

Aspectos anatomopatológicos e imuno-histoquímicos de cinomose em graxains

Anatomopathological and Immunohistochemical Aspects of Distemper Virus in Crab-Eating-Foxes and Pampa-Foxes

Mônica Slaviero¹, Luiza Presser Ehlers¹, Cíntia De Lorenzo¹, Bruna Zafalon-Silva², David Driemeier¹, Saulo Petinatti Pavarini¹, Marcelo Meller Alievi² & Luciana Sonne¹

ABSTRACT

Background: Distemper is a contagious disease with worldwide distribution, which is caused by a single-stranded RNA virus of the genus *Morbillivirus*. The Crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) and the Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*), wild canids commonly found in the state of Rio Grande do Sul, are highly susceptible to the disease. Distemper virus infection often shows a multisystemic presentation. Central nervous system lesions are frequently reported, and may lead to death of wild canids. Distemper virus infection affecting these species has been cited by several studies; nonetheless, case descriptions involving the Crab-eating fox and the Pampas fox are infrequent. Therefore, the objective of the present study is to describe the anatomopathological and immunohistochemical aspects of distemper in the referred species, aiming to assist with the diagnosis of the disease.

Materials, Methods & Results: A retrospective study was performed, and the necropsy reports of Crab-eating foxes and Pampas foxes admitted to SPV-UFRGS from 2010 to 2016 were reviewed. Necropsy reports were revised in order to obtain information related to the clinical history and anatomopathological findings, and cases compatible with distemper were selected. Data regarding the affected species, sex, approximate age, origin and clinical signs were compiled and analyzed. Selected histological sections of brain and cerebellum were submitted for immunohistochemistry (IHC) for monoclonal antibody canine distemper virus. In the studied period, 20 animals of the referred species were subjected to necropsy, of which four were diagnosed with distemper as a cause of death. Of the affected animals, two were female and two were male. Three were juvenile and one was an adult animal. Clinical signs reported included myoclonia, opisthotonos, forelimb paresis and nystagmus. No significant gross changes were noted. Histopathological findings were restricted to the central nervous system, especially in the cerebellum, and the main lesion was demyelination, as well as gemistocytic astrocytes, malacia with Gitter cells, gliosis and perivascular cuffing. Inclusion bodies were observed in only one case. Diffuse and marked viral antigen positive immunostaining was detected, mainly in the cytoplasm of astrocytes, predominantly in the cerebellum.

Discussion: The diagnosis of distemper affecting the Crab-eating fox and Pampas fox was based on the clinical and histopathological findings, along with viral antigen identification through immunohistochemistry. Clinical signs were restricted to the central nervous system and were associated with the affected area. Significant gross changes in the central nervous system were not observed, similarly to what has been described by other authors. The main histological lesion was demyelination in the cerebellum, which is in agreement with previous reports in wild canids. Similarly to the findings reported in dogs and mustelids, positive immunostaining was observed mainly in the cytoplasm of astrocytes in the cerebellum; however, in our cases diffuse marked staining was noted. Although some authors have reported that viral antigens disappear in demyelinating lesions, due to the inflammation associated with the host immune response, the opposite was observed in the present study, suggesting viral persistency linked to a weak immune response in these species. The clinical and pathological changes observed were compatible with the neurologic phase of distemper; therefore, it is important to include this agent among the differential diagnosis in the referred wild canids, mainly in animals presenting neurological signs. Immunohistochemical evaluation was important to the establishment of postmortem diagnosis of distemper, since characteristic viral inclusion bodies were rarely observed through histopathology.

Keywords: distemper virus, encephalitis, crab-eating fox, pampas fox, histopathology.

Descritores: virus da cinomose, encefalite, graxaim-do-mato, graxaim-do-campo, histopatologia.

DOI: 10.22456/1679-9216.90120

Received: 10 August 2018

Accepted: 26 January 2019

Published: 10 February 2019

¹Setor de Patologia Veterinária (SPV) & ²Núcleo de Conservação e Reabilitação de Animais Silvestres (PRESERVAS), Faculdade de Veterinária (FaVet), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil. CORRESPONDENCE: L. Sonne [lusonne@yahoo.com.br - Tel.: +55 (51) 3308-6107]. Avenida Bento Gonçalves n. 9090. Bairro Agronomia. CEP 91540-000 Porto Alegre, RS, Brazil.

