não haja o agravamento da patologia, a melhora clínica pode se dar normalmente na primeira semana pós-infecção (TENNANT et al., 1991; DECARO et al., 2006, 2007b). Frequentemente, o vírus causa doença gastrointestinal em filhotes e, usualmente, acarreta letargia, anorexia, vômito e diarreia. As fezes têm aspecto aquoso e coloração amarelada ou esverdeada e, em alguns casos, pode-se observar diarreia hemorrágica (CARMICHEL e BINN, 1981; ZAPULLI et al., 2008; DECARO e BUONAVOGLIA, 2008).

Comumente, este vírus ocasiona uma baixa taxa de mortalidade, fazendo com que as necropsias não sejam recorrentes. Entre os achados macroscópicos está a dilatação do intestino delgado, apresentando conteúdo líquido amarelado ou esverdeado, e a hiperemia da mucosa intestinal, que muitas vezes pode apresentar-se hemorrágica. Além disso, os linfonodos mesentéricos encontram-se edemaciados. Microscopicamente, o intestino apresenta depressão nas criptas, espessamento da lâmina própria, degeneração e integração das vilosidades intestinais devido à replicação viral e o incremento das células globosas (ZAPULLI et al., 2008).

### 2.3.5 Diagnóstico

As técnicas diagnósticas para o CCoV são principalmente usadas para diferenciar o vírus de outras espécies virais que causam gastroenterite, as quais incluem o CPV-2, CRV, CAdV-1 e o CDV (PINTO, 2012). O vírus pode ser visualizado por microscopia eletrônica ou pode ser isolado em cultivo celular. Linhagens celulares de rim de canino A-72 normalmente são suscetíveis a infecção causada pelo CCoV. Outras células como as de embrião e a linhagem de rim de felino (CRFK) também são suscetíveis a este tipo de infecção, onde o vírus gera efeito citopático em praticamente todos os tecidos do corpo com exceção do tecido cerebral. Análises de imunohistoquímica realizados com anticorpos monoclonais para o CCoV detectaram proteínas do CCoV causando lesões graves em órgãos como pulmões, rins, fígado, baço, intestino e linfonodos (BOUNAVOGLIA et al., 2006).

Técnicas moleculares como RT-PCR (HERREWEGH et al., 1998; PRATIELLI et al., 2001) e a PCR em tempo real (qPCR) (DECARO et al., 2004) são altamente específicas e sensíveis, podendo ser padronizadas com fins de diagnóstico.

### 2.3.6 Prevenção e Controle

A enterite causada pelo coronavírus é controlada com a implementação de um tratamento de suporte, o qual se baseia na restituição do equilíbrio eletrolítico e no controle das infecções conjuntas com outros patógenos (HOSKINS, 1997). Estão disponíveis vacinas multivalentes que contêm antígenos inativados para o CCoV. No entanto, a efetividade destas é muito questionada, já que elas não são capazes de induzir a produção da Imunoglobulina A (IgA) na mucosa intestinal. Outro fator limitante para a eficácia destas vacinas é a grande diversidade antigênica existente entre cepas e isolados do coronavírus (BRANDÃO, LOVATO e SLHESSARENKO, 2012).

Na atualidade, as vacinas disponíveis não apresentam os novos subtipos em sua formulação, o que seria necessário para gerar uma maior proteção. Paralelo a isso, trabalhos científicos disponíveis indicam que os subtipos CCoVIIa e CCoVIIb possuem uma reação cruzada limitada com o genótipo CCoV-I, corroborando no comprometimento da eficácia vacinal (DECARO et al., 2009; DECARO et al., 2010; DECARO et al., 2011).

Uma das maneiras de prevenir a infecção causada pelo CCoV é evitar o contato com animais suscetíveis ou infectados. O desenvolvimento do quadro clínico é favorecido por alguns fatores, como infecções concomitantes por parasitas, falta de sanidade e desmame. O vírus pode ser inativado pelo calor e por solventes lipídicos e, ainda, pode manter-se ativo por longos períodos em temperaturas baixas (BRANDÃO, LOVATO e SLHESSARENKO, 2012).

## **2.4 Rotavírus Canino (CRV)**

### **2.4.1 Histórico**

O primeiro relato a respeito do rotavírus em animais foi feito por Mebus et al., (1969), quando foi demonstrada a presença do vírus em amostras de fezes de bezerros. Posteriormente, Woode, Jones e Bridger, em 1975, relataram a presença deste vírus em leitões. A partir desses achados, os rotavírus são frequentemente associados a um quadro clínico que envolve diarreia, principalmente em cães jovens, além de várias outras espécies de mamíferos e aves (ESTES et al., 1983; MUNIAPPA et al., 1987; DE CASTRO et al., 1988; KAPIKIAN e CHANOCK, 1990).

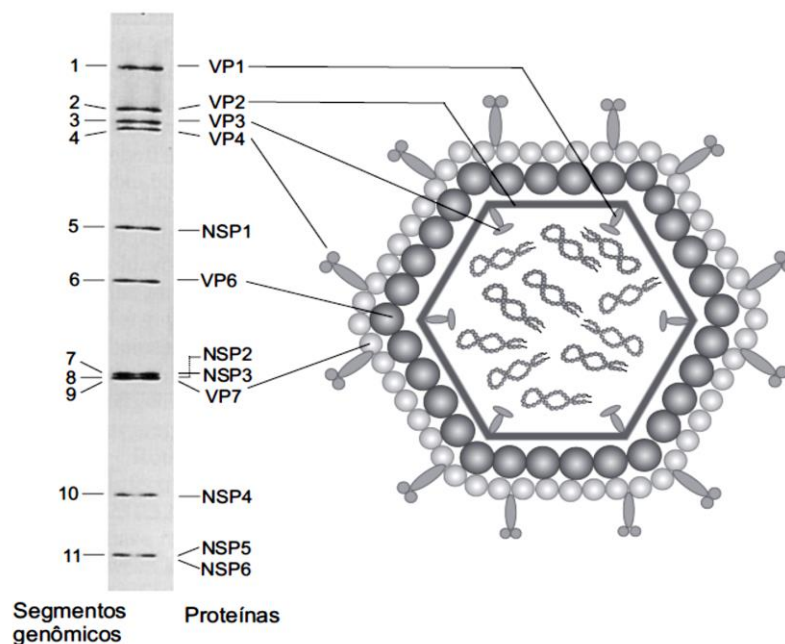
### **2.4.2 Caracterização e Classificação**

Os vírus do gênero *Rotavirus* são considerados agentes etiológicos das principais doenças entéricas humanas e animais, incluindo cepas de origem bovina, equina, suína e canina (KAPIKIAN, 1996). O genoma viral é composto por onze segmentos de RNA fita dupla, com partículas virais de capsídeo triplo, codificando seis proteínas estruturais (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, VP7), e de cinco a seis proteínas não estruturais (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP6) (Figura 4) (ESTES e KAPIKIAN, 2007).

Conforme as diferenças antigênicas observadas na proteína VP6, os rotavírus são classificados em sete diferentes sorogrupos e cada um destes foi identificado pelas letras A até G (GREENBERG et al., 1983; ITURRIZA-GOMARRA et al., 2002). Os grupos A, B e C são frequentemente encontrados tanto em humanos como em outros animais, enquanto que os outros grupos referenciados com as letras D, E, F e G foram encontrados unicamente em animais (ESTES e KAPIKIAN, 2007). Todavia, apenas os grupos A, B e C são considerados importantes do ponto de vista epidemiológico e clínico, visto que estão normalmente

envolvidos em surtos de diarreia e outras sintomatologias sugestivas de doença entérica (ALFIERI, 2012). Adicionalmente, existe outra classificação feita a partir das migrações dos segmentos do rotavírus na eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) (HERRING et al., 1982), porém, como o vírus pode apresentar alterações no seu genoma, tais como deleções e rearranjos, que poderiam alterar o padrão migratório das proteínas segmentadas, este tipo de classificação não é considerada confiável (MATSUI et al., 1990).

Outra forma de identificação do gênero *Rotavirus*, baseada na sequência de nucleotídeos das proteínas virais VP4 e VP7, permite a caracterização dos vírus em genótipos. Esta classificação já identificou cerca de 27 tipos de G (de acordo com a sequência de nucleotídeos da proteína VP7) e 37 tipos de P (de acordo com a sequência de nucleotídeos da proteína VP4) (MATTHIJNSSENS et al., 2011a; ROTAVIRUS CLASSIFICATION WORKING GROUP, 2013).



**Figura 4.** Padrão eletroforético representando os genes segmentados do rotavírus em gel de poliacrilamida (esquerda). Ao centro, as migrações dos segmentos mostram a codificação protéica do vírus. A direita, a imagem ilustra a estrutura de uma partícula viral e sua composição. A numeração de cada segmento está de acordo com a migração genômica da cepa Sa11 do Grupo A de rotavírus. Adaptado de: Alfieri, 2012.

O nome do vírus foi adotado oficialmente no ano de 1979 (MATTHEWS, 1979), após sugestão de T. H. Flewett (FLEWETT et al., 1974) e baseia-se na palavra latina "rota", devido

a forma de roda das partículas virais durante a observação no microscópio (CHATZOPOULOS et al., 2013). Atualmente, os rotavírus estão classificados dentro do gênero *Rotavirus*, sendo este um dos quinze gêneros que conformam a família *Reoviridae* a qual é composta pelas subfamílias *Sedoreovirinae* (gêneros *Cardoreovirus*, *Mimoreovirus*, *Orbivirus*, *Phytoreovirus*, *Rotavirus*, *Seadornavirus*) e *Spinareovirinae* (gêneros *Aquareovirus*, *Coltivirus*, *Cypovirus*, *Dinovernavirus*, *Fijivirus*, *Idnoreovirus*, *Mycoreovirus*, *Orthoreovirus*, *Orizavirus*) (ESTES e COHEN, 1989; ESTES, 1996; MATTHIJNSSENS et al., 2012).

### 2.4.3 Epidemiologia e Patogenia

O Rotavírus canino é geralmente responsável por formas subclínicas e leves de enterite, associadas com anorexia, diarreia e vômitos, principalmente em filhotes jovens com mais de duas semanas de idade (POLLOCK e CARMICHAEL, 1990). Existem poucos relatos sobre o isolamento do CRV em cães acometidos pela gastroenterite. Até o momento, três cepas do vírus foram isoladas nos Estados Unidos (EUA), CU-1, A79-10 e K9 (FULTON, et al., 1981; HOSHINO, et al., 1982, 1983), um isolado (RS15) foi reportado no Japão (MOCHIZUKI e HSUAN, 1984), na Itália as cepas RV198/95 e RV52/96 foram reportadas infectando cães (MARTELLA et al., 2001) e em Taiwan a cepa 04-94 s51 mostrou ter uma estreita relação genética com isolados italianos (WU et al., 2011). Todas as cepas virais isoladas foram identificadas como cepas G3P[3] específicas (HOSHINO et al., 1984; NAKAGOMI et al., 1989; GOUVEA et al., 1994 a, b; TANIGUCHI et al., 1994; MARTELLA et al., 2001; DE GRAZIA et al., 2007; WU et al., 2011). Assim, os dados sobre os tipos G e P entre as cepas de rotavírus canino são baseadas em um número limitado de isolados (quatro cepas) em apenas quatro países (EUA, Itália, Japão, Taiwan).

No Brasil, estudos realizados por Lourenço et al., (1981) e Moosai et al., (1984) revelaram a presença das cepas de rotavírus humano I2C IIW e III2 IVL circulando dentro das populações de cães. Estas amostras não mostraram nenhuma atividade para o sorotipo G, mas, para o tipo P, as amostras foram caracterizadas no genótipo P[3]. Outro estudo confirmou a presença da cepa viral R2638 (G3P[3]) em uma criança de um ano de idade durante um levantamento epidemiológico feito no estado de São Paulo (LUCBS et al., 2012). Normalmente, este tipo de cepa viral se encontra causando surtos de infecção nas populações caninas e felinas, sendo incomum sua detecção em humanos (DE GRAZIA et al., 2007).

As enfermidades agudas ocasionadas pelos rotavírus se caracterizam por serem severas e, normalmente, acompanhadas de acidose, desequilíbrio eletrolítico, diarreia e desidratação



(KAPIKIAN et al., 2000). Quando animais jovens são infectados, frequentemente desenvolvem sintomatologia clínica, diferentemente dos adultos, nos quais a infecção costuma ser assintomática (POLLOCK e CARMICHAEL, 1998). Entretanto, os adultos podem desenvolver a doença se acometidos por infecções secundárias (MOCHIZUKI et al., 1986).

A infecção causada pelo vírus acontece pela via fecal-oral e inicia-se com a ingestão de partículas virais presentes em alimentos, no ambiente ou na água (ALFIERI, 2012). Após serem ingeridas, as partículas penetram nas vilosidades intestinais talvez por endocitose mediada pelos receptores celulares ou por penetração direta da membrana, replicando-se no citoplasma do enterócitos, a qual é totalmente independente de estruturas e mecanismos nucleares (LUDERT et al., 1987). A modulação da síntese dos RNA mensageiros (mRNA) virais é realizada através de complexos de transcrição (CT) os quais são conformados: pela enzima viral RNA polimerase RNA-dependente (RdRp) e pelas proteínas estruturais um (VP1) e três (VP3). Estes CT encontram-se localizados na superfície interna do núcleo (JAYARAM et al., 2004).

Após os mRNAs virais serem transcritos, realizam duas funções básicas: atuar como mensageiros para a tradução das proteínas virais e atuar como molde para a síntese da fita dupla do RNA (dsRNA) que posteriormente irão constituir o genoma da progênie viral (SILVESTRI et al., 2004). Este vírus apresenta um tipo de transcrição assimétrica, suas fitas de polaridade positiva utilizam como molde as fitas negativas do RNA genômico para sua transcrição e sintetização. Com a síntese protéica, formam-se inclusões citoplasmáticas conhecidas como viroplasmas (FABBRETTI et al., 1999), compostos por proteínas virais estruturais (VP1, VP2) e não estruturais (NSP2, NSP5) (CRIGLAR et al., 2014). Sugere-se que dentro do viroplasma ocorra o processo replicativo do genoma e a formação de partículas virais com capsídeo duplo, que são constituídas pelos segmentos VP2 e VP6 (TRASK e DORMITZER, 2006; DESSELBERGER et al., 2013). Não obstante, algumas proteínas virais, como VP7 e a proteína não estrutural 4 (NSP4), têm a sua síntese nos ribossomos que estão associados ao retículo endoplasmático rugoso (RER) (TAYLOR et al., 1996). Além disso, existe uma tradução do mRNA realizada fora do viroplasma, correspondente às proteínas não estruturais NSP1 e NSP3. Estas são integradas ao citoesqueleto celular e difundidas pelo citoplasma (MONTERO et al., 2006; HARB et al., 2008; RUBIO et al., 2013). Após, as partículas virais migram para o RER onde são temporariamente cobertas por uma bicamada lipídica que, posteriormente, será removida pela proteína NSP 4. Em seguida, as proteínas VP7 e VP4 são anexadas para compor a partícula viral madura (ESTES e GREENBERG, 2013). Visualizações por microscopia

eletrônica apontam que, ao final do ciclo replicativo, a liberação das partículas virais ocorre por lise celular (MCNULTY et al., 1976).

#### **2.4.4 Manifestações Clínicas e Lesões**

A diarreia decorrente da infecção pelo rotavírus ocorre por má absorção intestinal. Na maioria dos casos, é denominada de “curso branco”, já que as fezes diarreicas normalmente apresentam leite não digerido. Isso ocorre devido à ausência de lactose nas vilosidades intestinais. Sem a digestão do leite, o processo de fermentação bacteriana aumenta, e a pressão osmótica no intestino se eleva, levando a uma intensificação da diarreia. Outros sinais clínicos, às vezes inespecíficos, gerados pelo rotavírus, são: vômito, desidratação, acidose metabólica, anorexia e depressão. Normalmente a recuperação ocorre entre três e quatro dias, mas alguns cães podem vir a óbito devido à desidratação ou co-infecção (CONNER E DARLIGTON, 1980).

A infecção causada pelo CRV infecta principalmente enterócitos maduros na parte superior das vilosidades do intestino delgado em espécies de mamíferos, onde vacuolizações e perda do epitélio são observadas, seguido por hiperplasia das criptas (BLUTT et al., 2003). O vírus pode replicar no fígado, sistema biliar e pâncreas e pode estar associado com atresia biliar e pancreatite (GILGER et al., 1992; FENG et al., 2008). Posteriormente, as partículas virais recém produzidas começam infectar outros enterócitos, promovendo a disseminação da doença no soro e outros locais do corpo do hospedeiro (BLUTT e CONNER, 2007).

#### **2.4.5 Diagnóstico**

A principal metodologia diagnóstica era considerada a microscopia eletrônica (BARTH et al., 1984), devido a sua alta eficiência na detecção deste vírus e por não utilizar soros hiperimunes. Porém, a técnica não era recomendada quando o número de amostras fosse elevado. Métodos de diagnóstico como IF, RIA, fixação do complemento, HA (FAUVEL et al., 1978) e testes imunoenzimáticos como ELISA (FLEWETT et al., 1989), têm sido padronizados e tornaram-se altamente difundidos para detectar a presença do rotavírus em diferentes espécies, devido a sua facilidade de execução, baixo custo e a rapidez com que se obtém os resultados (ALFIERI, 2012).

Métodos moleculares, como a RT-PCR (GOUVEA et al., 1990) são utilizados para a genotipagem e caracterização das cepas de rotavírus, através da detecção de ácidos nucleicos.

Estes métodos são altamente específicos e sensíveis, promovendo, desta maneira, a identificação das cepas dos grupos A, B e C do rotavírus. A técnica de RT-PCR multiplex (ROHAYEM et al., 2004; LIU et al., 2011) permite a identificação de vários patógenos simultaneamente e a diferenciação dos genótipos do rotavírus, além de identificar associações de genótipos feitas por recombinação heteróloga e de ajudar a detectar co-infecções a partir das amostras de fezes diarreicas (ALFIERI, 2012).

#### **2.4.6 Prevenção e Controle**

Na prevenção da doença, recomenda-se a ingestão de colostro de alta qualidade, pois, caso a mãe seja imunizada, ele irá conter anticorpos que conferirão proteção imunológica ao filhote. Devido a isto, o uso de vacinas inativadas em fêmeas gestantes também é recomendado, pois ajuda a elevar os títulos de anticorpos que serão transmitidos aos filhotes via colostro (HOMEM et al., 1999; MARTELLA et al., 2010). Atualmente, a obtenção de vacinas eficientes é laboriosa, devido às variabilidades moleculares e antigênicas características do vírus e a sua complexidade genômica, a qual está expressa em vários grupos sorológicos e diversos sorotipos circulantes. Isto faz com que seja essencial o conhecimento das cepas circulantes e sua distribuição geográfica (OFFIT et al., 1986a, 1986b; OFFIT, 1994; FRANCO et al., 2006; DESSELBERGER e HUPPERTZ, 2011).

Entre as medidas gerais de profilaxia adotadas contra a infecção por CRV estão o isolamento dos animais infectados, com o objetivo de reduzir a transmissão do vírus aos animais suscetíveis e a desinfecção de instalações como hospitais veterinários e canis, devido a constante circulação de cães e gatos. O uso de luvas é altamente recomendado na hora de tratar e manipular animais infectados. Também recomenda-se desinfetar periodicamente vestuários, calçados, ferramentas de trabalho e superfícies contaminadas (COOK et al., 2004).