INTRODUÇÃO

A cinomose é uma doença viral de distribuição mundial, altamente contagiosa, causada por um vírus RNA de fita simples pertencente à família Paramyxoviridae e ao gênero *Morbillivirus* [1]. Pode acometer diversas espécies das ordens Carnivora, Rodentia, Artiodactyla, Proboscidea e Primatas, e os canídeos são muito importantes na epidemiologia da doença [12,18]. O graxaim-do-mato (*Cerdocyon thous*) e o graxaim-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*) são canídeos selvagens amplamente encontrados no Rio Grande do Sul e que possuem grande suscetibilidade à doença [5,12,25]. A cinomose possui frequentemente uma apresentação multissistêmica, muitas vezes com acometimento do sistema nervoso central (SNC), podendo acarretar mortalidade em canídeos selvagens [3,4,19]. O diagnóstico da infecção é muitas vezes difícil e baseia-se inicialmente no histórico e nos sinais clínicos observados. Isolamento viral, imunofluorescência direta e reação em cadeia de polimerase (PCR) podem ser utilizados no diagnóstico complementar, e o diagnóstico definitivo *post-mortem* é realizado por meio de exame histopatológico e imuno-histoquímico [1,16].

A infecção pelo vírus da cinomose em canídeos selvagens é citada por diversos estudos [1,4,6,21,28,31,32], porém estudos específicos de graxains ainda são infrequentes [7,11,20]. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é descrever os aspectos anatomopatológicos e imuno-histoquímicos de cinomose nestas espécies visando auxiliar no diagnóstico da doença.

MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se um estudo retrospectivo entre o período de 2010 a 2016 referente às necropsias de graxains realizadas no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS).

Os livros de registro foram revisados e os casos foram analisados em relação ao histórico e lesões anatomopatológicas selecionando-se diagnósticos compatíveis com infecção natural pelo vírus da cinomose em graxains.

As alterações macroscópicas foram revisadas através do arquivo documentado de necropsia e as lâminas histológicas coradas rotineiramente em hematoxilina e eosina foram reavaliadas. Dados referentes à espécie, sexo, idade aproximada, procedência e sinais clínicos foram compilados e posteriormente analisados.

Cortes histológicos de cérebro e cerebelo foram selecionados para a realização da técnica de imuno-histoquímica (IHQ) pelo método de polímero universal marcado com peroxidase (MACH 4 Universal HRP-Polymer - Biocare Medical)¹. Para a recuperação antigênica foi utilizado calor em tampão citrato (pH 6,0) por 3 ciclos de 5 minutos cada em forno micro-ondas. Utilizou-se anticorpo primário monoclonal anti-cinomose (Canine Distemper Virus MAb)² na diluição de 1:400 e para revelar utilizou-se o cromógeno 3-amino-9-etilcarbazol (AEC) (AEC Substrate-Chromogen)³ [27].

Controles positivos foram inseridos simultaneamente com as lâminas testadas, consistindo de casos em cães domésticos positivos para cinomose anteriormente testados (cortes histológicos de estômago e bexiga).

RESULTADOS

Durante o período do estudo, foram submetidos ao exame de necropsia 20 graxains: 18 graxains-do-mato (*Cerdocyon thous*) e dois graxains-do-campo (*Lycalopex gymnocercus*). Destes, quatro (20%) apresentavam o diagnóstico de cinomose como causa da morte a partir de exame histopatológico. Três animais (75%) pertenciam à espécie *C. thous* e um (25%) à espécie *L. gymnocercus*. Dois (50%) eram fêmeas e dois (50%) eram machos e três foram classificados como jovens (75%) e um (25%) como adulto.