### **2.5 Vírus da Cinomose (CDV)**

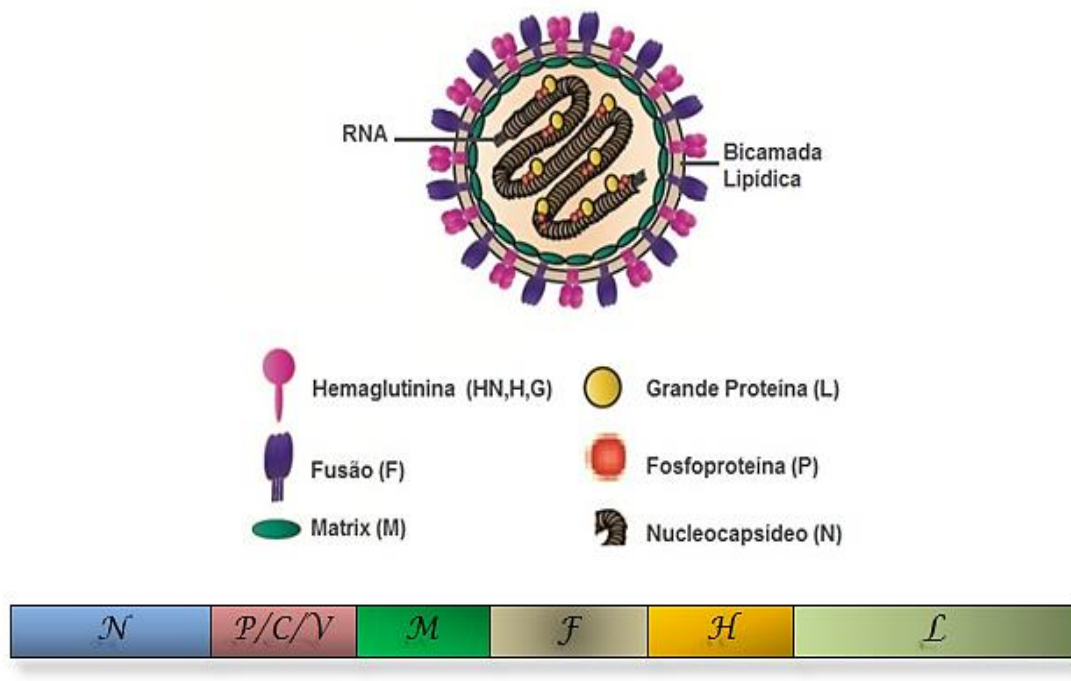
#### **2.5.1 Histórico**

A cinomose é uma doença viral antiga e bem caracterizada que vem afetando cães e outros carnívoros durante séculos. O agente viral causador desta doença foi identificado, primeiramente, em cães no início do século XX. Posteriormente, o vírus foi observado infectando outras espécies e novos hospedeiros seguem sendo identificados até hoje (CARRÉ, 1905; DUNKIN e LAIDLAW, 1926; ARMSTRONG e ANTHONY, 1942; CABASSO et al.,

1956; HARDER e OSTERHAUS, 1997). Apesar de haver múltiplas estratégias de vacinação para o seu controle, a cinomose persiste como uma doença viral importante em cães, sendo a causadora das maiores taxas de mortalidade nestes animais (SUMMERS e APPLE, 1994; AMUDE et al., 2007).

### 2.5.2 Caracterização e Classificação

O vírus da cinomose (CDV) é um vírus envelopado, pleomórfico, relativamente grande, com um diâmetro que varia de 150 a 250 nm (PRINGLE, 1999). O genoma viral consiste de uma fita de RNA de polaridade negativa, não segmentada, com 16.000 a 20.000 bases de extensão (DIALLO, 1990). Ele possui seis genes que codificam oito proteínas virais: duas não estruturais (C, V) e seis estruturais: a proteína do nucleocapsídeo (NC), a fosfoproteína (P), a proteína da matriz (M), a proteína de fusão (F), a hemaglutinina (H) e a grande proteína (L) (Figura 5). Além disso, o gene P gera três proteínas diferentes devido à presença de fases de leitura sobrepostas. Das seis proteínas estruturais, três delas fazem parte do nucleocapsídeo (a proteína NC, a P e a L), e as outras três encontram-se associadas à membrana (a proteína da matriz, a proteína de fusão e a hemaglutinina) (RIMA, 1983; MACLACHLAN, DUBOVI, 2011).



**Figura 5.** Organização estrutural das partículas virais e do genoma de um vírus do gênero *Morbilivirus*. Adaptado de: Najjar e Schmitt (2014).

De acordo com a última classificação do ICTV, o vírus da cinomose encontrasse agrupado em sete gêneros da família *Paramyxoviridae*, os quais são: *Aquaparamyxovirus*, *Avulavirus*, *Ferlavirus*, *Henipavirus*, *Morbillivirus*, *Respirovirus*, *Rubulavirus*. O CDV pertence ao gênero *Morbillivirus*, onde está incluído na espécie *canine distemper virus*, conjuntamente com o *Cetacean morbillivirus* (morbilivírus dos cetáceos), *Measles virus* (vírus do sarampo), *Peste-des-petits-ruminants virus* (vírus da peste dos pequenos ruminantes), *Phocine distemper virus* (vírus da cinomose focina) e *Rinderpest virus* (vírus da peste bovina) (VAN REGENMORTEL et al., 2000; KING et al., 2011).

### 2.5.3 Epidemiologia e Patogenia

A principal via de transmissão do CDV é pelo contato direto com secreções nasais, orais, urina e exsudatos conjuntivais de animais infectados. Outros meios de disseminação viral como aerossóis, fômites e ambientes nosocomiais têm sido descritos com certa frequência. Apesar de não ser resistente ao ambiente externo, o vírus consegue sobreviver em temperaturas entre 5°C-25°C durante dois até quatorze dias. Os animais excretam o vírus nos fluidos corporais por um período de 60 a 90 dias após a infecção (APPLE e GILLESPIE, 1972; APPLE, 1987).

A cinomose é uma doença de distribuição mundial, a qual é conhecida por causar infecções em outras espécies de carnívoros que integram a Família Canidae, e em vários membros das Famílias Procyonidae, Mustelidae, Hyaenidae, Ursidae, Viverridae e Felidae (SUMMERS e APPEL, 1994; OSTERHAUS et al., 1995). Estas espécies geralmente são consideradas as mais susceptíveis a sofrer infecção pelo CDV (APPEL, 1987). No entanto, o principal reservatório para o CDV é o cão doméstico, o qual representa a principal fonte de infecção para carnívoros selvagens (VAN MOLL et al., 1995). A cinomose atinge cães de qualquer idade, raça e sexo (TIPOLD, VANDEVELDE, JAGGY, 1992), sendo que filhotes entre três e seis meses de idade são os mais afetados pela infecção, após perderem anticorpos maternos (CHAPPUIS, 1995; HEADLEY e GRAÇA, 2000; GREENE e APPLE, 2006).

Estudos epidemiológicos do CDV tem sido descritos em países como Índia (ALEX et al., 1994), Dinamarca (BLIXENKRONE-MØELLER et al., 1993), Finlândia (EK-KOMMONEN et al., 1997) e Estados Unidos (GUO et al., 1986; JOHNSON et al., 1995). Nestes estudos foram realizados métodos de avaliação que envolvem: inquéritos sorológicos de anticorpos neutralizantes (GUO et al., 1986), levantamentos de vigilância (JOHNSON et al., 1995) e avaliação de antígenos e anticorpos (BLIXENKRONE-MØELLER et al., 1993; EK-KOMMONEN et al., 1997).

No Brasil, estudos epidemiológicos e de prevalência sugerem que a cinomose é uma doença endêmica dentro das populações caninas urbanas (GOUVEIA, MAGALHÃES e RIBEIRO, 1987). Um estudo realizado por Budaszewski et al., (2014), por RT-PCR em amostras de fezes oriundas de várias regiões do país, revelam uma taxa de detecção positiva para o CDV de 25,1%, de amostras positivas. Nas cidades de Belo Horizonte/MG e Belém/PA o índice de prevalência do CDV é de 6.1% (GOUVEIA, MAGALHÃES e RIBEIRO, 1987) e 30% (GUEDES et al., 2010), respectivamente. Estudos de prevalência realizados no estado do Rio Grande do Sul, revelam índices de prevalência para o CDV de 7.1% em Porto Alegre (SONNE et al., 2009), 27,3%, em Santa Maria (DEZENGRINI; WEIBLEN; FLORES, 2007) e 58,3% em Pelotas (HASS et al., 2008).

Alguns cães infectados não desenvolvem a forma clínica da infecção, independente da patogenicidade do vírus. A manifestação das diferentes formas clínicas da doença está associada com fatores inerentes ao hospedeiro, como idade, condição imunológica e infecções secundárias (APPLE, 1987; DEEM et al., 2000). No momento em que o cão entra em contato com as partículas virais, o CDV começa se replicar macrófagos dentro das vias linfáticas, amígdalas e gânglios linfáticos bronquiais, iniciando, desta forma, uma viremia primária (primeiro pico de febre) no hospedeiro. Entre os dias dois e quatro pós-infecção, células mononucleares infectadas com CDV podem ser encontradas em diferentes órgãos linfoides. No sexto dia, o vírus prolifera-se amplamente no baço, nos linfonodos mesentéricos, nas células de Kupfer do fígado, na lâmina própria do estômago e do intestino delgado (APPLE, 1987; MACLACHLAN e DUBOVI, 2011).

No oitavo e nono dia pós-infecção, o vírus pode disseminar-se através do sangue para os tecidos epiteliais do sistema nervoso central. Entre o décimo e o décimo quarto dia pós-infecção, a maioria dos cães desenvolve uma resposta imune celular e humoral eficaz, sem manifestar sinais clínicos da doença. Animais infectados que não conseguem montar uma resposta eficiente acabam por apresentar quadro clínico em diferentes níveis de gravidade, em até três semanas após a infecção. Neste estágio, o vírus é carregado por linfócitos e monócitos, produzindo a viremia secundária (segundo pico de febre) e acaba se disseminando para a pele e para os tratos digestivo, respiratório, urogenital e sistema nervoso (APPLE, 1987; GREENE e APPLE, 1990).

A entrada do CDV no sistema nervoso central (SNC) ocorre através das células mononucleares, as quais carregam e disseminam o vírus por diferentes vias: através da barreira hematoencefálica, pelo fluido cefalorraquidiano e/ou pelo epêndima dos ventrículos (HIGGINS et al., 1982). A grande variedade de sinais neurológicos ocasionados pela cinomose está

relacionada com as lesões multifocais no SNC. O vírus afeta preferencialmente a substância branca do cerebelo, ao redor do quarto ventrículo, a medula óssea e a via óptica. Geralmente, a desmielinização é a lesão predominante, decorrente da replicação viral na substância branca (SUMMERS e GREISEN, 1979). No entanto, estudos demonstram que, inicialmente, a infecção pelo CDV promove uma disfunção metabólica nas células produtoras da mielina. Parece, portanto, que durante a evolução clínica da doença, as lesões são decorrentes do processo inflamatório, com a destruição dessas células por macrófagos e por anticorpos (BOLLO et al., 1986).

#### **2.5.4 Manifestações Clínicas e Lesões**

Cães infectados por cinomose desenvolvem sinais de anorexia, vômito, diarreia, bronquite, pneumonia intersticial, descargas nasais mucopurulentas, conjuntivite purulenta e depressão (MURPHY et al., 1999; MACLACHLAN e DUVOTI, 2011). Lesões observadas em filhotes acometidos pelo CDV incluem pulmões colapsados, edemaciados e avermelhados (LÓPEZ, 2007), atrofia parcial ou completa do timo (APPEL, 1987) e enterite catarral ou hemorrágica (LAN et al., 2006). No sistema nervoso central (SNC), observa-se desmielinização, necrose neuronal, gliose, meningoencefalomielite não supurativa (MACLACHLAN E DUBOVI, 2011) e no encéfalo, a desmielinização é a lesão mais significativa (VANDEVELDE e ZURBRIGEN, 2005).

Outra lesão característica é a formação de corpúsculos de inclusão com presença de eosinófilos, os quais se formam em locais onde a replicação viral ocorreu. Estes corpúsculos são característicos da infecção por CDV (FLORES, 2012) e estão presentes no epitélio celular da pele, trato intestinal, brônquios, trato urinário, vias biliares, glândulas salivares, glândulas renais, SNC, gânglios linfáticos e baço (GREENE e APPLE, 2006; PANDHER et al., 2006).

Cães com resposta imune humoral e celular eficiente podem se recuperar satisfatoriamente da infecção. No entanto, pacientes com resposta imune deficientes podem vir a óbito na forma aguda da infecção e podem se tornar persistentemente infectados (APPLE, 1987). Formas crônicas da doença são desenvolvidas devido a uma resposta imune insuficiente, a qual não consegue controlar a propagação do vírus no hospedeiro (MACLACHLAN E DUBOVI, 2011).

### 2.5.5 Diagnóstico

O diagnóstico clínico é realizado com base no exame físico e na anamnese. Às vezes é inconclusivo (AMUDE et al., 2007), mas existem testes específicos que podem ser usados para o diagnóstico da doença. Cães que se recuperam da infecção são provavelmente imunes por toda sua vida e resistem à exposição ao vírus, mesmo após anos sem estímulos antigênicos (MARTINS et al., 2009).

A inflamação causada pela infecção no sistema nervoso central (SNC) normalmente é difícil de diagnosticar. Aproximadamente um terço das provas realizadas em animais vivos tem resultado como não diagnosticados. No entanto, testes realizados com o líquido de cães infectados com CDV, normalmente, geram ótimos resultados para o diagnóstico da doença (ABATE et al., 1998; DUGNAN et al., 1995).

Dentre os testes para se identificar a presença do vírus é possível citar o histopatológico (HEADLEY e GRAÇA, 2000; YU et al., 2001; SILVA et al., 2007), a soroneutralização (DEZENGRINI, 2006; HARTMANN et al., 2007), a imunohistoquímica (VAN DE BILT et al., 2002; LIANG et al., 2007) e o ELISA (BLIXENKRONE-MOLLER et al., 1993). Exames hematológicos também podem ser realizados e normalmente revelam linfopenia durante a fase inicial da infecção (TILLEY e SMITH, 2008), que em alguns casos, vem acompanhada de leucopenia, anemia, monocitose e trombocitopenia (GREEN e APPEL, 2006). Alterações sorológicas e inclusões virais são demonstradas através da técnica de imunofluorescência (EK-KOMMONEN et al., 1997), sendo normalmente o meio mais prático e útil para confirmar a presença do CDV (LEISEWITZ et al., 2001).

O isolamento viral a partir de cultura celular (APPEL et al., 1992; AMUDE et al., 2007) pode ser realizado a partir de amostras como suabe conjuntival e fragmentos de baço ou pulmão (ARNS et al., 2012). O vírus replica em linhagens celulares Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), células verdes de rim de macaco (VERO) e fibroblastos de embrião de galinha, sendo que a principal característica observada no efeito citopático é a formação de sincícios (MACLACHLAN e DUBOVI, 2011).

Atualmente, testes moleculares encontram-se disponíveis para detectar e confirmar a infecção. Métodos como a RT-PCR (HARDER et al., 1995; FRISK et al., 1999; HASHIMOTO et al., 2001; AMUDE et al., 2007; SAITO et al., 2006; NEGRÃO et al., 2007; CASTILHO et al., 2007; AN et al., 2008) e RT-PCR em tempo real (qRT-PCR) (ELIA et al., 2006; WILKES et al., 2014) são altamente sensíveis e específicos para detectar ácidos nucleicos virais em



amostras de sangue, soro, fezes e líquido (SHIN et al., 1995; GRONE et al., 1998; FRISK et al., 1999).

### **Prevenção e Controle**

A ferramenta mais utilizada para controlar e prevenir a cinomose é a vacinação com cepas atenuadas, seja em formulação monovalente ou polivalente (CHAPPUIS, 1995). A utilização de vacinas vivas modificadas contra CDV (ML-CDV) foi implementada nos anos 50, com uma alta disponibilidade e um alto uso, estas vacinas conseguiram reduzir drasticamente o impacto do vírus na população canina (HARDER e OSTERHAUS, 1997). Desde então, estão sendo utilizadas as mesmas cepas vacinais e vários estudos epidemiológicos revelaram um aumento na incidência da infecção causada pelo CDV tanto em cães vacinados como em não vacinados (BLIXENKRONE-MOLLER et al., 1993; EK-KOMMONEN et al., 1997; HAAS et al., 1997; JÓZWIK e FRYMUS, 2002; CALDERÓN et al., 2007; SIMON-MARTÍNEZ et al., 2008). É recomendável fazer a primeira vacinação aos dois meses de idade, com reforço mensal durante três meses e revacinar a cada ano (GILLESPIE et al., 1958; CORNWELL e THOMPSON, 1982; SCHULTZ, 1998).

Para haver um prognóstico favorável, é preciso que o paciente gere uma resposta imune humoral, já que animais com títulos de anticorpos entre 16 e 64 costumam estar protegidos contra a doença aguda. Se os títulos de anticorpos estiverem abaixo de 16, os cães não têm a proteção necessária (ARNS, 2012). O declínio da imunidade passiva normalmente acontece entre a oitava e décima quarta semana de vida dos filhotes e isto os deixa vulneráveis à doença, levando o paciente a reinfeção (MACLACHLAN e DUBOVI, 2011).

Quanto às suas características físico-químicas, sabe-se que o envelope do vírion possui hemaglutininas, é sensível ao éter e aos solventes lipídicos, instável a pH menor que 4,5 e é inativado pelo calor em 1 hora a 55°C e em 30 minutos a 60°C. Os vírions permanecem viáveis a temperatura de 20°C por uma hora, nos exsudatos por 20 minutos, entre 0-4°C por várias semanas e liofilizados ou a -76°C por sete anos ou mais (GORHAM, 1960; APPEL e GILLESPIE, 1972). Segundo Greene (1984), o vírion é inativado com formol a 0,5% em quatro horas, com fenol a 0,75% em dez minutos e com desinfetantes a base de amônia quaternária a 0,3% em dez minutos. Embora o vírion seja susceptível à radiação ultravioleta, as lâmpadas germicidas têm pouca efetividade no controle da cinomose em hospitais veterinários e canis (MACLACHLAN e DUBOVI, 2011).

Adicionalmente, a desinfecção de instalações como hospitais veterinários, canis e ambientes residenciais é de alta importância para prevenir a propagação da infecção em estes locais (MACLACHLAN E DUBOVI, 2011). A implementação de medidas de segurança por parte de pessoas envolvidas no tratamento e manipulação de cães infectados é fundamental, já que isto ajuda reduzir a transmissão da doença na população canina (ARNS, 2012).

## 2.6 Imunidade

Filhotes de todas as espécies são dependentes da imunidade passivamente adquirida através do colostro. Assim, recém-nascidos normalmente estão em maior risco de desenvolver doenças, e uma vez desenvolvida, estas podem chegar a ser mais severas durante as primeiras semanas ou meses de vida, sendo diferente em filhotes mais velhos, já que eles são animais imunologicamente competentes. No entanto, a idade não só afeta a qualidade da resposta imunitária em animais jovens, mas também tem um impacto sobre a função imunológica em animais muito velhos (SCHULTZ, 1984; SCHULTZ e CONKLIN, 1998; CAMPBELL et al., 2004; HOGENESCH et al., 2004; BLOUNT et al., 2005; GREELEY et al., 2006; DAY, 2007).

A duração da imunidade após a vacinação ou infecção natural é dependente de dois mecanismos principais: (1) a persistência da estimulação da memória nas células B e T no momento da vacinação / infecção e (2) a persistência das células plasmáticas de longo prazo ou de memória efetoras B, que continuam produzindo anticorpo por anos após a estimulação imunológica inicial (SCHULTZ, 1998, 1999a,b; SCHULTZ e CONKLIN, 1998; RIMMELZWAAN e OSTERHAUS, 1997; JANEWAY et al., 2001). Tal resposta imune anti-viral, muitas vezes resulta no desenvolvimento de imunidade estéril e a duração desta imunidade é frequentemente duradoura. Em contraste, a imunidade adaptativa contra bactérias, fungos ou parasitas é desenvolvida mais lentamente e sua duração é normalmente curta comparada com a maioria das infecções virais sistêmicas (SCHULTZ et al., 2006).

Um estudo realizado em ambientes livres de CDV e CPV-2, conseguiram manter os cães sem infecção durante nove anos, assim, a duração mínima imunológica definida por persistência de anticorpos foi estabelecida por este mesmo período para CDV, CAHV-1 e CPV -2 (LARSON e SCHULTZ, 2007), sugerindo que a presença de estimulação antigénica contínua pode não ser necessária para a persistência da memória imunológica ou de anticorpos séricos (SCHULTZ e CONKLIN, 1998; SCHULTZ, 1998, 2006). Deste

modo, fica demonstrado que a imunidade para CDV, CPV-2 e CAdV-1 persiste durante toda a vida após a vacinação, assemelhando-se à persistência de imunidade após infecção natural (SCHULTZ, 2006). Outro estudo realizado com CCoV mostrou que apenas uma vacina experimental de vírus vivo modificado administrada por via oronasal foi capaz de induzir uma proteção completa contra a doença, deixando em dúvida a proteção gerada através da imunidade induzida e a eficácia das vacinas utilizadas atualmente contra este tipo de vírus (PRATELLI et al., 2004).

### **3. OBJETIVOS**

#### **6.1. OBJETIVO GERAL**

Verificar os tipos de vírus presentes em amostras de fezes de cães no Brasil.

#### **6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estabelecer um protocolo de PCR para a identificação de agentes virais DNA (parvovírus e adenovírus) em amostras de fezes caninas de diferentes locais no Brasil.
- Estabelecer um protocolo de PCR e RT – PCR para a identificação de agentes virais RNA (o vírus da cinomose, coronavírus e rotavírus) em amostras de fezes caninas de diferentes locais no Brasil.
- Obter a frequência de infecções víricas por CAdV-1, CCoV, CDV, CPV-2 e CRV no sistema digestivo de caninos.
- Correlacionar analisar os resultados com idade, estado clínico e esquema de vacinação.

#### **4. ARTIGO CIENTÍFICO**

**WHICH ARE THE MOST FREQUENT VIRUS INFECTIONS IN BRAZILIAN  
DOGS?**

Research article – Virus Research

**Which are the most frequent virus infections in Brazilian dogs?**

Oscar Fernando Ortiz Granados

Christian Diniz Beduschi Travassos Alves

Renata da Fontoura Budaszewski

Luciane Dubina Pinto

André Felipe Streck

Cláudio Wageck Canal\*

Laboratório de Virologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil

\*Corresponding author:

Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Laboratório de Virologia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Avenida Bento Gonçalves, 9090

CEP: 91540-000

Porto Alegre - Brazil

Tel.: +55 51 33086926 – Fax: +55 51 33087305

E-mail address: claudio.canal@ufrgs.br

## **Abstract**

The knowledge about the epidemiology of canine enteric viruses is essential to the development of measures to control its spread. In the present study, stool samples from 325 dogs were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) for *carnivore protoparvovirus 1* type-2 (CPV-2), *canine distemper virus* (CDV), *canine mastadenovirus A* type 1 (CAdV-1), *canine rotavirus* (CRV) and *canine coronavirus* (CCoV). The agents most frequently detected in either diarrheic or non-diarrheic dog faeces were CPV-2 (30.7%), CDV (25.1%) and CCoV (16.8%), followed by CRV (4.6%) and CAdV-1 (2.7%). Co-infections were mainly observed between CPV-2 and CDV, with 31 (9.5%) positive samples for both viruses. CPV-2 was also the pathogen most frequently found in animals with enteric symptoms. This findings are concerning and may reflect the low vaccine coverage and the need for improved prophylactic measures for the canine population in Brazil.

## **Keywords**

*Canine; dog; distemper; parvovirus; gastroenteric; epidemiology.*

## **1. Introduction**

Over the past few years, efforts have been made towards a better understanding of the health status of dog populations, particularly regarding viral infections. Currently, the density of domestic animals in urban areas is higher than in recent past, enabling those animals to act as reservoirs of diseases and to transmit to wildlife populations.

Viruses that cause enteric illness in dogs are an important cause of mortality in non-protected populations. Among those, canine distemper caused by *canine distemper virus* (CDV) is a highly contagious disease responsible for cutaneous, gastrointestinal, respiratory, and/or neurological manifestations in a wide range of carnivore hosts (Greene and Vandeveld, 2012). Canine parvovirus infection, caused by *carnivore protoparvovirus 1* type-2 (CPV-2), is responsible for severe hemorrhagic gastroenteritis and myocarditis in dogs (Truyen, 2006). *Canine Mastadenovirus type-1* (CAAdV-1) is the agent of infectious canine hepatitis that includes signs such as vomiting and diarrhea (Decaro et al., 2008). *Canine coronavirus* (CCoV) causes a mild to moderate enteritis in dogs and its infection is characterized by enteric signs that result in high morbidity and low mortality. In recent years, an increasing number of reports of infections by highly virulent CCoV have been documented, mostly based on the called “pantropic” CCoV (or type IIa). This genotype cause fatal multi-systemic illness, with various clinical signs as high fever, hemorrhagic gastroenteritis, neurological disorders, and lymphopenia (Licitra et al., 2014). Finally, *canine rotavirus* (CRV) is a highly contagious enteric pathogen that, recently, acquired importance for the possibility to cross the species barriers and infect humans (Luchs et al., 2012).

Since no effective drugs against these agents are available, vaccination is the main method of protection and prevention of the spread of these viruses in the dog population (Truyen, 2006; Decaro et al., 2008). Despite that the occurrence of these viruses was significantly reduced in domestic dog populations from developed countries due to vaccination, in Brazil most of these diseases are endemic and still a major cause of mortality. This is

probably a result of the large dog population and low vaccine coverage in the country (Gizzi et al., 2014). The aim of this study was to detect the main species of virus (CPV-2, CAAdV-1, CRV, CCoV and CDV) that infect dogs with and without clinical signs of diarrhea in Brazil.

## **2. Material and methods**

### **2. 1. Samples**

A total of 325 faecal samples from dogs were collected between 2008–2014 in veterinary clinics and veterinary hospitals. These samples originally came from eight Federal States of Brazil (Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul, Rondônia, Acre). The age of the animals ranged from puppies < 1 year old) to adult dogs (> 1 year old), including some samples from dogs of unknown age (supplementary Table 1). The clinical signs were recorded during the clinical examination performed by veterinarians in the time of sampling. Animals not presenting gastroenteric signs were classified as presenting other signs or asymptomatic, however no clinical data of the dogs after sampling was available.

Samples were diluted to 20% (w/v) in phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  for further analysis. The commercial vaccine Recombitek® (Merial, USA), RotaTeq (MSD, USA) and Vanguard Plus ® (Pfizer, USA) were used as positive controls and ultrapure water as negative control.

### **2.2 DNA/RNA extraction and reverse transcription**



DNA was extracted from the supernatant using a commercial kit (Simbios Biotecnologia, Brazil) based on guanidine isothiocyanate and silica (Boom et al., 1990). RNA was obtained from the supernatant using TRIzol® LS Reagent (Life Technologies, USA), according to the manufacturer's instructions. The cDNA was synthesized with SuperScript®III Reverse Transcriptase Kit (Life Technologies, USA) using the reverse primers in a total volume of 20 µL following the manufacturer's recommendations.

### **2.3 Polimerase chain reation**

For the detection of CPV-2, CCoV, CRV and CAdV-1, the amplification of cDNA or DNA by PCR was conducted in a total volume of 25 µL containing 1 x PCR buffer, 50 mM of MgCl<sub>2</sub>, 2.5 mM of dNTP mix, 20 pmol/µL of each primer pair and 1 unit of *Taq* DNA Polymerase (Ludwig Biotecnologia, Brazil). For CDV detection, one-step RT-PCR for the amplification of a fragment of the N gene was performed followed by nested PCR to amplify an internal fragment. The primer pairs used, the target genes and the literature reference used for detection of CDV, CPV-2, CCoV, CRV and CAdV-1 are described in Table 1. The PCR products were electrophoresed in 2% agarose gels visualized under UV light and compared with a 100 bp molecular weight ladder (Ludwig Biotecnologia, Brazil).

## **3. Results**

Enteric viruses were identified in 184 out of the 325 samples (56.6%) (diarrheic or not), being 68 of them (68/184, 36.9%) positive for more than one viral agent. Single infections were observed in the majority of the positive samples (116/325, 35.7%), with CPV-2 being the most commonly detected virus (100/325, 30.7%), followed by CDV (83/325, 25.5%), CCoV (56/325, 17.2%), CRV (15/325, 4.6%) and CAdV-1 (9/325, 2.7%) (Table 2). Infections with two or more viruses were observed in 68/325 samples (20.9%). Among the co-infected samples,

dual infections were most predominant (59/325, 18.1%), although triple (7/325, 2.1%) and quadruple infections (2/325, 0.6%) were also found. The most predominant viruses involved in co-infections were CDV and CPV-2, with 50/325 (15.4%) and 49/325 (15.0%), respectively, followed by CCoV (33/325, 10.1%), CRV (10/325, 3.0%) and CAdV-1 (5/325, 1.5%). The most frequently found association was CDV and CPV-2 with 31/325 positive samples (9.5%) (Table 2).

Regarding the clinical status of the dogs which samples were positive for virus RNA/DNA, 50/92 (54.3%) displayed clinical signs suggestive of enteric illness the time of sampling, 5/92 (5.4%) displayed other clinical signs and 37/92 (40.2%) were asymptomatic. The virus detection compared with the animal clinical status showed that CCoV was predominant in samples from asymptomatic dogs (20/37, 54%), followed by CDV (18/37, 48.6%), CPV-2 (10/37, 27%), CRV (1/37, 2.7%) and CAdV-1 (1/37, 2.7%). In counterpart, CPV-2 was the most observed virus in animals presenting enteric disorders (35/50, 70%) followed by CDV (27/50, 50%), CCoV (11/50, 22%) and CRV (2/50, 4%). No animal displaying enteric signs was positive for CAdV-1 (Figure 1).

Among the positive samples, a higher detection rate was observed in dogs from around 60 days-old and around 90 days-old, with 30/117 (25.6%), 25.6% (30/117) and 25/117 (21.4%), respectively (Figure 2). In regard of the vaccination status, only five of the positive dogs (5/57, 8.8%) had received more than one dose of vaccine, nineteen (33.3%) had an incomplete protocol and 33 were unvaccinated (57.9%). In those positive five samples with complete vaccination schemes, CPV-2 was detected in all samples (100%) and CRV in only one (20%) (Figure 3). Including incomplete protocols, CPV-2 was the most detected virus 18/24 (75%), followed by CCoV (12/24, 50%), CDV (7/24, 29.1%) and CRV (1/24, 4.1%).

It is important to considerer that for the sampled animals, data about age, clinical and vaccination status was not available for 208/325, 168/325 and 200/325 of the samples, respectively.

#### **4. Discussion**

This study describes for the first time, the shedding of five common enteric canine viruses, CPV-2, CDV, CCoV, CRV and CAdV-1 in Brazil. Our results suggest that puppies about two months old are the most susceptible, which increase the importance of the complete vaccination protocol and the prophylactic measures. The results agree with previous studies of morbillivirus and parvovirus in Brazil, observing a positive detection rate around 30% to CPV-2 (Pinto et al., 2012) and 10-40% for CDV (Budaszewski et al., 2014; Gizzi et al., 2014). This high detection rate for both CPV-2 and CDV, irrespective of the sampled geographical region, suggest that these two viruses are predominant and widespread in Brazil.

The high prevalence of CDV could be due to several factors: high number of stray and non-vaccinated dogs; low temperature-stability of the virus affecting vaccine efficiency; large number of wild-life animals susceptible to CDV-infection and acting as reservoirs, possibly in close contact with domiciliated dogs; and the higher amino acid dissimilarity of southern brazilian strains when compared with the vaccine lineage (America 1) (Negrão et al., 2013; Budaszewski et al., 2014).

For CPV-2, viral transmission and spread can occur easily, without direct contact between animals. The virus is shed at high titers in faeces and the excretion period may last longer, allowing a higher opportunity for contact between the virus and the new hosts. Even though most of the positive dogs showed signs of diarrhea, recovered animals may also serve as asymptomatic reservoirs and shed virus periodically, contributing for the persistence and

continuous circulation of CPV-2 in the environment. Furthermore, CPV-2 vaccines consist of live attenuated virus (CPV-2 and CPV-2b) and protection against novel CPV-2 strains is still controversial (Truyen, 2006). In Brazil, studies demonstrated that CPV-2c recently emerged and is now the main type circulating in the last years, affecting puppies either with or without a complete vaccination protocol (Streck et al., 2009; Pinto et al., 2012). An incomplete vaccine protection could explain how CPV-2 was observed in five vaccinated animals. For those viruses, the fact that in Brazil the vaccination schedules are often neglected could have an important effect for genetic drift of viruses, causing outbreaks even in urban vaccinated canine populations.

In developed countries as consequence of the adopted vaccination programs, CAdV-1, CRV and CCoV infections have been satisfactorily controlled in the past years. Concerns come only with the introduction of infected dogs from endemic areas, in which these viruses can be widespread as a result of the lack of systematic canine immunization (Decaro et al., 2008; Decaro et al., 2013). Here, the detection rate of CAdV-1, CRV and CCoV was lower than CDV and CPV-2, but higher than previous studies.

The percentage of positive samples for CRV (4.6%) was even higher than reported in previous studies in Japan and United States (Mochizuki et al., 2001; Tupler et al., 2012). Compared to other viral agents this incidence is low; however, animals may serve as reservoirs for human rotavirus, nowadays similar strains to the one strains originally detected in bovine, swine and even dog were identified in children suffering from enteric illness. For this reason, even the small amount of positive animals presented here are concerning (Araújo et al., 2007; Bányai et al., 2009; Wu et al., 2012). For CCoV, virulent strains were sporadically reported in the last years in Brazil and worldwide (Decaro et al., 2013; Pinto et al., 2014). The novel “pantropic” CCoV may cause the direct death of the infected animal and is frequently associated with systemic signs. In the present study, CCoV was the virus with higher incidence in

asymptomatic dogs (24.4%) and this has a notable decrease in dog presenting enteric signs (15.3%). This indicates that these CCoV strains that are present in asymptomatic animals were not “pantropic” CCoV and probably possess commensal characteristic.

Finally, for CAdV, only CAdV-1 was detected in samples from faeces. This was expected, since despite the antigenic and genetic relatedness (Morrison et al., 1997; Davison et al., 2003), CAdV-1 presents tropism for the vascular endothelial cells and hepatic and renal parenchymal cells, whereas, CAdV-2 replicates better in the respiratory tract (Decaro et al., 2008). Curiously, here all the positive CAdV-1 samples were only sampled from healthy dogs, indicating commensal characteristics.

Nowadays, with access to the next generation sequencers became clear that many enteric viruses, bacteria and parasites are simultaneously present and can probably contribute to disease, individually or in combination. It is also known that pathogens acting mutually may cause more severe symptoms than infections without pathogens synergy (Murray et al., 2014). In this study, we could not observe a direct relation of clinical sign with or without co-infections. The higher prevalence between two viruses was observed with CDV and CPV-2. There are several reports of co-infections with the participation of CDV and CPV-2 in dogs (Taguchi et al., 2011; Tupler et al., 2012) and, here, these viruses were observed in concomitant infections with CCoV, CAdV-1 and CRV. Probably, the immunodepressive effects of associated viruses with the underdeveloped immune system of the young animals would have facilitated the simultaneous occurrence and maintenance of these infectious disease agents. It is important to considerer that other infectious or non-infectious causes were not evaluated and the final cause–effect between the presence of an organism and the occurrence of diarrhea cannot be confirmed. However, all the viruses evaluated here have been described as causing diarrhea in experimental studies or were isolated in severe enteric outbreaks; thus the knowledge of their occurrence is important despite their role as primary agents.

In conclusion, the results of the present study demonstrate that CPV-2, CDV and CCoV are the main pathogenic enteric viruses that circulated in Brazil between the years 2008 and 2014, infecting more frequently puppies about two months old and may display co-infection interaction with a high prevalence of viral infections in population of dogs. These results highlight the need of more research to improve the strategies used in the treatment, control and prevention.

### **Acknowledgements**

We are thankful to Simbios Biotecnologia Ltda. for kindly supplying the DNA extraction kits, and thank the veterinarians who collected the samples. Financial support was provided by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/Brazil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível (CAPES/Brazil), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and Propesq/UFRGS.

### **References**

- Araújo, I.T., Heinemann, M.B., Mascarenhas, J.D., Assis, R.M., Fialho, A.M., Leite, J.P., 2007. Molecular analysis of the NSP4 and VP6 genes of rotavirus strains recovered from hospitalized children in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Med. Microbiol.* 56, 854-859.
- Bányai, K., Bogdán, A., Domonkos, G., Kisfali, P., Molnár, P., Tóth, A., Melegh, B., Martella, V., Gentsch, J.R., Szucs, G., 2009. Genetic diversity and zoonotic potential of human rotavirus strains, 2003–2006, Hungary. *J. Med. Virol.* 81, 362-370.

Boom, R., Sol, C.J.A., Salimans, M.M.M., Jansen, C.L., Wertheim-Van Dillen, P.M.E., Van Der Noordaa, J., 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* 28, 495-503.

Budaszewski, R.F., Pinto, L.D., Weber, M.N., Caldart, E.T., Alves, C.D., Martella, V., Ikuta, N., Lunge, V.R., Canal, C.W., 2014. Genotyping of canine distemper virus strains circulating in Brazil from 2008 to 2012. *Virus Res.* 180, 76-83.

Buonavoglia, C., Martella, V., Pratelli, A., Tempesta, M., Cavalli, A., Buonavoglia, D., Bozzo, G., Elia, G., Decaro, N., Carmichael, L., 2001. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *J. Gen. Virol.* 82, 3021–3025.

Castilho, J.G., Brandão, P.E., Carnieli Jr., P., Oliveira, R.N., Macedo, C.I., Peixoto, Z.M.P., Carrieri, M.L., Kotait, I., 2007. Molecular analysis of the N gene of canine distemper virus in dogs in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59, 654-659.

Davison, A.J., Benko, M., Harrach, B., 2003. Genetic content and evolution of adenoviruses. *J. Gen. Virol.* 84, 2895-2908.

Decaro, N., Cordonnier, N., Demeter, Z., Egberink, H., Elia, G., Grellet, A., Poder, S., Mari, V., Martella, V., Ntafis, V., Reitzenstein, M., Rottier, P.J., Rusvai, M., Shields, S., Xylouri, E., Xu Z., Buonavoglia, C., 2013. European surveillance for pantropic canine coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 51, 83-88.

Decaro, N., Martella, V., Buonavoglia, C., 2008. Canine Adenoviruses and Herpesvirus. *Vet. Clin. Small Anim.* 38, 799-814.

Frisk, A.L., König, M., Moritz, A., Baumgärtner, W., 1999. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. *J. Clin. Microbiol.* 37, 3634-3643.

Gizzi, A.B., Oliveira, S.T., Leutenegger, C.M., Estrada, M., Kozemjak, D.A., Stedile, R., Marcondes, M., Biondo, A.W., 2014. Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Vet. Res.* 10, 23.

Gouvea, V., Glass, R.I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H.F., Forrester, B., Fang, Z.Y., 1990. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 28, 276-282.

Greene, C.E., Vandeveld, M., 2012. Canine distemper, in: Greene, C.E. (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. Elsevier, 4th ed., St. Louis, pp. 25-42.

Herrewegh, A.A., Smeenk, I., Horzinek, M.C., Rottier, P.J., de Groot, R.J., 1998. Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. *J. Virol.* 72, 4508-4514.

Licitra, B.N., Duhamel, G.E., Whittaker, G.R. Canine enteric coronaviruses: emerging viral pathogens with distinct recombinant spike proteins. *Viruses.* 6, 3363-3376, 2014.

Linné, T., 1992. Differences in the E3 regions of the canine adenovirus type 1 and type 2. *Virus Res.* 23, 119-133.

Luchs, A., Cilli, A., Morillo, S.G., Carmona, R. de C., Timenetsky, M. do C. Rare G3P[3] rotavirus strain detected in Brazil: possible human-canine interspecies transmission. *J Clin Virol.* 54,89-92, 2012.

Martella, V., Cirone, F., Elia, G., Lorusso, E., Decaro, N., Campolo, M., Desario, C., Lucente, M.S., Bellacicco, A.L., Blixenkron-Møller, M., Carmichael, L.E., Buonavoglia, C., 2006. Heterogeneity within the hemagglutinin genes of canine distemper virus (CDV) strains detected in Italy. *Vet. Microbiol.* 116, 301-309.



- Mochizuki, M., Hashimoto, M., Ishida, T., 2001. Recent epidemiological status of canine viral enteric infections and Giardia infection in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 63, 573-575.
- Morrison, M.D., Onions, D.E., Nicolson, L., 1997. Complete DNA sequence of canine adenovirus type 1. *J. Gen. Virol.* 78, 873-878.
- Murray, J.L., Connell, J.L., Stacy, A., Turner, K.H., Whiteley, M., 2014. Mechanisms of synergy in polymicrobial infections. *J. Microbiol.* 52, 188-199.
- Negrão, F.J., Gardinali, N.R., Headley, S.A., Alfieri, A.A., Fernandez, M.A., Alfieri, A.F., 2013. Phylogenetic analyses of the hemagglutinin gene of wild-type strains of canine distemper virus in southern Brazil. *Genet. Mol. Res.* 12, 2549-2555.
- Parrish, C.R., Holmes, E.C., Morens, D.M., Park, E.C., Burke, D.S., Calisher, C.H., Laughlin, C.A., Saif, L.J., Daszak, P., 2008. Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiol. Mol. Biol. R.* 72, 457-470.
- Pinto, L.D., Streck, A.F., Gonçalves, K.R., Souza, C.K., Corbellini, A.O., Corbellini, L.G., Canal, C.W., 2012. Typing of canine parvovirus strains circulating in Brazil between 2008 and 2010. *Virus Res.* 165, 29-33.
- Pinto, L. D., Barros, N. I., Budaszewki, F. R., Weber, N. M., Mata, H., Antunes, R. J., Boabaid, M. F., Wouters, T. B. A., Driemeier, D., Brandão, E. P. Canal, C. W. 2014. Characterization of pantropic canine corona virus from Brazil. *The Veterinary Journal.* 202, 659-662.
- Pratelli, A., Martella, V., Elia, G., Tempesta, M., Guarda, F., Capucchio, M.T., Carmichael, L.E., Buonavoglia, C., 2001. Severe enteric disease in an animal shelter associated with dual infections by canine adenovirus type 1 and canine coronavirus. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* 48, 385-392.