Os graxains eram provenientes de áreas urbanas ou periurbanas da região metropolitana de Porto Alegre e foram atendidos pelo Núcleo de Conservação e Reabilitação de Animais Silvestres (PRESERVAS) do Hospital de Clínicas Veterinárias. Conforme informações fornecidas nas fichas clínicas, todos os graxains apresentavam sinais clínicos exclusivamente neurológicos e estes correspondiam a mioclonia (75%), opistótono (50%), paresia em membros torácicos (50%) e nistagmo (25%). Macroscopicamente visualizou-se caquexia, mucosas oral e ocular pálidas e acentuada infestação por carrapatos (*Amblyomma aureolatum*). Observou-se ainda moderada hiperemia dos vasos das leptomeninges em um dos graxains. Não foram observadas alterações macroscópicas em outros órgãos.

Os achados histopatológicos foram restritos ao sistema nervoso central, principalmente em cerebelo, onde a principal lesão observada foi desmielinização

(4/4), caracterizada por vacuolização moderada a acentuada multifocal a coalescente predominantemente em substância branca (Figura 1A), além de astrócitos gemistocíticos (4/4), malacia com grande quantidade de células de gitter (2/4) (Figura 1B) e gliose nodular (2/4). Visualizou-se ainda no cerebelo, tálamo e ocasionalmente no córtex telencefálico áreas multifocais discretas de manguitos perivasculars linfoplasmocitários (4/4). Apenas em um graxaim pode-se identificar raros corpúsculos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos eosinofílicos em astrócitos característicos do vírus da cinomose.

Na imuno-histoquímica, em todos os casos houve marcação do antígeno viral de forma difusa e acentuada (Figura 1C), a qual era visualizada principalmente no citoplasma de astrócitos (Figura 1D), predominantemente em cerebelo e menos frequentemente no tálamo dos graxains analisados. Em região de córtex telencefálico foi observada fraca marcação ou ausência total de marcação.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de cinomose nos graxains deste estudo baseou-se nos achados clínicos e histopatológicos associados à identificação do antígeno viral por meio da técnica de imuno-histoquímica. Em todos os casos houve acometimento do sistema nervoso central (SNC), onde foram identificadas alterações clínicas e patológicas compatíveis com a fase neurológica da cinomose [9,26] e por isso é importante que nessas espécies a cinomose seja diferenciada de outras doenças que cursem com manifestações neurológicas, como a raiva [6].

Em relação à procedência, todos os graxains eram provenientes de áreas urbanas ou periurbanas da região metropolitana de Porto Alegre. O aumento do processo de urbanização aumenta potencialmente o contato entre carnívoros selvagens e domésticos, facilitando a transmissão da cinomose entre eles, principalmente considerando que essas espécies são