Streck, A.F., Souza, C.K., Gonçalves, K.R., Zang, L., Pinto, L.D., Canal, C.W., 2009. First detection of canine parvovirus type 2c in Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 40, 465-469.

Taguchi, M., Namikawa, K., Maruo, T., Orito, K., Lynch, J., Sahara, H., 2011. Antibody titers for canine parvovirus type-2, canine distemper virus, and canine adenovirus type-1 in adult household dogs. *Can. Vet. J.* 52, 983-986.

Truyen, U., 2006. Evolution of canine parvovirus—A need for new vaccines? *Vet. Microbiol.* 117, 9-13.

Tupler, T., Levy, J.K., Sabshin, S.J., Tucker, S.J., Greiner, E.C., Leutenegger, C.M., 2012. Enteropathogens identified in dogs entering a Florida animal shelter with normal feces or diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 241, 338-343.

Woma, T.Y., van Vuuren, M., Bosman, A.M., Quan, M., Oosthuizen, M., 2010. Phylogenetic analysis of the haemagglutinin gene of current wild-type canine distemper viruses from South Africa: lineage Africa. *Vet Microbiol.* 143, 126-132.

Table 1. Nucleotide sequence of the primers used in the PCR reactions and their targets and literature references.

<b>PRIMER</b>	<b>SEQUENCE (5' - 3')</b>	<b>Virus</b>	<b>Target</b>	<b>Reference</b>
CPV 555 F	CAGGAAGATATCCAGAAG	CPV-2	VP2	Bounaglovia et al., 2001
CPV 555 R	GGTGCTAGTTGATATGTA			
HA1	CGCGCTGAACATTACTACCTTGTC	CAdV- 1	E3	Linné et al., 1992
HA2	CCTAGAGCACTTCGTGTCCGCTT			
CCoV 1F	TCCAGATATGTAATGTTCGG	CCoV	M	Herrewegh et al., 1998
CCoV 2R	TCTGTTGAGTAATCACCAGCT			
BEG 9F	GGCTTTAAAAGAGAGAAT TTCCGTCTGG	CRV	VP7	Gouvea et al., 1990
END 9R	GGTCACATCATAACAATTCTAATCTAAG			
CDV 1F	ACTGCTCCTGATACTGC	CDV	N	Castilho et al., 2007
CDV 2R	TTCAACACCRACYCCC			
CDV 3F	ACAGRATTGCYGAGGACYTRT	CDV	N	Frisk et al., 1999
CDV 4R	CARRATAACCATGTAYGGTGC			

Table 2. Individual infectious agents detected by PCR and its co-infection.

	<b>CDV</b>	<b>CPV-2</b>	<b>CCoV</b>	<b>CRV</b>	<b>CAdV-1</b>
Single	82 (25.1%)	100 (30.7%)	55 (16.8%)	15 (4.6%)	9 (2.7%)
<b>Co-infection</b>					
Dual	CDV – CPV-2				31 (9.5%)
	CDV – CCoV				8 (2.4%)
	CPV-2 – CCoV				7 (2.1%)
	CCoV – CRV				2 (0.6%)
	CDV – CAdV-1				1 (0.3%)
Triple	CDV – CPV-2 – CCoV			3 (0.9%)	
	CDV – CCoV – CRV			2 (0.6%)	
	CPV-2 – CCoV – CRV			2 (0.6%)	
Quad	CDV – CPV-2 – CCoV – CRV			2 (0.6%)	

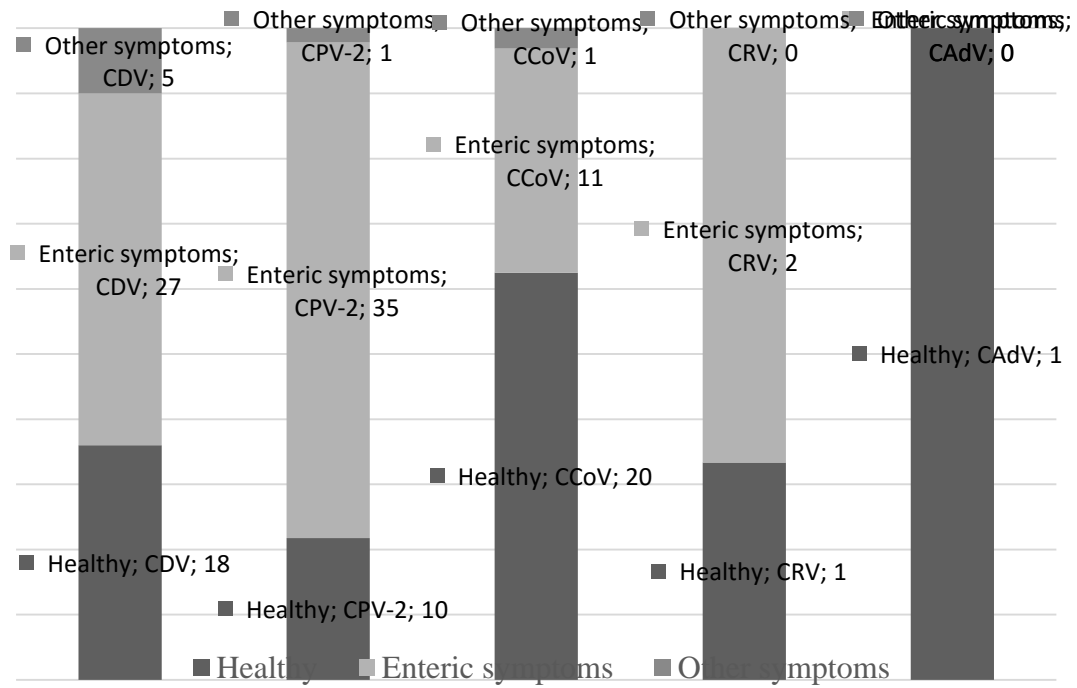


Figure 1. Percentage distribution of PCR positive dogs according their clinical status in the moment of sampling.

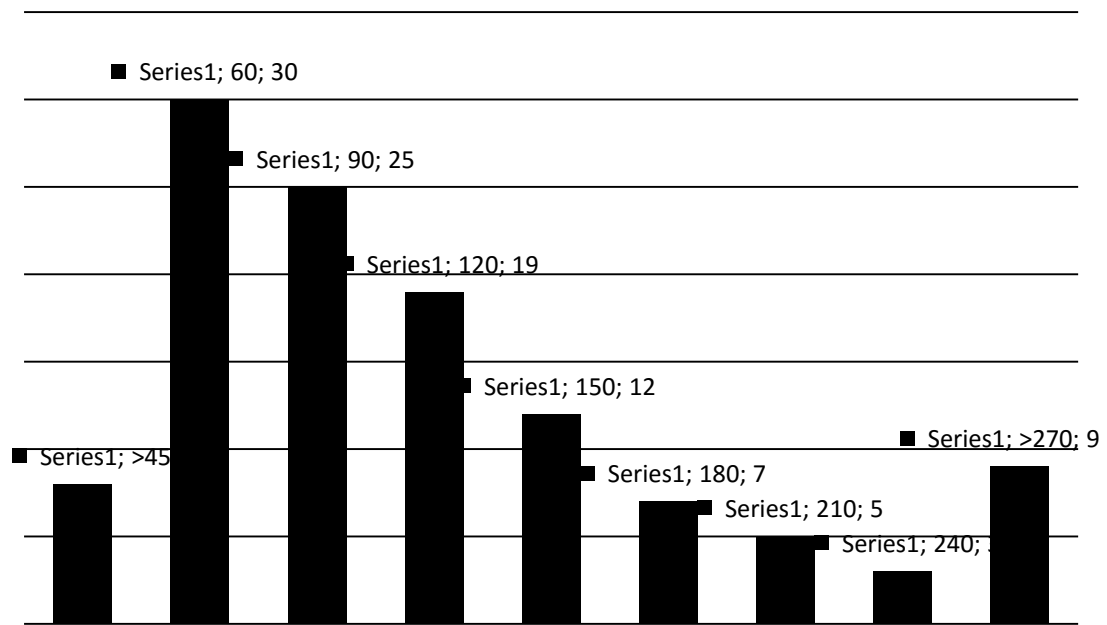


Figure 2. Number of PCR positive dogs according their age (estimative in days) in the moment of sampling.

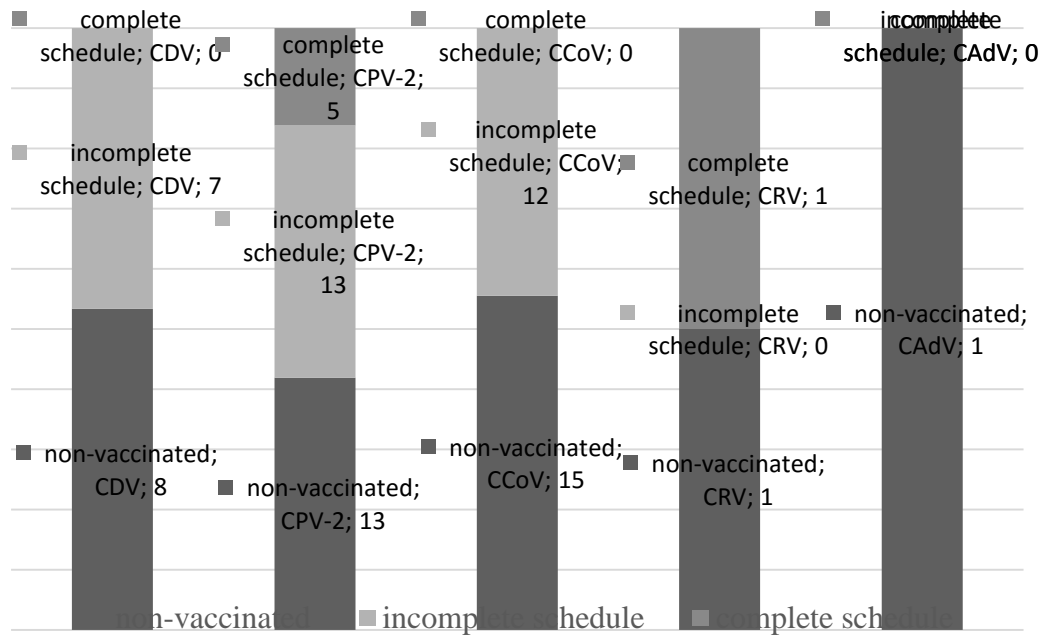


Figure 3. Percentage distribution of PCR positive dogs according their vaccination status in the moment of sampling.

**Supplementary Table 1.** Date of sampling, origin, age, genre, clinical status, vaccination status and PCR result for the collected dogs.

Date of sampling	Origin (municipality)	Age	Genre	Clinical signs	Vaccination	CDV	CPV-2	CCoV	CRV	CAvV-1
NA	Londrina – PR	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
NA	Londrina – PR	NA	NA	NA	NA	+	+	-	-	-
NA	Londrina – PR	NA	female	NA	NA	-	+	-	-	-
NA	Londrina – PR	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
NA	Londrina – PR	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
01/02/2008	Passo Fundo – RS	50 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
06/06/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	NA	+	-	-	-	-
06/06/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	+	-	-
06/06/2008	Porto Alegre – RS	60 days	male	enteric sign	NA	+	-	+	-	-
06/06/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
06/06/2008	Porto Alegre – RS	60 days	male	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
20/06/2008	Porto Alegre – RS	120 days	female	enteric sign	unvaccinated	+	+	-	-	-
20/06/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
20/06/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	NA	+	-	-	-	-
10/07/2008	Porto Alegre – RS	60 days	male	enteric sign	incomplete protocol	-	+	+	-	-



11/07/2008	Porto Alegre – RS	90 days	male	enteric sign	incomplete protocol	+	-	-	-	-
15/07/2008	Porto Alegre – RS	180 days	male	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
15/07/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	incomplete protocol	-	+	-	-	-
15/07/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
15/07/2008	Porto Alegre – RS	60 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	+	-	-	-
22/07/2008	Porto Alegre – RS	150 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	+	-	-	-
23/07/2008	Porto Alegre – RS	90 days	female	enteric sign	incomplete protocol	-	+	+	-	-
23/07/2008	Porto Alegre – RS	90 days	male	enteric sign	NA	+	-	-	-	-
23/07/2008	Porto Alegre – RS	120 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
23/07/2008	Porto Alegre – RS	30 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
23/07/2008	Porto Alegre – RS	150 days	female	enteric sign	incomplete protocol	-	-	-	-	-
27/08/2008	Passo Fundo – RS	120 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	+	+	-	-
02/09/2008	Passo Fundo – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
02/09/2008	Passo Fundo – RS	270 days	female	asymptomatic	NA	+	-	-	-	-
02/09/2008	Passo Fundo – RS	150 days	male	asymptomatic	NA	+	+	-	-	-
03/09/2008	Passo Fundo – RS	120 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	+	-	-	-
03/09/2008	Passo Fundo – RS	90 days	male	asymptomatic	NA	+	+	-	-	-
03/09/2008	Passo Fundo – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	+	-	-	-

10/09/2008	Passo Fundo – RS	360 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	90 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	+	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	90 days	male	enteric sign	NA	+	-	-	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	90 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	120 days	male	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	180 days	male	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	120 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	+	-	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	180 days	male	enteric sign	NA	+	-	-	-	-
10/09/2008	Passo Fundo – RS	NA	NA	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
30/09/2008	Porto Alegre – RS	60 days	male	asymptomatic	incomplete protocol	+	+	-	-	-
27/11/2008	Caxias do Sul – RS	180 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
27/11/2008	Caxias do Sul – RS	120 days	female	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
27/11/2008	Caxias do Sul – RS	180 days	male	asymptomatic	unvaccinated	+	-	-	-	-
27/11/2008	Caxias do Sul – RS	120 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
27/11/2008	Caxias do Sul – RS	120 days	female	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
27/11/2008	Caxias do Sul – RS	60 days	female	asymptomatic	incomplete protocol	-	-	-	-	-
27/11/2008	Caxias do Sul – RS	120 days	female	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
11/12/2008	Niterói – RJ	120 days	female	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-

11/12/2008	Niterói – RJ	270 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
11/12/2008	Niterói – RJ	240 days	male	asymptomatic	unvaccinated	+	-	-	-	-
11/12/2008	Niterói – RJ	240 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
06/01/2009	Caxias do Sul – RS	150 days	male	asymptomatic	unvaccinated	+	-	+	-	-
06/01/2009	Caxias do Sul – RS	150 days	male	asymptomatic	unvaccinated	+	-	+	-	-
06/01/2009	Caxias do Sul – RS	150 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
06/01/2009	Caxias do Sul – RS	60 days	female	asymptomatic	incomplete protocol	+	-	+	-	-
15/01/2009	Porto Alegre – RS	90 days	male	enteric sign	complete protocol	-	+	-	-	-
20/01/2009	Porto Alegre – RS	60 days	male	enteric sign	incomplete protocol	-	-	-	-	-
29/01/2009	Bagé – RS	90 days	female	asymptomatic	NA	+	-	+	-	-
29/01/2009	Bagé – RS	90 days	female	asymptomatic	NA	+	-	+	-	-
29/01/2009	Bagé – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
29/01/2009	Bagé – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	+	-	-	-
29/01/2009	Bagé – RS	90 days	female	asymptomatic	NA	+	-	+	-	-
29/01/2009	Bagé – RS	360 days	male	asymptomatic	NA	+	+	-	-	-
20/02/2009	Florianópolis – SC	60 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	+
20/02/2009	Florianópolis – SC	150 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
20/02/2009	Florianópolis – SC	180 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-

20/02/2009	Florianópolis – SC	90 days	female	enteric sign	incomplete protocol	-	+	-	-	-
06/03/2009	Viamão – RS	45 Days	male	enteric sign	NA	+	+	-	+	-
06/03/2009	Viamão – RS	45 Days	female	enteric sign	unvaccinated	-	+	-	-	-
16/03/2009	Florianópolis – SC	3600 days	male	enteric sign	complete protocol	-	-	-	-	-
16/03/2009	Florianópolis – SC	60 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	+	-	-	-
16/04/2009	Concórdia – SC	50 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
16/04/2009	Concórdia – SC	45 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
16/04/2009	Concórdia – SC	45 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
16/04/2009	Concórdia – SC	45 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
16/04/2009	Concórdia – SC	45 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
16/04/2009	Viamão – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	90 days	male	enteric sign	incomplete protocol	-	+	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	90 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	120 days	female	enteric sign	complete protocol	-	+	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	60 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	150 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	+	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	120 days	male	enteric sign	complete protocol	-	+	-	+	-
18/05/2009	Londrina – PR	120 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-

18/05/2009	Londrina – PR	90 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	270 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	60 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	180 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
18/05/2009	Londrina – PR	120 days	male	enteric sign	complete protocol	-	+	-	-	-
07/06/2009	Taquara – RS	60 days	female	enteric sign	incomplete protocol	-	+	-	-	-
09/06/2009	Cachoeirinha – RS	60 days	male	asymptomatic	incomplete protocol	-	-	-	-	-
09/06/2009	Cachoeirinha – RS	60 days	male	asymptomatic	incomplete protocol	-	-	-	-	-
09/06/2009	Cachoeirinha – RS	360 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
09/06/2009	Cachoeirinha – RS	150 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
09/06/2009	Cachoeirinha – RS	20 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
16/06/2009	Novo Hamburgo- RS	60 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
25/06/2009	Canoas – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
25/06/2009	Canoas – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
25/06/2009	Canoas – RS	120 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
25/06/2009	Canoas – RS	60 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	+	+	-	-
04/09/2009	Florianópolis – SC	300 days	male	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
25/09/2009	Viamão - RS	45 Days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-

25/09/2009	Viamão – RS	45 Days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
25/09/2009	Viamão – RS	45 Days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
09/10/2009	Gravataí – RS	210 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
09/10/2009	Gravataí – RS	360 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
09/10/2009	Gravataí – RS	210 days	male	asymptomatic	NA	+	-	-	-	-
09/10/2009	Gravataí – RS	1800 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
15/10/2009	Porto Alegre – RS	60 days	male	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
20/11/2009	Cachoeirinha – RS	60 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
20/11/2009	Cachoeirinha – RS	180 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
20/11/2009	Cachoeirinha – RS	180 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
20/11/2009	Cachoeirinha – RS	120 days	male	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
20/11/2009	Cachoeirinha – RS	150 days	male	enteric sign	unvaccinated	+	-	-	-	-
25/11/2009	S. F de Paula – RS	120 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
25/11/2009	S. F de Paula – RS	120 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
25/11/2009	S. F de Paula – RS	120 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
01/12/2009	Rio Pardo – RS	60 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
01/12/2009	Rio Pardo – RS	60 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
01/12/2009	Rio Pardo – RS	60 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-

01/12/2009	Rio Pardo – RS	60 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
07/12/2009	Glorinha – RS	120 days	male	asymptomatic	NA	+	-	-	-	-
22/12/2009	São Paulo – SP	360 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
22/12/2009	São Paulo – SP	360 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
22/12/2009	São Paulo – SP	270 days	male	asymptomatic	complete protocol	-	-	-	-	-
22/12/2009	São Paulo – SP	210 days	male	NA	NA	-	-	-	-	-
22/12/2009	São Paulo – SP	120 days	female	NA	complete protocol	-	-	-	-	-
31/12/2009	S. do Livramento – RS	90 days	female	asymptomatic	incomplete protocol	-	-	+	-	-
31/12/2009	S. do Livramento – RS	60 days	female	asymptomatic	incomplete protocol	-	+	+	-	-
31/12/2009	S. do Livramento – RS	30 days	female	asymptomatic	incomplete protocol	-	-	+	-	-
31/12/2009	S. do Livramento – RS	60 days	male	enteric sign	incomplete protocol	+	+	+	-	-
04/01/2010	Bagé – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
04/01/2010	Bagé – RS	120 days	male	asymptomatic	NA	+	-	-	-	-
04/01/2010	Bagé – RS	120 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
04/01/2010	Bagé – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
04/01/2010	Bagé – RS	150 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
04/01/2010	Bagé – RS	150 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
07/01/2010	Porto Alegre – RS	120 days	male	enteric sign	complete protocol	-	+	-	-	-

09/03/2010	Gravataí – RS	150 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
09/03/2010	Gravataí – RS	150 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
09/03/2010	Porto Alegre – RS	60 days	male	asymptomatic	NA	+	-	-	-	-
09/03/2010	Porto Alegre – RS	60 days	male	asymptomatic	incomplete protocol	-	+	+	-	-
09/03/2010	Porto Alegre – RS	60 days	male	enteric sign	NA	+	+	-	-	-
09/03/2010	Porto Alegre – RS	120 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	+	-	-	-
06/04/2010	Lavras do Sul – RS	90 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
06/04/2010	Lavras do Sul – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	-	-
06/04/2010	Lavras do Sul – RS	90 days	female	asymptomatic	unvaccinated	-	-	-	+	-
05/07/2010	Ji-Paraná – RO	240 days	male	asymptomatic	unvaccinated	-	-	+	-	-
05/07/2010	Ji-Paraná – RO	180 days	male	enteric sign	incomplete protocol	-	+	+	-	-
05/07/2010	Ji-Paraná – RO	720 days	female	enteric sign	unvaccinated	-	-	-	-	-
02/08/2010	Porto Alegre – RS	30 days	male	enteric sign	incomplete protocol	-	+	+	-	-
02/08/2010	Porto Alegre – RS	75 days	female	enteric sign	incomplete protocol	+	+	+	-	-
03/10/2011	Gravataí – RS	10 days	male	asymptomatic	unvaccinated	+	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	210 days	male	NA	NA	+	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	120 days	female	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	180 days	female	NA	NA	+	-	-	-	-



12/12/2011	Maringá – PR	120 days	female	NA	NA	+	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	210 days	female	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	90 days	male	NA	NA	+	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	+	-	-	-	+
12/12/2011	Maringá – PR	360 days	male	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	60 days	female	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	60 days	female	NA	NA	-	-	+	+	-
12/12/2011	Maringá – PR	70 days	female	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	60 days	male	NA	NA	+	+	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	630 days	male	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	120 days	male	NA	NA	+	+	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	210 days	male	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	NA	female	NA	NA	+	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	65 days	female	NA	NA	-	-	-	-	-
12/12/2011	Maringá – PR	NA	male	NA	NA	-	-	-	-	-
19/12/2011	Pelotas – RS	NA	NA	NA	NA	+	+	-	-	-
19/12/2011	Pelotas – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-

15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	+
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
15/02/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
15/02/2012	Santa Maria – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
02/04/2012	Cuiabá – MT	120	female	NA	NA	+	+	-	-	-
03/04/2012	Cuiabá – MT	90	male	NA	NA	+	+	-	-	-
05/04/2012	Cuiabá – MT	480	female	NA	NA	+	+	-	-	-
12/04/2012	Cuiabá – MT	24	female	NA	NA	+	+	-	-	-
14/04/2012	Cuiabá – MT	150	female	NA	NA	-	+	-	-	-
17/04/2012	Cuiabá – MT	24	male	NA	NA	-	+	-	-	-



26/04/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	-	+	-
26/04/2012	Maringá – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	-	+	-
28/04/2012	Londrina – PR	720 days	male	enteric sign	NA	+	-	-	-	-
29/04/2012	Londrina – PR	720 days	female	enteric sign	incomplete protocol	+	-	+	-	-
29/04/2012	Londrina – PR	adulta	female	enteric sign	NA	+	-	-	-	-
30/04/2012	Londrina – PR	720 days	male	other signs	NA	+	-	-	-	-
09/05/2012	Cambé – PR	adulto	male	other signs	NA	+	-	+	-	-
09/05/2012	Cambé – PR	adulta	female	other signs	NA	+	+	-	-	-
09/05/2012	Cambé – PR	120 days	male	other signs	NA	+	-	-	-	-
10/05/2012	Cuiabá – MT	120	female	NA	NA	-	+	-	-	-
11/05/2012	Cuiabá – MT	60	female	NA	NA	-	-	-	-	-
11/05/2012	Cuiabá – MT	60	female	NA	NA	-	+	-	-	-
12/05/2012	Cuiabá – MT	90	female	NA	NA	-	+	-	-	-
14/05/2012	Cuiabá – MT	210	female	NA	NA	-	+	-	-	-
15/05/2012	Tamarana – PR	150 days	male	enteric sign	unvaccinated	+	-	-	-	-
15/05/2012	Londrina – PR	540 days	female	other signs	incomplete protocol	+	-	-	-	-
22/05/2012	Londrina – PR	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
25/05/2012	Cuiabá – MT	60	male	NA	NA	-	+	-	-	-



09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	+
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	+	-	-	-	+
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	+	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	+
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	+
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	+	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
09/07/2012	São Paulo – SP	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
23/08/2012	Londrina – PR	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
23/08/2012	Londrina – PR	NA	female	NA	NA	-	-	-	-	-
23/08/2012	Londrina – PR	NA	male	NA	NA	-	-	+	+	-
23/08/2012	Londrina – PR	NA	male	NA	NA	-	-	-	-	-



08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	+
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	+	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	+	+	-	+
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	-	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-



08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
08/11/2013	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	+	+	+	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	+	+	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	+	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	+	+	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	-	+	+	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	-	+	+	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	+	-	+	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	+	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	+	+	+	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	+	+	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	+	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-
26/04/2014	Gravataí – RS	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-

20/08/2014	Rio Branco	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
20/08/2014	Rio Branco	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
20/08/2014	Rio Branco	NA	NA	NA	NA	-	+	-	-	-
20/08/2014	Rio Branco	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-

---

## 5. DISCUSSÃO

O presente trabalho descreve as taxas de detecção das espécies entéricas virais de CAdV-1, CCoV, CDV, CPV-2 e CRV, e sua associação com a idade do cão, estado clínico e esquema de vacinação. Entre animais saudáveis e doentes foi observada uma alta taxa de detecção para CPV-2 (30.7%), CDV (25.1%) e CCoV (16,8%). Isto foi observado principalmente em filhotes com dois meses de idade, sugerindo que estes vírus são predominantes e amplamente difundidos no Brasil.

Para o CDV o uso regular de vacinação em países desenvolvidos resulta em uma alta capacidade imune contra o CDV ajudando a reduzir a incidência deste vírus (BUCZKOWSKI et al., 2014). Em contraste, no Brasil, o alto número de cães não vacinados pode influenciar na alta frequência observada de CDV, além de falha de armazenagens de vacinas, elevado número de animais selvagens suscetíveis a infecção pelo CDV e uma elevada diversidade de cepas comparadas com a linhagem vacinal (America 1) (NEGRÃO et al., 2013; BUDASZEWSKI et al., 2014).

As altas taxas de detecção observadas no CPV-2 podem ser explicadas por uma elevada transmissão devido à alta carga viral nas fezes, longos períodos de excreção e estabilidade viral no meio ambiente. Neste estudo o coeficiente Pearson's foi utilizado para medir o significado da correlação entre as doenças entéricas e a positividade viral, e CPV-2 foi o único vírus com uma positividade marcante

Com respeito às infecções causadas por CAdV-1, CCoV e CRV, estas usualmente têm origem com a introdução de cães infetados em populações desprotegidas. Assim estes vírus podem ser consequência da falta de imunização sistêmica em cães (DECARO et al., 2008; DECARO et al., 2013). No presente estudo, as taxas de detecção para CAdV-1, CRV e CCoV foram baixas ao ser comparadas com as de CDV e CPV-2, mas foram altas em comparação com outros estudos. Provavelmente as características imunodepressivas de CDV e CPV-2 e um programa de vacinação ainda deficiente contribuem para que esta elevada frequência.

A porcentagem de amostras positivas para CRV (4,6%) foi maior do que o relatado em estudos anteriores no Japão e Estados Unidos, onde foi observado 0% até 2.4% de animais positivos (MOCHIZUKI et al., 2001; TUPLER et al., 2012). A quantidade de cães positivos apresentados aqui, apesar de baixa, é de grande importância, já que há estudos que relatam possíveis eventos de recombinação inter-espécies com sinais gênicos semelhantes com cepas

de rotavírus bovino, suíno, canino e humano (ARAÚJO et al., 2007; BÁNYAI et al., 2009; WU et al., 2012).

Nos últimos anos cepas virulentas de CCoV foram reportadas esporadicamente tanto no Brasil quanto mundialmente (DECARO et al., 2013; PINTO et al., 2014). O novo CCoV pantrópico pode levar cães infectados ao óbito e está frequentemente associado com sinais sistêmicos. No presente estudo, o CCoV foi o vírus com a maior incidência em cães assintomáticos (24,4%) e teve uma notável diminuição de sua presença em cães com sinais entéricos (15,3%). Assim, provavelmente, a maioria das cepas de CCoV observadas aqui possuíam somente características comensais.

Para CAdV somente o tipo 1 foi detectado nas amostras de fezes. Isto não era esperado, visto que apesar de seu parentesco genético e antigênico. O CAdV-1 apresenta tropismo para as células endoteliais vasculares; enquanto que, CAdV-2 replica melhor no trato respiratório e no epitélio intestinal (MORRISON et al., 1997; DAVISON et al., 2003; DECARO et al., 2008). Todas as amostras positivas para o CAdV-1 eram provenientes de cães clinicamente saudáveis, portanto poderia se supor que esses animais poderiam estar em estágios iniciais de hepatite infecciosa ou sob uma infecção persistente.

Uma alta prevalência entre duas espécies virais foi observada com CDV e CPV-2, sendo estaticamente significativa. Atualmente, está co-infecção de CDV e CPV-2 em cães pode ser encontrada na literatura (TAGUCHI et al., 2011; TUPLER et al., 2012). Porém, diferentemente do relatado nestes estudos, no presente trabalho uma alta quantidade de amostras foi estudada e estes vírus também foram observados em infecções concomitantes com CCoV, CAdV-1 e CRV. É importante considerar que, para estes vírus (CCoV, CAdV-1 e CRV) com menor correlação com a doença entérica, os efeitos imunodepressores da associação CPV-2/CDV podem ter facilitado a ocorrência da doença.

## **6. CONCLUSÕES**

1. Os resultados da presente pesquisa indicam que a maioria dos cães com e sem sintomatologia sugestiva de doença entérica foram positivos na PCR ou RT-PCR para vírus entéricos de cães
2. Os agentes virais mais encontrados em animais com sinais clínicos entéricos foram o CPV-2, seguido do CDV e CCoV.
3. O CAdV-1 foi detectado em um pequeno número de cães clinicamente saudáveis.

4. A maioria das amostras positivas possuíam co-infecção para CPV e CDV, sugerindo que estes vírus podem atuar sinergicamente em doenças gastroentéricas.
5. Os resultados indicam que cães com diarreia mostraram uma alta prevalência de infecções de origem viral, o que ressalta a importância de pesquisas epidemiológicas nestas populações.

## REFERÊNCIAS

- ABATE, O.; BOLLO, E.; LOTTI, D.; BO, S. Cytological, immunocytochemical and biochemical cerebrospinal fluid investigations in selected central nervous system disorders of dogs. **Zentralblatt für Veterinär Medizin Reich B.**, v. 45, n. 2, p. 73–85, 1998.
- AN, D.J.; YOON, S.H.; PARK, J.Y.; NO, I.S.; PARK, B.K. Phylogenetic characterization of canine distemper virus isolates from naturally infected dogs and a marten in Korea. **Veterinary Microbiology**, v. 132, p. 389–395, 2008.
- ALFIERI, A.; TAKIUCHI, E.; LOBATO, Z.I.P. Reoviridae In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. 2.ed. Santa Maria, ed. da UFSM, 2012, 888 p.
- ALEX, P.C.; DHANAPALAN, P. Distemper encephalitis in dogs: incidence, symptomatology and electroencephalographic findings. **Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 25, p. 127-31, 1994.
- AMUDE, A.M.; CARVALHO, G.D.A.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Virus isolation and molecular characterization of canine distemper virus by RT-PCR from a mature dog with multifocal encephalomyelitis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 354-356, 2007.
- ARMSTRONG, W.H.; ANTHONY, C.H. An epizootic of canine distemper in a zoological park. **Cornell Veterinary**, v. 32, p. 286-288, 1942.
- APPEL, M.J.G.; COOPER, B.J.; GREISEN, H.; SCOTT, F.W.; CARMICHAEL, L.E. Canine viral enteritis. I. Status report on corona and parvo-like viral enteritides. **Cornell Veterinary**, v. 69, p. 123-133, 1979.
- APPEL, M.J.G.; GILLESPIE, J.H. Canine distemper virus. **Virology Monographs**, v.11, p. 1-96, 1972.
- APPEL, M.J.; BISTNER, S.I.; MENEGUS, M.; ALBERT, D.A.; CARMICHAEL, L.E. Pathogenicity of low-virulence strains of two canine adenovirus types. **American Journal of Veterinary Research**, v. 34, p. 543–550, 1973.
- APPEL, M.; MEUNIER, P.; POLLOCK, R. et al., Canine viral enteritis, a report to practitioners. **Canine Practice**, v. 7(4), p. 22–36, 1980.

APPEL, M.J.G. Canine distemper virus. In: APPEL, M.J.G. (ed.). *Virus Infections of Carnivores*. Elsevier Science Publishers B.V. New York, p. 133–159, 1987.

APPEL, M.J.G., Canine Adenovirus Type 1 (Infectious Canine Hepatitis Virus). In: APPEL, M.J. (Ed.), *Virus Infections of Carnivores*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 29–43. 1987.

APPEL, M.J.G.; PEARCE-KELLING, S.; SUMMERS, B.A. Dog lymphocyte cultures facilitate the isolation and growth of virulent canine distemper virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 4, p. 258-263, 1992.

ARNS, C.W., SPILKI, F.R., ALMEIDA, R.S. Paramyxoviridae. In\_: FLORES. *Virologia Veterinária*. 2.ed. Santa Maria: Ed UFSM, 2012. cap. 26, 657-688.

BERGELSON, J.M.; CUNNINGHAM, J.A.; DROGUETT, G.; KURT-JONES, E.A.; KRITHIVAS, A.; HONG, J.S.; HORWITZ, M.S.; CROWELL, R.L.; FINBERG, R. W. Isolation of a common receptor for coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science*, v. 275, p. 1320 – 1323, 1997.

BANDAI, C.; ISHIGURO, S.; MASUYA, N.; HOHDATSU, T.; MOCHIZUKI, M. Canine coronavirus infections in Japan: virological and epidemiological aspects. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 61, p. 731–736, 1999.

BARTH, O.M. Estudo sobre a contrastação negativa de suspensões virais, *Revista Brasileira de Biologia*, v. 44, p. 71-80, 1984.

BERGMAN, J.G.; MUNIZ, M.; SUTTON, D. et al., Comparative trial of the canine parvovirus, canine distemper virus and canine adenovirus type 2 fractions of two commercially available modified live vaccines. *Veterinary Record*, v. 159(22), p. 733–736. 2006.

BENNETT, E.M.; BENNINK, J.R.; YEWDELL, J.W.; BRODSKY, F.M. Cutting edge: adenovirus E19 has two mechanisms for affecting class I MHC expression. *Journal of Immunology*, v. 162, p. 5049 – 5052. 1999.

BENETKA, V.; KOLODZIEJEK, J.; WALK, K.; RENNHOFFER, M.; MÖSTL, K. M gene analysis of atypical strains of feline and canine coronavirus circulating in an Austrian animal shelter. *Veterinary Record*, v. 159, p. 170–174, 2006.

BINN, L.N.; LAZAR, E.C.; KEENAN, K.P.; HUXSOLL, D.L.; MARCHWICKI, R.H.; SCOTT, F.W. Recovery and characterization of a coronavirus from military dogs with diarrhea. **Proceedings of the Annual Meeting of the U.S. Animal Health Association**, v. 78, p. 359-366, 1974.

BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 2004.

BISCHOFF, J.R.; KIRN, D.H.; WILLIAMS, A.; HEISE, C.; HORN, S.; MUNA, M.; NG, L.; NYE, J.A.; SAMPSON-JOHANNES, A.; FATTAEY, A.; MCCORMICK, F. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. **Science**, v. 274, p. 373-376, 1996.

BOOM, R.; SOL, C.J.A.; SALIMANS, M.M.M.; JANSEN, C.L.; WERTHEIM-VAN DILLEN, P.M.E.; VAN DER NOORDAA, J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n. 3, p. 495-503, 1990.

BHAVNANI, D.; GOLDSTICK, J.E.; CEVALLOS, W.; TRUEBA, G.; EISENBERG, J.N.; Synergistic effects between rotavirus and coinfecting pathogens on diarrheal disease: evidence from a community-based study in northwestern Ecuador. **American Journal of Epidemiology**, v.5, p.387–395, 2012.

BLIXENKRONE-MOLLER M.; SVANSSON V.; HAVE P.; ORVELL C.; APPEL M.; PEDERSEN I.R.; DIETZ H.H.; HENRIKSEN P. Studies on manifestations of canine distemper virus infection in an urban dog population. **Veterinary Microbiology**, v. 37, p. 163-173, 1993.

BLOUNT, D.G.; PRITCHARD, D.I.; HEATON, P.R. Age-related alterations to immune parameters in Labrador retriever dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.108, p.399 – 407, 2005.

BLUTT, S.E.; CONNER, M.E. Rotavirus: to the gut and beyond! **Current Opinion Gastroenterology**, v. 23 (1), p. 39–43. 2007.

BLUTT, S.E.; KIRKWOOD, C.D.; PARREÑO, V.; WARFIELD, K.L.; CIARLET, M.; ESTES, M.K.; BOK, K.; BISHOP, R.F.; CONNER, M.E. Rotavirus antigen aemia and viraemia: a common event? **Lancet**, v. 93, p.1445–1449. 2003.



BOLLO, E.; ZURBRIGGEN, A.; VANDEVELDE, M.; FANKHAUSER, R. Canine distemper virus clearance in chronic inflammatory demyelination. **Acta Neuropathologica (Berlin)**, v. 72, p. 69–73, 1986.

BRANDÃO, P.E.; LOVATO, L.T.; SLHESSARENKO, R.D. Coronaviridae. In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. 2.ed. Santa Maria, ed. da UFSM, 2012, 888 p.

BRUNNER, C.J.; SWANGO, L.J. Canine parvovirus infection: effects on the immune system and factors that predispose to severe disease. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v. 7(12), p. 979–88, 1985.

BUDASZEWSKI, R.F.; PINTO, L.D.; WEBER, M.N.; CALDART, E.T.; ALVES, C.D.; MARTELLA, V.; IKUTA, N.; LUNGE, V.R.; CANAL, C.W. Genotyping of canine distemper virus strains circulating in Brazil from 2008 to 2012. **Virus Research**, v. 180, p. 76-83, 2014.

BUONAVOGLIA, D.; CAVALLI, A.; PRATELLI, A.; MARTELLA, V.; GRECO, G.; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. Antigenic analysis of canine parvovirus strains isolated in Italy. **New Microbiologica**, v. 23, p. 93-96, 2000.

BUONAVOGLIA, C.; MARTELLA, V.; PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; CAVALLI, A.; BUONAVOGLIA, D.; BOZZO, G.; ELIA, G.; DECARO, N.; CARMICHAEL, L. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. **Journal of General Virology**, n. 82, p. 3021-3025, 2001.

BUONAVOGLIA, C.; DECARO, N.; MARTELLA, V.; ELIA, G.; CAMPOLO, M.; DESARIO, C.; CASTAGNARO, M.; TEMPESTA, M. Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, p. 492–494, 2006.

CABASSO V.J.; SCHROEDER C.R.; STEBBINS M.R. Isolation of distemper virus from the South American maned wolf (*Chrysocyon jubatus*). **Veterinary Medicine**, v.7, p. 330-332. 1956.

CALDERÓN, M.G. et al., Detection by RT-PCR and genetic characterization of canine distemper virus from vaccinated and non-vaccinated dogs in Argentina. **Veterinary Microbiology**, v. 125, n.3-4, p. 341-349, 2007.

CAMPBELL, D.J.; RAWLINGS, J.M.; KOELSCH, S.; WALLACE, J.; STRAIN, J.J. et al., Age-related differences in parameters of feline immune status. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.100, p.73-80, 2004.

CARRÉ, H. Sur la maladie des jeuneschiens. **Comptes Rendus de l'Académie Sciences**, v. 140, p. 689–690, 1905.

CARMICHAEL, L.E. The pathogenesis of ocular lesions of infectious canine hepatitis. 1. Pathology and virological observations. **Pathologia Veterinaria**, v. 1, n. 1, p. 73-95. 1964.

CARMICHAEL, L.E. Infectious canine enteritis caused by corona- like virus: current status and request for information. **Baker Institute Laboratory Report**, series 2, no. 9. James A. Baker Institute for Animal Health, Ithaca, N.Y. 1978.

CARMICHEL, L.E.; BINN, L.N. New enteric viruses in the dog. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v. 25, p.1-37, 1981.

CARSTENS, E.B. Ratification vote on taxonomic proposal to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009). **Archives of Virology**, v. 155, p. 133-146, 2010.