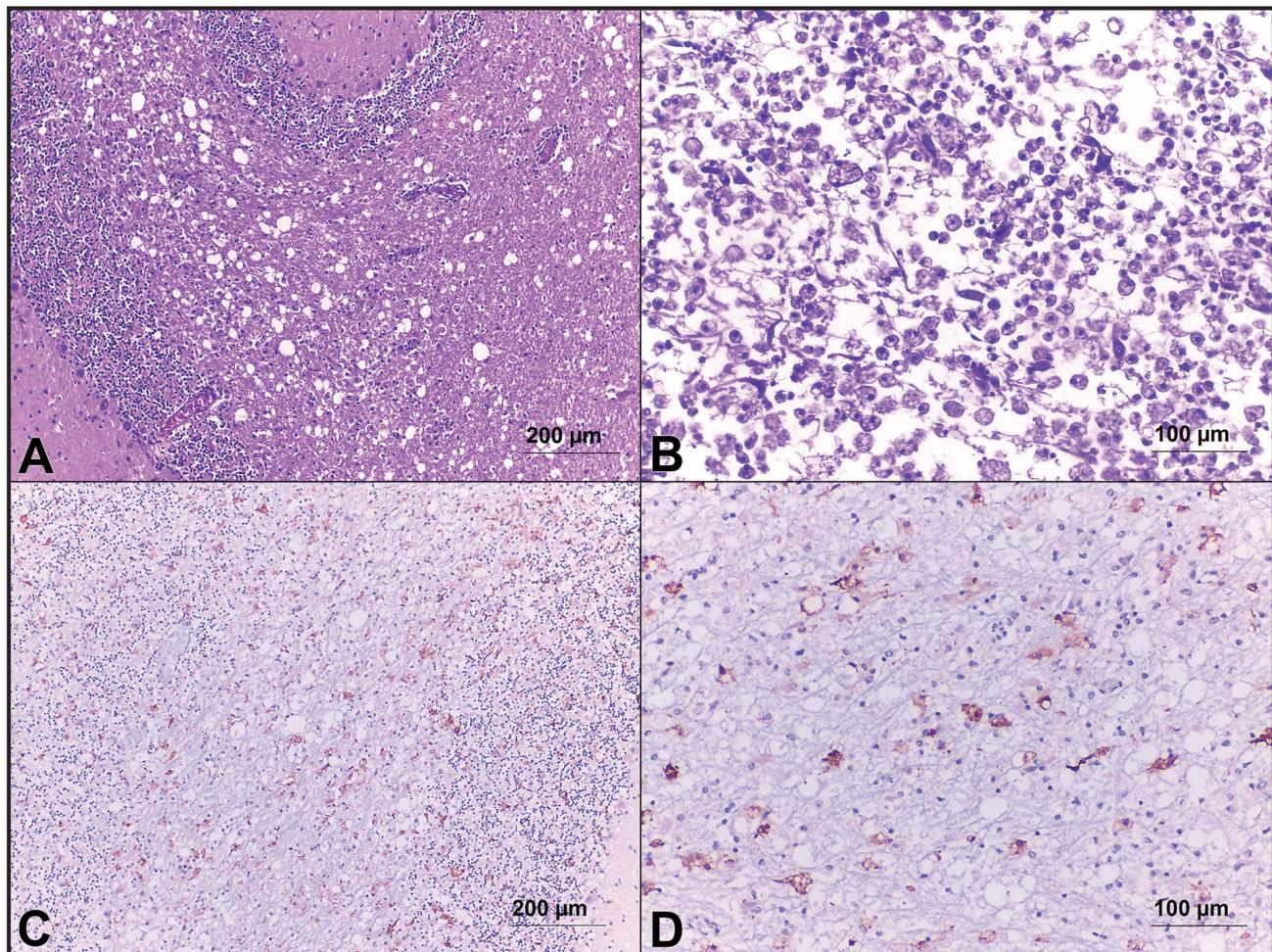


Figura 1. Encefalite pelo vírus da cinomose em graxains. A- Cerebelo. Acentuada desmielinização em substância branca associada a manguitos perivasculars linfoplasmocitários [HE; Barra= 200 µm]. B- Cerebelo. Área focal de necrose associada a abundante quantidade de células de gitter [HE; Barra= 100 µm]. C- Cerebelo. Marcação acentuada e difusa do antígeno viral em substância branca pela técnica de imuno-histoquímica [IHQ-cromógeno AEC; Barra= 200 µm]. D- Cerebelo. Marcação do antígeno viral evidenciada no citoplasma de astrócitos [IHQ-cromógeno AEC; Barra= 100 µm].

filogeneticamente semelhantes entre si [2]. Estudos anteriores já demonstraram por meio de análise filogenética que o vírus da cinomose encontrado em carnívoros selvagens é geneticamente relacionado ao vírus encontrado em animais domésticos [2,8,20].

Três graxains eram jovens, o que corrobora com estudos realizados em cães, nos quais foi demonstrada maior ocorrência de cinomose em animais jovens [9,27]. Importantes fatores que contribuem para a maior prevalência de cinomose em cães jovens é a imaturidade do sistema imunológico e ausência de vacinação [15], o que também pode se aplicar aos graxains desse estudo. Em relação ao sexo, não foi observada diferença entre machos e fêmeas, semelhante ao relatado em cães, onde não é comprovada nenhuma predisposição sexual [9].

Os sinais clínicos observados estão relacionados unicamente ao acometimento do SNC e incluíam mio-clonia, paresia, opistótono e nistagmo, diferentemente do que é mais comumente descrito em cães domésticos. Embora cães possam desenvolver exclusivamente sinais neurológicos [14], é mais frequente a ocorrência de sinais clínicos simultâneos característicos de acometimento de outros sistemas, principalmente respiratório, gastrointestinal e tegumentar [1,6,9]. Os sinais clínicos podem sofrer grande variação e são influenciados pelo tipo de cepa viral, condições ambientais, idade do hospedeiro e *status* imune [13]. Os sinais neurológicos da infecção pelo vírus da cinomose geralmente estão relacionados com a região do SNC afetada e por isso podem ser muito variáveis [9].