CAUDELL, D. et al., Diagnosis of infectious canine hepatitis virus (CAV- 1) infection in puppies with encephalopathy. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, n. 1, p. 58-61, 2005.

CASTILHO, J.G.; BRANDÃO, P.E.; CARNIELI JR., P.; OLIVEIRA, R.N.; MACEDO, C.I.; PEIXOTO, Z.M.P.; CARRIERI, M.L.; KOTAIT, I. Molecular analysis of the N gene of canine distemper virus in dogs in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 654–659, 2007.

CONNER, M.E.; DARLINGTON, R.W. Rotavirus infection in foals. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41(10), p. 1699–1703. 1980.

COOK, N.; BRIDGER, J.; KENDALL, K.; ITURRIZA-GOMARA, M.; EL-ATTAR, L.; GRAY, J. The zoonotic potential of rotavirus. **Journal of Infection**, v. 48, p. 289-302, 2004.

CORNWELL, H.J.C.; THOMPSON, H. Vaccination in the dog. **In Practice**, v. 5, p. 151-158, 1982.

COTMORE, S.F.; MCKENNA, A.M.; CHIORINI, A.J.; GATHERER, D.; MUKHA, V.D.; PINTEL, J.D.; QIU, J.; SONDERLUND-VENERMO, M.; TATTERSALL, P.; TIJSSEN, P. Rationalization and extension of the taxonomy of the family Parvoviridae. **Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Classification and nomenclature of viruses, p. 1-65, 2013.

CRIGLAR, J.M.; HU, L.; CRAWFORD, S.E.; HYSER, J.M.; BROUGHMAN, J.R.; PRASAD, B.V.; ESTES, M.K. A novel form of rotavirus NSP2 and phosphorylation-dependent NSP2-NSP5 interactions are associated with viroplasm assembly. **Journal of Virology**, v. 88(2), p. 786–798. 2014.

CHATZOPOULOS, D.C.; ATHANASIOU, L.V.; SPYROU, V.; FTHENAKIS, G.C.; BILLINIS, C.; Rotavirus infections in domestic animals. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 64(2), p. 145 – 160, 2013.

CHAPPUIS, G. Control of canine distemper. **Veterinary Microbiology**, v.44, n. 2-4, p. 351-358, 1995.

CHOUINARD, L.; MARTINEAU, D.; FORGET, C.; GIRARD, C. Use of polymerase chain reaction and immunohistochemistry for detection of canine adenovirus type 1 in formalin-fixed, paraffinembedded liver of dogs with chronic hepatitis or cirrhosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 10, p. 320–325, 1998.

DAVISON, A. Change all species names in the family *Adenoviridae* to incorporate a genus designation. **Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. p. 1-4, 2013.

DAY, M.J. Immune system development in the dog and cat. **Journal of Comparative Pathology**, v.137, S10 – S15, 2007.

DE CASTRO, L.; ARAUJO, H.P.; GOUVEA, V.S.; PEREIRA, H.G. Serological evidence of rotavírus infection in a guinea pig colony. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.83, p. 411-413, 1988.

DE MARI, K.; MAYNARD, L.; EUN, H.M.; LEBREUX, B. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled field trial. **Veterinary Record**, v.152, p. 105-108, 2003.

DE GRAZIA, S.; MARTELLA, V.; GIAMMANCO, G.M.; GÒMARA, M.I.; RAMIREZ, S.; CASCIO, A. Canine-origin G3P[3] rotavirus strain in child with acute gastroenteritis. **Emerging Infecting Diseases**, v. 13(7), p.1091–1093. 2007.

DECARO, N.; CAMERO, M.; GRECO, G.; ZIZZO, N.; ELIA, G.; CAMPOLO, M.; PRATELLI, A.; BUONAVOGLIA, C. Canine distemper and related diseases: report of a severe outbreak in a kennel. **New Microbiology**, v. 27, p. 177–181, 2004.

DECARO, N.; MARTELLA, V.; RICCI, D.; ELIA, G.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M.; CAVALIERE, N.; DI TRANI, L.; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. Genotype-specific fluorogenic RT-PCR assays for the detection and quantitation of canine coronavirus type I and type II RNA in faecal samples of dogs. **Journal of Virological Methods**, v. 130, p.72–78, 2005.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. An update on canine coronaviruses: viral evolution and pathobiology. **Veterinary Microbiology**, v.132, n. 3-4, p. 221–234, 2008.

DECARO, N.; MARI, V.; CAMPOLO, N.; LORUSSO A.; CAMERO, M.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; CORDIOLI, P.; ENJUANES, L.; BUONAVOGLIA, C. Recombinant canine coronavirus related to transmissible gastroenteritis virus of swine are circulating in dogs. **Journal of Virology**, v.83 n.3, p.1532-1537, 2009.

DECARO, N.; MARI, V.; ELIA, G.; ADDIE, D.D.; CAMERO, M.; LUCENTE, M.S.; MARTELLA, V.; BUONAVOGLIA, C. Recombinant canine coronaviruses in dogs, Europe. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, p. 41-47, 2010.

DECARO, N.; DESARIO, C.; BILLI, M.; MARI, V.; ELIA, G.; CAVALLI, A.; MARTELLA, V.; BUONAVOGLIA, C. Western European epidemiological survey for parvovirus and coronavirus infections in dogs. **Veterinary Journal**, v. 187, p. 195-199, 2011.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus—A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. **Veterinary Microbiology**, v. 155, p. 1-12, 2012.

DECARO, N.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M.; DI TRANI, L.; TARSITANO, E.; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 105, p. 19-28, 2005.

DECARO, N.; MARTELLA, V.; ELIA, G.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M.; BUONAVOGLIA, D.; BELLACICCO, A.L.; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. Diagnostic tools based on minor groove binder probe technology for rapid identification of vaccinal and field strains of canine parvovirus type 2b. **Journal of Virological Methods**, n. 138, p. 10-16, 2006a.

DECARO, N.; MARTELLA, V.; DESARIO, C.; BELLACICCO, A.L.; CAMERO, M.; MANNA, L.; D'ALOJA, D.; BUONAVOGLIA, C. First detection of canine parvovirus type 2c in pups with haemorrhagic enteritis in Spain. **Journal Veterinary Medicine**, v. 53, p. 468-472, 2006b.

DECARO, N.; DESARIO, C.; ADDIE, D.D.; MARTELLA, V.; VIEIRA, M.J.; ELIA, G.; ZICOLA, A.; DAVIS, C.; THOMPSON, G.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; BUONAVOGLIA, C. Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. **Emerging Infecting Diseases**, v. 13, p. 1222–1224, 2007b.

DECARO, N.; MARTELLA, V.; ELIA, G.; CAMPOLO, M.; DESARIO, C.; CIRONE, F.; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. Molecular characterization of the virulent canine coronavirus CB/05 strain. **Virus Research**, v. 125, p. 54–60. 2007.

DECARO, N.; CAMPOLO, M.; ELIA, G.; BUONAVOGLIA, D.; COLAIANNI, M.L.; LORUSSO, A.; MARI, V.; BUONAVOGLIA, C. Infectious canine hepatitis: an “old” disease reemerging in Italy. **Research in Veterinary Science**, v. 83, p. 269–273, 2007.

DECARO, N.; DESARIO, C.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; MARI, V.; LAVAZZ, A.; NARDI, M.; BUONAVOGLIA, C. Evidence for immunization failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. **New Microbiology**, v. 31, p. 125–130, 2008.

DEEM, S.L.; SPELMAN, L.H.; YATES, R.A.; MONTALI, R.J. Canine distemper in terrestrial carnivores a review. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 31, p. 441-451, 2000.

DESARIO, C.; DECARO, N.; CAMPOLO, M.; CAVALLI, A.; CIRONE, F.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; LORUSSO, E.; CAMERO, M.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus infection: Which diagnostic test os vírus? **Journal of Virological methods**, v. 126, p. 179-185, 2005.

DESSELBERGER, U.; HUPPERTZ, H.I. Immune responses to rotavirus infection and vaccination and associated correlates of protection. **Journal of Infectious Diseases**, v. 203 (2), p.188–195, 2011.

DESSELBERGER, U.; GRAY, J. Viral gastroenteritis. **Medicine (Baltimore)**, v. 41 (12), p. 700–704, 2013.

DEZENGRINI, R. Soroprevalência de infecções víricas em cães de Santa Maria, RS; e seleção e caracterização de linhagens celulares resistentes ao vírus da diarreia viral bovina. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva)**. Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. p. 62, 2006.

DEZENGRINI, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F. Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 183-189, 2007.

DIALLO, A. Morbillivirus group: genome organization and proteins. **Veterinary Microbiology**, v.23, p.155-163, 1990.

DUIGNAN, P.J.; HOUSE, C.; GERACHI, J.R.; DUFFY, N.; RIMA, B.; WALSH, M.T.; EARLY, G.; ST.AUBIN, D.J.; SADOVE, S.; KOOPMAN, H.; RHINEHART, H. Morbillivirus infection in cetaceans of the western Atlantic. **Veterinary Microbiology**, v. 44, p. 241-249, 1995.

DUNKIN, G.W.; LAIDLAW, P.P. Studies in dogs distemper: I. Dog distemper in the ferret. **Journal of Comparative Pathology Therapeutics**, v. 39, p. 201-212, 1926.

EK-KOMMONEN, C.; SIHVONEN, L.; PEKKANEN, K.; RIKULA, U.; NUOTIO, L. Outbreak off canine distemper in vaccinated dogs in Finland. **Veterinary Record**, v. 141, p. 380–383, 1997.

ELIA, G. et al., Detection of canine distemper virus in dogs by real time RT-PCR. **Journal of Virological Methods**, v. 136, n. 1-2, p. 171-176, 2006.

ENGLAND, J.J.; POSTON, R.P. Electron microscopic identification and subsequent isolation of a rotavirus from a dog with fatal neonatal diarrhea. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, p. 782-783, 1980.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

ESTES, M.K.; PALMER, E.L.; OBJESKI, J.F. Rotaviruses: a review. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 105, p. 123-84, 1983.

ESTES, M.K.; COHEN, J. Rotavirus gene structure and function. **Microbiological Reviews**, v. 53, p. 410–449, 1989.

ESTES, M.K. Rotaviruses and their replication. In: Fields, B.N., Knipe, D.N., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L., Monath, T.P., Roizman, B., Straus, S.E. (Eds.), **Virology**, vol. 2. Raven Press, New York, pp. 1625–1655, 1996.

ESTES, M.K.; KAPIKIAN, A.Z.; Rotaviruses..., In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M.; GRIFFIN, D.E.; LAMB, R.A.; MARTIN, M.A.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S.E. (Eds.), **Fields Virology**, 5th edn, Vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer, Philadelphia, pp. 1917–1974, 2007.

ESTES, M.K.; GREENBERG, H.B. Rotaviruses. In: Knipe, D.M., Howley, P.M., et al., (Eds.), **Fields Virology**, 6th ed. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, p. 1347–1401, 2013.

EVERMANN, J.F.; ABBOTT, J.R.; HAN, S. Canine coronavirus-associated puppy mortality without evidence of concurrent canine parvovirus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, p.610–614, 2005.

FABBRETTI, E.; AFRIKANOVA, I.; VASCOTTO, F.; BURRONE, O. R. Two non-structural rotavirus proteins, NSP2 and NSP5, form viroplasm-like structures in vivo. **Journal of General Virology**, v. 80, p. 333–339. 1999.

FAIRCHILD, G.A.; MEDWAY, W.; COHEN, D. A study of the pathogenicity of a canine adenovirus (Toronto A26/61) for dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 30, p. 1187–1193. 1969.

FAUVEL, M.; SPENCE, L.; BABIUK, L.A.; PETRO, R.; BLOCH, S. Hemagglutination and hemagglutination-inhibition studies with a strain of Nebraska calf diarrhea virus (bovine rotavirus). **Intervirology**, v. 9, p. 95-105, 1978.

FENNER, W.R. Doenças do cérebro. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds). **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 4 ed. vol. 1. p. 586-638. 2004.

FENG, N.; KIM, B.; FENAUX, M.; NGUYEN, H.; VO, P.; OMARY, M.B.; GREENBERG, H.B. Role of interferon in homologous and heterologous rotavirus infection in the intestines and extraintestinal organs of suckling mice. **Journal of Virology**, v. 82 (15), p.7578–7590. 2008.

FLEWETT, T.H.; BRYDEN, A.S.; DAVIES, H.; WOODE, G.N.; BRIDGER, J.C.; DERRICK, J.M. Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. **Lancet**, v. 304, p. 61-63. 1974.

FLEWETT, T.H.; ARIES, C.F.; AVENDANO, L.F.; GHAFOR, A.; MATHAN, M.M.; MENDIS, L.; MOE, K.; BISHOP, R.F. Comparative evaluation of the WHO and DAKOPATTS enzyme-linked immunoassay kits for the rotavirus detection. Bull. **World Health Organization**, v. 67, p. 369-374, 1989.

FLORES, J.; SEARS, J.; PEREZ-SCHAEL, I.; LANATA, C.; KAPIKIAN, A.Z. Identification of human rotavirus serotype by hybridization to polymerase chain reaction-generated probes derived from a hyperdivergent region of the gene encoding outer capsid protein VP7. **Journal of Virology**, v. 64, p. 4021–4024, 1990.

FLORES, E.F. Interações dos vírus com as células e com os hospedeiros. In: **Virologia Veterinária: Virologia Geral e Doenças Víricas**. 2. Ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2012. Cap.8, p. 201-252.

FRANCO, M.A.; ANGEL, J.; GREENBERG, H.B. Immunity and correlates of protection for rotavirus vaccines. **Vaccine**, v. 24 (15), p. 2718–2731, 2006.

FRISK, A.L.; KONIG, M.; MORITZ, A.; BAUMGARTNER, W. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription- PCR using serum, whole blood,



and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 3634–3643, 1999.

FULTON, R.W.; JOHNSON, C.A.; PEARSON, N.J.; WOODE, G.N. Isolation of a rotavirus from newborn dog with diarrhea. **American Journal of Veterinary Research**, v. 42, p. 841–843, 1981.

GREELEY, E.H.; SPITZNAGEL, E.; LAWLER, D.F.; KEALY, R.D.; SEGRE, M. Modulation of canine immunosenescence by lifelong caloric restriction. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.111, p.287 – 299, 2006.

GREENE, C.E.; APPEL, M.J.G. Canine distemper. In: GREENE, C.E. (ed.) **Infectious diseases of the dog and cat**, WB Saunders Philadelphia, p. 226–241, 1990.

GREENE, C.E. Infectious Canine Hepatitis. In: GREENE, C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. WB Saunders, Philadelphia, p. 242–251, 1990.

GREENE, C.E. Infectious canine hepatitis and canine acidophil cell hepatitis. In: GREENE, C.E. editor. **Infectious disease of the dog and cat**, 3th ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier, v. 8, p. 41-47, 2006.

GREENBERG, H.; MCAULIFFE, V.; VALDESUSO, J.; WYATT, R.; FLORES, J.; KALICA, A.; HOSHINO, Y.; SINGH, N. Serological analysis of the subgroup protein of rotavirus using monoclonal antibodies. **Infection and Immunity**, v. 39, p. 91–99. 1983.

GRONE, A.; FRISK, A.L.; BAUMGARTNER, W. Cytokine mRNA expression in whole blood samples from dogs with natural canine distemper virus infection. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v. 65, p. 11–27, 1998.

GUO, W.; EVERMAN, J.F.; FOREYT, W.J.; KNOWLTON, F.F.; WINDBERG, L.A. Canine distemper virus in coyotes: a serological survey. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.189, n.9, p.1099-100, 1986.

GOUVEIA, A.M.G.; MAGALHÃES, H.H.; RIBEIRO, A.L. Cinomose canina: ocorrência em animais vacinados e distribuição por faixa etária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 39, n. 4, p. 539-545, 1987.

GOUVEA, V.; GLASS, R.I.; WOODS, P.; TANIGUCHI, K.; CLARK, H.F.; FORRESTER, B.; FANG, Z.Y. Polymerase Chain Reaction Amplification and Typing of Rotavirus Nucleic Acid from Stool Specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n. 2, p. 276-282, 1990.

GOUVEA, V.; SANTOS, N.; TIMENETSKY, M. C. VP4 typing of bovine and porcine group A rotaviruses by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 1333–1337. 1994a.

GOUVEA, V.; SANTOS, N.; TIMENETSKY, M.C. Identification of bovine and porcine rotavirus G types by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 1338–1340, 1994b.

GORHAM, J.R. Canine Distemper (La maladie de Carré). **Advances in Veterinary Science**, v. 6, p. 287-351, 1960.

GREENE, C.E. Clinical microbiology and infectious disease of the dog and cat. Philadelphia: **Saunders**, 1984, 967 p.

GREENE, G.E.; APPEL, W.B. Canine distemper. In: GREENE, C.E. (ed.). **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. Pp. 226–241, 1990.

GREENE, C.E.; APPEL, M.J.G. Canine Distemper. In: GREENE, C.E. (Ed). **Infectious Diseases of the dog and Cat**. Third ed. Philadelphia: W. B. Saunders, p. 25-41, 2006.

GREENE, C.E.; DECARO, N. Canine Viral Enteritis. In: GREENE, C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**, 4th ed. WB Saunders, Philadelphia, PA. 2011.

GRIMPREL, E.; RODRIGO, C.; DESSELBERGER, U. Rotavirus disease: impact of coinfections. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 27, p.S3–S10, 2008.

GRIFFITHS, E.C.; PEDERSEN, A.B.; FENTON, A.; PETCHEY, O.L. The nature and consequences of coinfection in humans. **Journal of Infection**, v. 3, p.200–206, 2011.

GILGER, M.A.; MATSON, D.O.; CONNER, M.E.; ROSENBLATT, H.M.; FINEGOLD, M.J.; ESTES, M.K. Extraintestinal rotavirus infections in children with immunodeficiency. **Journal of Pediatrics**, v. 120 (6), p. 912–917. 1992.

GILLESPIE, J.H.; BAKER, J.A.; BURGHER, D.R.; GILMAN, B. The immune response of dogs to distemper virus. **The Cornell Veterinarian**, v. 48, p. 102-126, 1958.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A.L. Canine Parvovirus. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 40, p.1041–1053, 2010.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A.L.; CHRISTOPHER M.M.; et al., Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22(2), p. 309–316. 2008.

GOODRUM, F.D.; ORNELLES, D.A. Roles for the E4 orf6, orf3, and E1B 55-kilodalton proteins in cell cycle-independent adenovirus replication. **Journal of Virology**, v. 73, 7474–7488, 1999.

GUEDES, I.B.; LIMA, A.S.; ESPINHEIRO, R.F.; MANSSOUR, M.B.; CRUZ, I.P.; DIAS, H.L.T. Occurrence and geographical assessment of canine distemper in the city of Belém, Pará-Brazil. 2010. Available at: <<http://www.vin.com/proceedings>>. Accessed at: 19 fev. 2015.

GÜR, S.; ACAR, S. A retrospective investigation of canine adenovirus (CAV) infection in adult dogs in Turkey, **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 80, no. 2, p. 84–86, 2009.

HAAS, L.; HOFER, H.; EAST, M.; WOHLSEIN, P.; LIESS, B.; BARRETT, T. Canine distemper virus infection in Serengeti spotted hyenas. **Veterinary Microbiology**, v. 49, p. 147–152, 1997.

HALBERT, D.N.; CUTT, J.R.; SHENK, T. Adenovirus early region 4 encodes functions required for efficient DNA replication, late gene expression, and host cell shutoff. **Journal of Virology**, v. 56, p. 250-257, 1985.

HALL, A.R.; DIX, B.R.; O'CARROLL, S.J.; BRAITHWAITE, A.W. p53- dependent cell death/apoptosis is required for a productive adenovirus infection. **Nature Medicine**, v. 4, p. 1068 -1072. 1998.

HAN, J.; SABBATINI, P.; PEREZ, D.; RAO, L.; MODHA, D.; WHITE, E. The E1B 19K protein blocks apoptosis by interacting with and inhibiting the p53-inducible and death-promoting Bax protein. **Genes and Development**, v. 10, p. 461-477, 1996.

HASS, R.; JOHANN, J.M.; CAETANO, C.F.; FISCHER, G.; VARGAS, G.D.; VIDOR, T.; HÜBNER, S.O. Níveis de anticorpos contra o vírus da cinomose canina e o parvovírus canino em cães não vacinados e vacinados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 270-274, 2008.

HARADA, J.N.; BERK, A.J. p53-Independent and –dependent requirements for E1B-55K in adenovirus type 5 replication. **Journal of Virology**, v. 73, p. 5333-5344. 1999.

HARB, M.; BECKER, M.M.; VITOUR, D.; BARON, C.H.; VENDE, P.; BROWN, S.C.; BOLTE, S.; AROLD, S.T.; PONCET, D. Nuclear localization of cytoplasmic poly(A)-binding protein upon rotavirus infection involves the interaction of NSP3 with eIF4G and RoXaN. **Journal of Virology**, v. 82 (22), p. 11283–11293, 2008.

HARDER, T.C.; KENTER, M.; APPEL, M.J.G.; ROELKEPARKER, M.E; BARRETT, T.; OSTERHAUS, A.D.M.E. Phylogenetic evidence of canine distemper virus in Serengeti's lions. **Vaccine**, v. 13, p. 521–523, 1995.

HARDER, T.C.; OSTERHAUS, A.D.M.E. Canine distemper virus – a morbillivirus in search of new hosts? **Trends in Microbiology**, v. 5, p. 120-124, 1997.

HARTMANN, T.L.S.; BATISTA, H.B.C.R.; DEZEN, D.; SPILKI, F.R.; FRANCO, A.C.; ROEHE, P.M. Anticorpos neutralizantes contra os vírus da cinomose e da parainfluenza em cães de canis dos municípios de Novo Hamburgo e Porto Alegre, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, p. 1178-1181, 2007.

HASHIMOTO, M.; UNE, Y.; MOCHIZUKI, M. Hemagglutinin genotype profiles of canine distemper virus from domestic dogs in Japan. **Archives of Virology**, v. 146, p.149–155. 2001.

HAY, R.T.; FREEMAN, A.; LEITH, I.; MONAGHAN, A.; WEBSTER, A. Molecular interactions during adenovirus DNA replication. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 199, p. 31 – 48, 1995.

HEADLEY, S.A.; GRAÇA, D.L. Cinomose: achados epidemiológicos de 250 casos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 2, 2000. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-95962000000200009&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962000000200009&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 06/06/2014.

HEARING, P.; SAMULSKI, R.J.; WISHART, W.L.; SHENK, T. Identification of a repeated sequence element required for efficient encapsidation of the adenovirus type 5 chromosome. **Journal of Virology**, v. 61, 2555 – 2558, 1987.

HERRING, A.J.; INGLIS, N.F.; OJEH, C.K.; SNODGRASS, D.R.; MENZIES, J.D. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 16(3), p. 473–477, 1982.

HERREWEGH, A.A.; SMEENK, I.; HORZINEK, M.C.; ROTTIER, P.J.; DE GROOT, R.J. Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. **Journal of Virology**, v. 72, p. 4508-4514, 1998.

HIGGINS, R.J.; KRAKOWKA, S.; METZLER, A.E.; KOESTNER, A. Canine distemper virus-associated cardiac necrosis in the dog. **Veterinary Pathology**, v. 18, n. 4, p. 472–486, 1982.

HIPÓLITO, O.; FREITAS, M. Doenças Infecto – Contagiosas dos Animais Domésticos. São Paulo: Edições Melhoramentos, 1964.

HODGMAN, S.F.J.; LARIN, N.M. Diagnosis of canine virus hepatitis (Rubarth's disease). **Veterinary Record**, v. 65 n. 29, p. 447-450, 1953.

HOGENESCH, H.; THOMPSON, S.; DUNHAM, A.; CEDDIA, M.; HAYEK, M. Effect of age on immune parameters and the immune response of dogs to vaccines: a cross-sectional study. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 97, p. 77-85, 2004.

HOMEM, V.S.F.; MENDES, Y.G.; LINHARES, A.C. Gastroenterite canina-Agentes virais nas fezes de cães diarreicos e não diarreicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 6, p. 531-536, 1999.

HONG, C.; DECARO, N.; DESARIO, C.; TANNER, P.; PARDO, M.C.; SANCHEZ, S.; BUONAVOGLIA, C.; SALIKI, J.T. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.19, p. 535–539. 2007.

HOSHINO, Y.; WYATT, R.G.; SCOTT, F.W.; APPEL, M.J. Isolation and characterization of a canine rotavirus. **Archives of Virology**, v. 72, p. 113–125, 1982.

HOSHINO, Y.; WYATT, R.G.; GREENBERG, H.B.; KALICA, A.R.; FLORES, J.; KAPIKIAN, A.Z. Serological comparison of canine rotavirus with various simian and humans rotaviruses by plaque reduction neutralization and hemagglutination inhibition tests. **Infection and Immunity**, v. 41, p. 169–173. 1983.

HOSHINO, Y.; WYATT, R.G.; GREENBERG, H.B.; FLORES, J.; KAPIKIAN, A.Z.; Serotypic similarity and diversity of rotaviruses of mammalian and avian origin as studied by plaque-reduction neutralization. **Journal of Infectious Diseases.** , v. 149, p. 694–702, 1984.

HOSKINS, J.D. Update on canine parvoviral enteritis. **Veterinary medicine**, v. 92, n.8, p. 694-709, 1997.

HOSKINS, J.D. Doenças Virais Caninas. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária – Doenças do Cão e do Gato**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. 5 ed, v.1, p. 442 – 444, 2004.

HORZINEK, M.C. Vaccination Protocols for companion Animals: The Veterinarian's Perspective. **Journal of Comparative Pathology**, v. 142, p. 129-132, 2010.

HOUSTON, D.M.; RIBBLE, C.S.; HEAD, L.L. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982–1991). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, p. 542–546, 1996.

ITURRIZA-GOMARA, M.; WONG, C.; BLOME, S.; DESSELBERGER, U.; GRAY, J. Molecular characterization of VP6 genes of human rotavirus isolates: correlation of genogroups with subgroups and evidence of independent segregation. **Journal of Virology**, v. 76, p. 596–601. 2002.

JANEWAY, C.A.; TRAVERS, L.J.; WALMPORT, M. (Eds.), **Immunobiology**. fifth ed. Garland Publishing, New York, 2001, pp. 412–420.

JAYARAM, H.; ESTES, M.K.; PRASAD, B.V. Emerging themes in rotavirus cell entry, genome organization, transcription and replication. **Virus Research**, v. 101(1), p. 67–81, 2004.

JOHNSON, R.; GLICKMAN, L.T.; EMERICK, T.J.; PATRONEK, G.J. Canine distemper infection in pet dogs: I. Surveillance in Indiana during a suspected outbreak. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.31, n.3, p. 223-229, 1995.

JOHNSON, R.H.; SMITH, J.R. Epidemiology and pathogenesis of canine parvovirus. **Australian Veterinary Practitioner**, v. 13(1) p. 31. 1983.

JÓZWIK, A.; FRYMUS, T. Natural distemper in vaccinated and unvaccinated dogs in Warsaw, **Journal of Veterinary Medicine, Series B.**, v. 49, n. 9, p. 413-414, 2002.

KANNABIRAN, C.; MORRIS, G.F.; MATHEWS, M.B. Dual action of the adenovirus E1A 243R oncoprotein on the human proliferating cell nuclear antigen promoter: repression of transcriptional activation by p53. **Oncogene**, v. 18, p. 7825-7833. 1999.

KAPIKIAN, A.Z.; CHANOCK, R.M. Rotaviruses, In: **Virology**, Fields, B.N.; KNIPE, D.M. (eds). Raven Press, New York, 1990, p. 1353 - 1397.

KAPIKIAN, A.Z.; HOSHINO, Y.; CHANOCK, R.M.; PEREZ-SCHAEL, I. Jennerian and modified Jennerian approach to vaccination against rotavirus diarrhea using aquadrivalent rhesus rotavirus (RRV) and human-RRV reassortant vaccine. **Archives of Virology**, v. 12, p. 163–175, 1996.

KAPIKIAN, A.Z.; HOSHINO, Y.; CHANOCK, R.M. Rotaviruses. In: Howley PM, ed. **Fields virology**. 4th ed. Vol. 2. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001, p. 1787–1833.

KAPIL, S.; COOPER, E.; LAMM, C.; MURRAY, B.; REZABEK, G.; JHONSTON III, L.; CAMPBELL, G.; JOHNSON, B. Canine Parvovirus types 2c and 2b Circulating in North American Dogs in 2006 and 2007. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 12, p.4044-4047, 2007.

KELLY, W.R. The liver and biliary system. In: JUBB, KFV, KENNEDY, PC, PALMER N. **Pathology of Domestic Animals**. 4th ed. San Diego: Academic Press; p. 319-406, 1993.

KISS, I. et al., Infectious canine hepatitis: detection of canine adenovirus type 1 by polymerase chain reaction. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 44, n. 2, p. 253-258, 1996.

KING, A.M.Q. et al., II section - The negative sense single stranded RNA viruses. In: **Virus Taxonomy**: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 9<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 2011, p. 1338.

KOBAYASHI, Y.K.; ITAKURA, C. Dual infection with canine distemper virus and infectious canine hepatitis virus (canine adenovirus type 1) in a dog. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 55, n. 4, p. 699-701, 1993.

LAI, M.M.C.; HOLMES, K.V., Coronaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), **Fields Virology**. fourth ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, 2001. pp. 1163–1185.

LAN, N.T. et al., Comparative analyses of canine distemper viral isolates from clinical cases of canine distemper in vaccinated dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 115, n. 1-3, p. 32-42, 2006.

LARIN, N.M. Epidemiological studies of canine virus hepatitis (Rubarth's disease). **Veterinary Record**, v. 70, n. 14, p. 295-297. 1958.

LARSON, L.J.; SCHULTZ, R.D. Comparison of selected canine vaccines for their ability to induce protective immunity against CPV-2 infection. **American Journal of Veterinary Research**, v.58 (4), p. 360–363, 1997.

LAMM, C.G.; REZABEK, G.B. Parvovirus infection in domestic companion animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 4, p. 837-850, 2008.

LELLO, J.; NORMAN, R.A.; BOAG, B.; HUDSON, P.J.; FENTON, A. Pathogen interactions population cycles, and phase shifts. **American Naturalist**, v. 2, p.176 – 182, 2008.

LE PODER, S. Feline and Canine coronaviruses: Common genetic and Pathobiological Features, **Advances in Virology**, Hindawi Publishing Corporation, 2011.

LEISEWITZ, A.L; CARTER, A.; VAN VUUREN, M.; VAN BLERK, L. Canine distemper infections, with special reference to South Africa, with a review of the literature. **Journal of the South African Veterinary Medical Association**, v. 72, p. 127–136, 2001

LIANG, C.T.; CHUEH, L.L.; PANG, V.F.; ZHUO, Y.X.; LIANG, S.C.; YU, C.K.; CHIANG, H.; LEE, C.C.; LIU, C.H. A non-biotin polymerized horseradish-peroxidase method for the immunohistochemical diagnosis of canine distemper. **Journal of Comparative Pathology**, v. 136, p. 57-64, 2007.

LINNÉ, T. Differences in the E3 regions of canine adenovirus type 1 and type 2. **Virus Research**, v. 23, p. 119–133, 1992.

LIU, J.; KIBIKI, G.; MARO, V.; MARO, A.; KUMBURU, H.; SWAI, N.; TANIUCHI, M.; GRATZ, J.; TONEY, D.; KANG, G.; HOUP, E. Multiplex reverse transcription PCR Luminex assay for detection and quantitation of viral agents of gastroenteritis. **Journal of Clinical Virology**, v. 50 (4), p. 308–313. 2011.



- LÓPEZ, A. Respiratory System. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. (Eds.). **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4<sup>th</sup> ed. St Louis: Mosby Elsevier., 2007, p. 463-542.
- LOURENÇO, M.H.; NICOLAS, J.C.; COHEN, J.; SCHERRER, R.; BRICOUT, F. Study of human rotavirus genoma by electrophoresis: attempt of classification among strains isolated in France. **Annales de l'Institut Pasteur. Virology**, v. 132E, p. 161-73, 1981.
- LUCHS, A.; CILLI, A.; MORILLO, S.G.; CARMONA, C.C., TIMENETSKY, T.S. Rare G3P[3] rotavirus strain detected in Brazil: Possible human–canine interspecies transmission. **Journal of Clinical Virology**, v. 54, p. 89– 92, 2012.
- LUDERT, J.E.; MICHELANGELI, F.; GIL, F.; LIPRANDI, F.; ESPARZA, J. Penetration and uncoating of rotaviruses in cultured cells. **Intervirolgy**, v. 27 (2), p. 95–101, 1987.
- LUTZ, P.; KEDINGER, C. Properties of the adenovirus IVa2 gene product, an effector of late-phase-dependent activation of the major late promoter. **Journal of Virology**, v. 70, p.1396-1405, 1996.
- LUTZ, P.; ROSA-CALATRAVA, M; KEDINGER, C. The product of the adenovirus intermediate gene IX is a transcriptional activator. **Journal of Virology**, v. 71, p. 5102±5109, 1997.
- MA, G.G.; LU, C.P. Two genotypes of Canine coronavirus simultaneously detected in the fecal samples of healthy foxes and raccoon dogs. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, v. 45, p. 305–308, 2005.
- MACARTNEY, L.; MCCANDLISH, I.A.; THOMPSON, H.P.; CORNWELL, H.J.C. Canine Parvovirus enteritis 1: Clinica, haematological and pathological features of experimental infection. **Veterinary Record**, v. 115, p. 201-210, 1984.
- MACLACHLAN, N.J.; DUVOTI, E.J. Coronaviridae, **Fenner's Veterinary Virology**, 5 ed. Academic Press, p. 507, 2011.
- MARTELLA, V.; PRATELLI, A.; ELIA, G.; DECARO, N.; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. Isolation and genetic characterization of two G3P5A[3] canine rotavirus strains in Italy. **Journal of Virological Methods**, v. 96, p. 43–49, 2001.
- MARTELLA, V.; BANYAI, K.; MATTHIJNSSENS, J.; BUONAVOGLIA, C.; CIARLET, M. Zoonotic aspects of rotaviruses. **Veterinary Microbiology**, v. 140(3–4), p. 246–255, 2010.

MARTINS, D.B.; LOPES, S.T.A.; FRANÇA, R.T. Cinomose canina – revisão de literatura. **Acta Veterinária Brasilica**, v.3, n.2, p.68-76, 2009.

MATTHEWS, R.E. Third report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Classification and nomenclature of viruses. **Intervirology**, v.12, p.129-296. 1979.

MATTHIJNSSENS, J.; CIARLET, M.; MCDONALD, S.M.; ATTOUI, H.; BÁNYAI, K.; BRISTER, J.R.; BUESA, J.; ESONA, M.D.; ESTES, M.K.; GENTSCH, J.R.; ITURRIZA-GÓMARA, M.; JOHNE, R.; KIRKWOOD, C.D.; MARTELLA, V.; MERTENS, P.P.; NAKAGOMI, O.; PARREÑO, V.; RAHMAN, M.; RUGGERI, F.M.; SAIF, L.J.; SANTOS, N.; STEYER, A.; TANIGUCHI, K.; PATTON, J.T.; DESSELBERGER, U.; VAN RANST, M. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). **Archives of Virology**, v. 156 (8), p. 1397–1413, 2011.

MATTHIJNSSENS, J.; DESSELBERGER, U. Genome diversity and evolution of rotaviruses. In: Hacker, J., Dobrindt, U., Kurth, R. (Eds.), **Genome Plasticity and Infectious Diseases**. ASM Press, Washington, D.C., p.219–241, 2012.

MATSUI, S.M.; MACKOW, E.R.; MATSUNO, S.; PAUL, P.S.; GREENBERG, H.B. Sequence analysis of gene 11 equivalents from “short” and “super short” strains of rotavirus. **Journal of Virology**, v. 64, p. 120-124. 1990.

MEBUS, C.A.; UNDERDAHL, N.R.; RHODES, M.B. Calf diarrhea (scours): Reproduced with a virus from a field outbreak. **Nebraska-Agricultural Experiment Station. Research Bulletin**, v. 233, p. 1–16. 1969.

MEUNIER, P.C.; COOPER, B.J.; APPEL, M.J. et al., Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies. **Veterinary Pathology**, v. 22(6), p. 617–24. 1985a.

MEUNIER, P.C.; COOPER, B.J.; APPEL, M.J. et al., Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: the importance of viremia. **Veterinary Pathology**, v. 22(1), p. 60–71. 1985b.

MCCANDLISH, I.A.P. In: DUNN, J. K. **Tratado de Medicina de Pequenos Animais**, São Paulo, 1.ed. Roca, 2001, 1075p.

MCNULTY, M.S.; CURRAN, W.L.; MCFERRAN, J.B. The morphogenesis of a cytopathic bovine rotavirus in Madin-Darby bovine kidney cells. **Journal of General Virology**, v. 33 (3), p. 503–508. 1976.

MCLINTOSH, K. Coronaviruses: A Comparative review. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.63, p. 86-129. 1974.

MORAES, M.P.; COSTA, P.R. Parvoviridae. In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. 2.ed. Santa Maria, ed. da UFSM, 2012, 888 p.

MORAES, M.P.; COSTA, P.R. Adenoviridae. In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. 2. ed. Santa Maria, ed. da UFSM, 2012, 888 p.

MONTERO, H.; ARIAS, C.F.; LOPEZ, S. Rotavirus nonstructural protein NSP3 is not required for viral protein synthesis. **Journal of Virology**, v. 80 (18), p. 9031–9038, 2006.

MOCHIZUKI, M.; HSUAN, S. Isolation of a rotavirus from canine diarrhoeal faeces. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 46, p. 905– 908, 1984.

MOCHIZUKI, M.; MINAMI, K.; SAKAMOTO, H. Sero-epizootiological studies on rotavirus infection of dogs and cats. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 48, p. 957–964. 1986.

MOOSAI, R.B.; ALCOCK, R.; MADELEY, C.R. A cryptogram for recording rotavirus strains: the rotacode. **Journal of Hygiene**, v. 93, p. 237-250, 1984.

MUNIAPPA, L.; GEORGIEV, K.G.; DIMITROV, D.; MITOUK, B. HARALAMBIEV, E.H. Isolation of rotavirus from buffalo calves. **Veterinary Record**, v. 120, p.23, 1987.

MURPHY, F.A.; GIBBS, E.P.; HORZINEK, M.C. **Veterinary virology**. 3 ed. San Diego Elsevier, 1999. p. 629.

MUZYCZKA, N.; BERNS, K.I. Parvoviridae: the viruses and their replication. In: GRIFFIN, D.M.; MARTIN, M.A.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S.E. **Fields Virology**, v. 2, 6ed, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p. 2327-2359, 2013.

NAJJAR, E.F.; SCHMITT, A.P.; DUTCH, R.E. Paramyxovirus Glycoprotein Incorporation, Assembly and Budding: A Three Way Dance for Infectious Particle Production. **Viruses**, v.6, p. 3019-3054, 2014.

NAKAGOMI, T.; MATSUDA, Y.; OHSHIMA, A.; MOCHIZUCKI, M.; NAGAKOMI, O. Characterization of a canine rotavirus strain by neutralization and molecular hybridization assays. **Archives of Virology**, v. 106, p. 145–150, 1989.

NAKAMURA, M.; TOHYA, Y.; MIYAZAWA, T.; MOCHIZUKI, M.; PHUNG, H.T.; NGUYEN, N.H.; HUYNH, L.M.; NGUYEN, L.T.; NGUYEN, P.N.; NGUYEN, P.V.; NGUYEN, N.P.; AKASHI, H. A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. **Archives of Virology**, v. 149, p. 2261–2269. 2004.

NAYLOR, M.J.; MONCKTON, R.P.; LEHRBACH, P.R.; DEANE, E.M. Canine coronavirus in Australian dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 79, p. 116–119. 2001.

NEGRÃO, F.J.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Avaliação da urina e de leucócitos como amostras biológicas para a detecção ante mortem do vírus da cinomose canina por RT-PCR em cães naturalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 253-257, 2007.

NELSON, R.; COUTO, C.G. Distúrbios do trato intestinal. In: **Medicina interna de pequenos animais**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. Cap.33, p. 417-447, 2013.

OFFIT, P.A.; CLARK, H.F.; BLAVAT, G.; GREENBERG, H.B. Reassortant rotaviruses containing structural proteins vp3 and vp7 from different parents induce anti-bodies protective against each parental serotype. **Journal of Virology**, v. 60 (2), p. 491–496, 1986a.

OFFIT, P.A.; SHAW, R.D.; GREENBERG, H.B. Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to surface proteins vp3 and vp7. **Journal of Virology**, v. 58 (2), p. 700–703. 1986b.

OFFIT, P.A. Rotaviruses: immunological determinants of protection against infection and disease. **Advances in Virus Research**, v. 44, p. 161–202, 1994.

OSTERHAUS, A.D.M.E.; SWART, R.L.; VOS, H.W.; ROSS, P.S.; KENTER, M.J.H.; BARRETT, T. Morbillivirus infections of aquatic mammals: newly identified members of the genus. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 44, n. 2-4, p. 219-227, 1995.