Lesões macroscópicas no SNC em animais infectados pelo vírus da cinomose não são frequentemente encontradas [26], embora a literatura cite que possa ocasionalmente ocorrer dilatação ventricular, edema cerebral e congestão das meninges [9]. Nesse trabalho observou-se em um dos animais moderada congestão dos vasos das leptomeninges.

Em todos os casos identificaram-se lesões histopatológicas compatíveis com um quadro de encefalite não supurativa desmielinizante, onde a principal lesão encontrada foi desmielinização, assim como descrito em outros carnívoros selvagens [6,7,23,24,31]. Diferentemente do que já foi relatado em graxaim-do-mato [20], no qual foi citado a ocorrência de pneumomia intersticial e necrose em tecidos linfóides concomitante com alterações neurológicas, as alterações histopatoló-

gicas observadas neste trabalho foram unicamente no SNC, o que relaciona-se aos sinais clínicos observados.

Na cinomose as lesões desmielinizantes são identificadas frequentemente no cerebelo [13,23,26], assim como foi observado no presente estudo. Concomitante à desmielinização observou-se também no cerebelo manguitos perivasculares linfoplasmocitários, áreas de necrose associadas a grande quantidade de células de gitter, áreas multifocais de gliose, astrócitos gemistocíticos e raros corpúsculos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos eosinofílicos em astrócitos, semelhante ao descrito anteriormente por outros autores [20,31].

Desmielinização em substância branca multifocal a difusa é a lesão mais característica no SNC de infecção pelo vírus da cinomose [13,17] e ocorre tanto na fase aguda como na fase crônica da doença. Na fase aguda a desmielinização ocorre sem sinais de inflamação [29], e está relacionada com a redução da síntese de mielina pela ação direta do vírus sobre oligodendrócitos e pela ativação de células microgliais [30]. Já na fase crônica a desmielinização está associada à inflamação, normalmente com ocorrência de manguitos perivasculares [17,30], conforme observado neste estudo. A reação inflamatória nas lesões desmielinizantes pode levar à progressão do dano tecidual, e muitas vezes há necrose associada [29,30], o que também foi observado nos graxains deste trabalho. A desmielinização nesta fase é atribuída a mecanismos imunológicos, onde anticorpos anti-cinomose podem estimular macrófagos com secreção de radicais livres de oxigênio, os quais são altamente tóxicos para os oligodendrócitos [10]. Embora corpúsculos de inclusão estejam frequentemente relacionados com a fase aguda da doença [14,31], Pope *et al.* [24] sugerem que não há relação do corpúsculo com a fase da doença, o que pode explicar a presença de corpúsculos de inclusão concomitante às lesões inflamatórias e de necrose neste trabalho.

O antígeno viral foi identificado pela técnica imuno-histoquímica principalmente no citoplasma de astrócitos no cerebelo, de maneira acentuada, e menos frequentemente no cérebro dos graxains analisados. Resultados semelhantes foram descritos em mustelídeos [31] e em cães domésticos [27], nos quais a marcação foi observada principalmente em astrócitos, neurônios, células da microglia, endotélio vascular e em células adjacentes a leptomeninges. Estudos em

cães domésticos relatam que na maior parte dos casos o antígeno viral desaparece de lesões desmielinizantes associadas à inflamação devido às respostas imunes do hospedeiro [14,22]. O contrário foi observado nos graxains estudo, onde o antígeno viral foi identificado pela técnica de imuno-histoquímica mesmo em áreas de inflamação e necrose, sugerindo uma persistência viral por uma fraca resposta imune nestas espécies.

CONCLUSÃO

Em nosso estudo as alterações clínicas e patológicas observadas em graxains com cinomose foram compatíveis com a fase neurológica da doença, por isso a importância de incluir este agente nos diagnósticos diferenciais de graxains que apresentem sinais neurológicos.