OTTO, C.M.; JACKSON, C.B.; ROGELL, E.J. et al., Recombinant bactericidal/permeability increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15(4), p. 355–60, 2001.

O'RYAN, M.; PRADO, V.; PICKERING, L.K. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v.16, p.125–136, 2005.

PARRISH, C.R.; O'CONNEL, P.H.; EVERMANN J.F.; CARMICHAEL, L.E. Global spread and replacement of canine parvovirus strains. **Journal of General Virology**, v. 69, p. 1111–1116, 1988.

PARRISH, C.H. Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. **Veterinary Microbiology**, v. 69, p. 29-40, 1999.

PARRISH, C.R. Emerging viruses. **Current Opinion in Virology**, v. 1, p. 617-619, 2011.

PARRY, H.B.; LARIN, N.M. The natural history of virus hepatitis of dogs (Rubarth's disease). **Veterinary Record**, v. 63, p. 833-847, 1950.

PANDHER, K. et al., Intertitial pneumonia in neonatal canine pups with evidence of canine distemper virus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, n. 2, p. 201-204, 2006.

PARK, N.Y. et al., Canine adenovirus type 1 infection of a eurasian river otter (*Lutra lutra*). **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 4, p. 536-539, 2007.

PAY, T.W.F. Infectious canine hepatitis (Hepatitis contagiosa canis [Rubarth]). **Veterinary Record**, v. 62, v. 38, p. 551-558, 1950.

PEDERSEN, A.B.; FENTON, A. Emphasizing the ecology in parasite community ecology. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 3, p.133–139. 2007.

PENSAERT, M.B.; CALLEBAUT, P. The coronaviruses: Clinical and structural aspects with some practical implications. **Annales De Medecine Veterinaire**, v. 122, p. 301-322. 1978.

PEREZ, R.; FRANCIA, L.; ROMERO, V.; MAYA, L. First detection of canine parvovirus type 2c in south America. **Veterinary Microbiology**, v. 124, p.147-152, 2007.

PERLMAN, S.; GALLAGHER, T.; SNIJDER, E.J. Nidoviruses. **The American Society for Microbiology**, Washington, DC, USA, 2008.

PINTO, L.D.; STRECK, A.F.; GONÇALVES, K.R.; SOUZA, C.K.; CORBELLINI, A.O.; CORBELLINI, L.G.; CANAL, C.W. Typing of canine parvovirus strains circulating in Brazil between 2008 and 2010. **Virus Research**, v. 165, p. 29-33, 2012.

PINTO, L.D. **Detecção e caracterização de parvovírus canino e coronavírus canino**. Tese (Doutorado) – Faculdade de medicina veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

PIACESI, T.M.A.; VEADO, J.C.C.; BANDEIRA, C.M.; CARNEIRO, R.A.; VIANA, F.A.B.; VAL BICALHO, A.P. Hepatite infecciosa canina: relato de caso. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 17, n. 3/4, p. 121-128, 2014.

POLLOCK, R.V.H.; CARMICHAEL, L.E. Maternally derived antibody to canine parvovirus: transfer, decline and interference with immunization. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 180(1), p. 37-43. 1982.

POLLOCK, R.V.H.; CARMICHAEL, L.E. Use of modified live feline panleukopenia virus vaccine to immunize dogs against canine parvovirus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44(2), p. 169-175, 1983.

POLLOCK, R.V. The parvoviruses. II. Canine parvovirus. **Compendium on Continuing Education for the Practising**, v. 6(7), p. 653–64, 1984.

POLLOCK, R.V.; CARMICHAEL, L.E. Canine viral enteritis. In: BARLOUGH, J.E. editor. **Manual of small animal infectious diseases**. New York: Churchill Livingstone; p. 101–107, 1988.

POLLOCK, R.V.H.; CARMICHAEL, L.E., Canine viral enteritis. In: GREENE, C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1990, pp. 268–287.

POLLOCK, R.V.H.; COYNE, M.J. Canine Parvovirus. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 555-569, 1993.

PRATELLI, A. et al., Severe enteric in an animal shelter associated with dual infections by canine adenovirus type 1 and canine coronavirus. **Journal Veterinary Medicine B. Infectious diseases and veterinary public health**, v. 48, n. 5, p. 385-392, 2001.

PRATELLI, A.; TINELLI, A.; DECARO, N.; MARTELLA, V.; CAMERO, M.; TEMPESTA, M. et al., Safety and efficacy of a modified-live canine coronavirus vaccine in dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 99, p.43-49, 2004.

PRATELLI, A. Genetic evolution of canine coronavirus and recent advances in prophylaxis. **Veterinary Research**, v. 37, p. 191-200, 2006.

PRATELLI, A. The Evolutionary Processes of Canine Coronaviruses. **Advances in Virology**, Article ID 562831, 10 pages, 2011.

PRINGLE, C.R. Virus taxonomy –. The Universal System of Virus Taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses 1998 (Suplem. 2). **Archives of Virology**, v.144, p.421-429, 1999.

PRITTIE, J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. **Journal Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 14(3), p.167-76, 2004.

RAO, L.; PEREZ, D.; WHITE, E. Lamin proteolysis facilitates nuclear events during apoptosis. **Journal of Cell Biology**, v.135, p.1441 – 1455, 1996.

RAKICH, P.M.; PRASSE, K.W.; LUKERT, P.D.; CORNELIUS, L.M. Immunohistochemical detection of canine adenovirus in paraffin sections of liver. **Veterinary Pathology**, v. 23, n. 4, p. 478-484, 1986.

REKOSH, D.M.; RUSSELL, W.C.; BELLET, A.J.; ROBINSON, A.J. Identification of a protein linked to the ends of adenovirus DNA. **Cell**, v. 11, p. 283 – 295, 1977.

REMOND, M.; BOIREAU, P.; LEBRETON, F. Partial DNA cloning and sequencing of a canine parvovirus vaccine strain: application of nucleic acid hybridization to the diagnosis of canine parvovirus disease. **Archives of Virology**, v. 127, p. 257-269, 1992.

RIDGWAY, P.J.; HALL, A.R.; MYERS, C.J.; BRAITHWAITE, A.W. p53/E1b 58kDa complex regulates adenovirus replication. **Virology**, v. 237, p. 404-413, 1997.

RIMA, B.K.; The proteins of morbilliviruses. **Journal of General Virology**, v. 64, p. 1205-1219, 1983.

RIMMELZWAAN, G.F.; GROEN, J.; EGBERINK, H.; BORST, G.H.; UYTDE-HAAG, F.G.; OSTERHAUS, A.D.; The use of enzyme-linked immunosorbent assay systems for serology and antigen detection in parvovirus, coronavirus and rotavirus infections in dogs in The Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v. 26, p. 25-40, 1991.

RIMMELZWAAN, G.F.; OSTERHAUS, A.D. The immune response. In: PASTORET, P.P. (Ed.), **Veterinary Vaccinology**. Elsevier Science, Amsterdam, 1997. pp. 55-67.

ROHAYEM, J.; BERGER, S.; JURETZEK, T.; HERCHENRÖDER, O.; MOGEL, M.; POPPE, M.; HENKER, J.; RETHWILM, A. A simple and rapid single-step multiplex PCR to detect norovirus, astrovirus and adenovirus in clinical stool samples. **Journal of Virological Methods**, v. 118, p. 49-59, 2004.

RUBARTH, S. An acute virus disease with liver lesion in dogs (hepatitis contagiosa canis). A pathologicoanatomical and etiological investigation. **Acta pathologica et microbiologica scandinavica**, v. 69, p. 222. 1947.

RUBIO, R.M.; MORA, S.I.; ROMERO, P.; ARIAS, C.F.; LÓPEZ, S. Rotavirus prevents the expression of host responses by blocking the nucleocytoplasmic transport of polyadenylated mRNAs.. **Journal of Virology**, v. 87 (11), p. 6336-6345. 2013.

RUSSELL, W.C. Update on adenovirus and its vectors. **Journal of General Virology**, v. 81, p. 2573-2604, 2000.

SAITO, T.B.; ALFIERI, A.; WOSIACKI, S.; NEGRÃO, F.; MORAIS, H.; ALFIERI, A. Detection of canine distemper virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. **Research in Veterinary Science**, v. 80, p. 116-119, 2006.

SCHULTZ, R.D. Current and future canine and feline vaccination programs. **Veterinary Medicine**, v. 93, n. 3, p. 233-254, 1998.



SHIN, Y.; MORI, T.; OKITA, M.; GEMMA, T.; KAI, C.; MIKAMI, T. Detection of canine distemper virus nucleocapsid protein gene in canine peripheral blood mononuclear cells by RT-PCR. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 57, p. 439–445, 1995.

SIMON-MARTÍNEZ, J. et al., Identification of a genetic variant of canine distemper virus from clinical cases in two vaccinated dogs in Mexico. **Veterinary Journal**, v. 175, n. 3, p. 423-426, 2008.

SCHOEHN, G.; EL BAKKOURI, M.; FABRY, C.M.; BILLET, O.; ESTROZI, L.F.; LE, L.; CUIEL, D.T.; KAJAVA, A.V.; RUIGROK, R.W.; KREMER, E.J. 3D structure of canine adenovirus serotype 2 capsid. **Journal of Virology**, v. 82, p. 3192–3203, 2008.

SCHULTZ, R.D. The effects of aging on the immune system. In: **Proceedings of the 33rd Gaines Symposium on Canine Geriatrics**, Vol. 6, p. 12, 1984.

SCHULTZ, R.D.; CONKLIN, S. The immune system and vaccines. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v. 20, p. 5–18, 1998.

SCHULTZ, R.D. Current and future canine and feline vaccination programs. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 93, p. 233–254, 1998.

SCHULTZ, R.D. Veterinary Vaccines and Diagnostics Chap. IV Canine and Feline Vaccines, (Ed.), **Advances in Veterinary Medicine**, vol. 41. Academic Press, San Diego, 1999, pp. 289–358.

SCHULTZ, R.D. Duration of immunity to canine vaccines: what we know and don't know. In: **Proceedings canine infectious diseases: from clinics to molecular pathogenesis**, Cornell University, 1999b. p. 22.

SCHULTZ, R.D. Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. **Veterinary Microbiology**, v.117, p.75 – 79, 2006.

SCHULZ, B.S.; STRAUCH, C.; MUELLER, R.S.; EICHHORN, W.; HARTMANN, K. Comparison of the prevalence of enteric viruses in healthy dogs and those with acute haemorrhagic diarrhoea by electron microscopy. **Journal of Small Animal Practice**, v. 49, p. 84–88. 2008.

SMITH-CARR, S.; MACINTIRE, D.K.; SWANGO, L.J. Canine parvovirus. Part I. Pathogenesis and vaccination. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v.19 (2), p. 125–33, 1997.

SONNE, L.; OLIVEIRA, E.C.; PESCADOR, C.A.; SANTOS, A.S.; PAVARINI, S.P.; CARISSIMI, A.S.; DRIEMEIER, D. Pathologic and immunohistochemistry findings in dogs naturally infected by canine distemper virus. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p. 143-149, 2009.

STALKER, M.J.; HAYES, M.A. The liver and biliary system. In: JUBB, K.F.V. et al., **Pathology of Domestic Animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, v. 2, n. 8, p. 348-351, 2007.

STRECK, A.F.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R.; ZANG, L.; PINTO, L.D.; CANAL, C.W. First detection of canine parvovirus type 2c in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 465-469, 2009.

SIDDELL, S.; WEGE, H.; TER MEULEN, V. The biology of coronaviruses. **Journal of General Virology**, v. 64, p. 761- 776, 1983.

SILVA, M.C. et al., Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 5, p. 215-220, 2007.

SILVESTRI, L.S.; TARAPOREWALA, Z.F.; PATTON, J.T. Rotavirus replication: plus-sense templates for double-stranded RNA synthesis are made in viroplasms. **Journal of Virology**, v. 78(14), p. 7763–7774, 2004.

SUMMERS, B.A.; APPEL, M.J. Aspects of canine distemper virus and measles virus encephalomyelitis. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 20, p. 525-534, 1994.

SUMMERS, B.A.; GREISEN, H.A.; APPEL, M.J.G. Early Events in Canine Distemper Demyelinating Encephalomyelitis. **Acta Neuropathologica**, v.46, p. 1-10, 1979.

SUMMERS, B.A.; GREISEN, H.A.; APPEL, M.J.G. Canine distemper encephalomyelitis: variation with virus strain. **Journal of Comparative Pathology**, v. 94, p. 65-75, 1984.

SWANGO, L.J. Moléstias virais caninas, p. 573-588. In: ETTINGER, S.J; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo: Manole, p. 3020, 1997.

TAMS, T.R. Coronavírus In: **Gastrenterologia de pequenos animais**. p. 199-200, Editora ROCA, São Paulo, p. 472, 2005.

TANIGUCHI, K.; URUSAWA, T.; URASAWA, S. Species specificity and interspecies relatedness in VP4 genotypes demonstrated by VP4 sequence analysis of equine, feline and canine rotavirus strains. **Virology**, v. 200, p. 390–400, 1994.

TATTERSALL, P.; BERGOIN, M.; BLOOM, M.E.; BROWN, K.E.; LINDEN, R.M.; MUZYCZKA, N.; PARRISH, C.R.; TIJSSEN, P. Family Parvoviridae. In: FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. (Eds.), **Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier Academic Press, 2005.

TAYLOR, J.A.; O'BRIEN, J.A.; YEAGER, M. The cytoplasmic tail of NSP4, the endo-plasmic reticulum-localized non-structural glycoprotein of rotavirus, contains distinct virus binding and coiled coil domains. **EMBO Journal**, v. 15 (17), p. 4469–4476, 1996.

TENNANT, B.J.; GASKELL, R.M.; KELLY, D.F.; CARTER, S.D.; GASKELL, C.J. Canine coronavirus infection in the dog following oronasal inoculation. **Research in Veterinary Science**, v. 51, p. 11-18, 1991.

TENNANT, B.J.; GASKELL, R.M.; JONES, R.C.; GASKELL, C.J. Studies on the epizootiology of canine coronavirus. **Veterinary Record**, v. 132, p. 7–11, 1993.

TENNANT, B.J.; GASKELL, R.M.; GASKELL, C.J. A. Studies on the survival of canine coronavirus under different environmental conditions. **Veterinary Microbiology**, v. 42, p. 255-259, 1994.

TIPOLD, A.; VANDELVELDE, M.; JAGGY, A. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. **Journal of Small Animal Practice**, v. 33, n. 10, 1992.

TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. **Consulta Veterinaria em 5 Minutos**: Espécies canina e Felina. 3 ed. Barueri: Manole, 2008, p. 1550.

TOLLEFSON, A.E.; RYERSE, J.S.; SCARIA, A.; HERMISTON, T.W.; WOLD, W.S. The E3-11±6-kDa adenovirus death protein (ADP) is required for efficient cell death: characterization of cells infected with adpmutants. **Virology**, v. 220, p. 152-162, 1996.

TOMKO, R.P.; XU, R.; PHILIPSON, L. HCAR and MCAR: the human and mouse cellular receptors for subgroup C adenoviruses and group B coxsackie viruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences. USA**, v.94, p. 3352-3356, 1997.

TRASK, S.D.; DORMITZER, P.R. Assembly of highly infectious rotavirus particles recoated with recombinant outer capsid proteins. **Journal of Virology**, v. 80 (22), p. 11293–11304, 2006.

TRUYEN, U. Evolution of canine parvovirus-A need for new vaccines? **Veterinary Microbiology**, v. 177, p. 9-13, 2006.

TURK, J.; MILLER, M.; BROWN, T. et al., Coliform septicemia and pulmonary disease associated with canine parvoviral enteritis: 88 cases (1987-1988). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196(5), p. 771–773. 1990.

TWARK, L.; DODDS, W.J. Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titres for determining revaccination strategies in healthy dogs. **Journal of the American veterinary Medical Association**, v. 217(7), p. 1021-1024, 2000.

VIEIRA, M.J.; SILVA, E.; OLIVEIRA, J.; VIEIRA, A.L.; DECARO, N.; DESARIO, C.; MULLER, A.; CARVALHEIRA, J.; BUONAVOGLIA, C.; THOMPSON, G. Canine parvovirus 2c infection in central Portugal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.20, p. 488-491, 2008

VANDEVELDE, M.; ZUBRIGGEN, A. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. **Acta Neuropathologica**, v. 109, n. 1, p. 56-68, 2005.

VAN DE BILDT, M.W.G.; KUIKEN, T.; VISEE, A.M.; LEMA, S.; FITZJOHN, T.R.; OSTERHAUS, A.D.M.E. Distemper outbreak and its effect on African wild dog conservation. **Emerging Infectious Disease Journal**, v.8, p. 211-213, 2002.

VAN REGENMORTEL, M.H.V.; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L. Virus taxonomy: The classification and nomenclature of viruses. **Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**, Academic Press, San Diego, p. 1167, 2000.

VAN MOLL, P. et al., Distemper in wild carnivores: an epidemiological histological and immunocytochemical study. **Veterinary Microbiology**, v. 44, n. 2-4, p. 193-199, 1995.

VELLINGA, J.; VAN DER HEIJDT, S.; HOEBEN, R.C. The adenovirus capsid: major progress in minor proteins. **Journal of General Virology**, v. 86, p. 1581–1588, 2005.

VOLLMER, C.M.; RIBAS, A.; BUTTERFIELD, L.H.; DISSETTE, V.B.; ANDREWS, K.J.; EILBER, F.C.; MONTEJO, L.D.; CHEN, A.Y.; HU, B.; GLASPY, J.A.; MCBRIDE, W.H.; ECONOMOU, J.S. p53 selective and nonselective replication of an E1B-deleted adenovirus in hepatocellular carcinoma. **Cancer Research**, v. 59, p. 4369 – 4374, 1999.

WANER, T.; NAVEH, A.; WUDOVSKY, I. et al., Assessment of maternal antibody decay and response to canine parvovirus vaccination using a clinic-based enzymelinked immunosorbent assay. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8(4), p. 427–32. 1996.

WANG, Y.; MA, G.; LU, C.; WEN, H. Detection of canine coronaviruses genotype I and II in raised Canidae animals in China. **Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift**, v. 119, p. 35–39, 2006.

WEIGEL, S.; DOBBELSTEIN, M. The nuclear export signal within the E4orf6 protein of adenovirus type 5 supports virus replication and cytoplasmic accumulation of viral mRNA. **Journal of Virology**, v. 74, p. 764-772, 2000.

WOODE, G.N.; BRIDGER, J.; HALL, G.A.; JONES, J.M.; JACKSON, G. The isolation of reovirus-like agents (rotaviruses) from acute gastroenteritis of piglets. **Journal of medical Microbiology**, v. 9, p. 203-209, 1976.

WOODS, L.W. et al., Lesions and transmission of experimental adenovirus hemorrhagic disease in black-tailed deer fawns. **Veterinary Pathology**, v. 36, n. 2, p. 100-110, 1999.

WILKES, R.P.; TSAI, Y.L.; LEE, P.Y.; LEE, F.C.; CHANG, H.F.; WANG, H.T. Rapid and sensitive detection of canine distemper virus by one-tube reverse transcription-insulated isothermal polymerase chain reaction. **BMC Veterinary Research**, v. 10, p. 213, 2014.

WRIGHT, N.G. Canine adenovirus: its role in renal and ocular disease: a review **Journal of Small Animal Practice**, v. 17, p. 25–33, 1976.

WU, F.T.; BÁNYAI, K.; LIN, J.S.; WU, H.S.; HSIUNG, C.A.; HUANG, Y.C.; HWANG, K. P.; JIANG, B.; GENTSCH, J.R. Putative canine origin of rotavirus strain detected in a child with diarrhea, Taiwan. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v. 12(2), p. 170-173, 2012.

YEŞILBAĞET, K.; YILMAZ, Z.; TORUN, S.; PRATELLI, A. Canine coronavirus infection in Turkish dog population. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 51, p. 353–355, 2004.

YU, C.L.; CHUEH, L.L.; CHEN, H.C.; LIU, C.H. The detection of dural infection of canine distemper virus and canine adenovirus by histopathology and polymerase chain reaction. **Journal of the Chinese Society of Veterinary Science**, v. 27, p. 288-294, 2001.

YUN, J.; CHAE, H.D.; CHOY, H.E.; CHUNG, J.; YOO, H.S.; HAN, M.H.; SHIN, D.Y. p53 negatively regulates cdc2 transcription via the CCAAT-binding NF-Y transcription factor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, p. 29677-29682, 1999.

ZAPULLI, V.; CALIARI, D.; CAVICCHIOLI, L.; TINELLI, A.; CASTAGNARO, M. Systemic fatal type II coronavirus infection in a dog: pathological findings and immunohistochemistry, **Research in Veterinary Science**, v. 84, p. 278-282, 2008.