Alterações macroscópicas significativas não foram visualizadas, o que torna a realização de exame histopatológico fundamental para o diagnóstico *post-mortem* da doença. A principal lesão microscópica encontrada foi desmielinização da substância branca,

principalmente em cerebelo, frequentemente associada a manguitos perivasculares.

O antígeno viral foi facilmente identificado no SNC, de modo acentuado, pela técnica imuno-histoquímica, a qual mostrou ser um bom método auxiliar para o diagnóstico *post-mortem* de cinomose em graxains, uma vez que corpúsculos de inclusão característicos do vírus nem sempre são observados na histopatologia. O cerebelo demonstrou ser um importante tecido de escolha para a detecção do vírus da cinomose pela técnica de imuno-histoquímica.

MANUFACTURERS

¹Biocare Medical. Pacheco, CA, USA.

²VMRD Veterinary Medical Research & Development. Pullman, WA, USA.

³Dako North America. Carpinteria, CA, USA.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

REFERENCES

- 1 Appel M.J.G. & Summers B.A. 1995. Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores. *Veterinary Microbiology*. 44(2):187-191.
- 2 Cleaveland S., Appel M.G.J., Chalmers W.S.K., Chillingworth C., Kaare M. & Dyea C. 2000. Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. *Veterinary Microbiology*. 72: 217-227.
- 3 Creel S. & Creel N.M. 1998. Six ecological factors that may limit African wild dogs, *Lycaon pictus*. *Animal Conservation*. 1: 1-9.
- 4 Davidson W.R., Nettles V.F., Hayes L.E., Howerth E.W. & Couvillion C.E. 1992. Diseases diagnosed in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) from the southeastern United States. *Journal of Wildlife Diseases*. 28(1): 28-33.
- 5 De Mello Beisiegel B., Lemos F.G., de Azevedo F.C., Queirolo D. & Pinto R.S. 2013. Avaliação do risco de extinção do Cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*. 1: 138-145.
- 6 Deem S.L., Spelman L.H., Yates R.A. & Montali R.J. 2000. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 31(4): 441-451.
- 7 Ferreyra H., Calderón M.G., Marticorena D.N., Marull C. & Leonardo B.C. 2009. Canine distemper infection in crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from Argentina. *Journal of Wildlife Diseases*. 45(4): 1158-1162.
- 8 Frölich K., Czupalla O., Haas L., Hentschke J., Dedek J. & Fickel J. 2000. Epizootiological investigations of canine distemper virus in free-ranging carnivores from Germany. *Veterinary Microbiology*. 74(4): 283-292.
- 9 Greene C.E. & Vandeveld M. 2012. Canine Distemper. In: Greene C.E. (Ed). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th edn. St. Louis: Elsevier, pp.25-42.
- 10 Griot C., Vandeveld M., Richard A. & Peterhansm E. 1990. Selective degeneration of oligodendrocytes mediated by reactive oxygen species. *Free Radical Research Communications*. 11(4-5): 181-193.
- 11 Hübner S.D.O., Pappen F.G., Ruas J.L., Vargas G.D.A., Fischer G. & Vidor T. 2010. Exposure of pampas fox (*Pseudalopex gymnocercus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from the Southern region of Brazil to Canine distemper virus (CDV), Canine parvovirus (CPV) and Canine coronavirus (CCoV). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 53(3): 593-597.

- 12 Jorge R.S.P. & Jorge M.L.S.P. 2014. Carnívora (Cachorro-do-mato, Cachorro-vinagre, Lobo-guará e Raposa-do-campo). In: Cubas Z.S., Silva J.C.R., Catão-Dias J.L. (Eds). *Tratado de Animais Selvagens*. 2.ed. São Paulo: Roca, pp.764-778.
- 13 Keel M.K., Terio K.A. & McAloose D. 2018. Canidae, Ursidae and Ailuridae. In: Terio K., McAloose D. & St. Leger J. (Eds). *Pathology of Wildlife and Zoo Animals*. San Diego: Elsevier, pp.229-261.
- 14 Koutinas A.F., Polizopoulou Z.S., Baumgaertner W., Lekkas S. & Kontos V. 2002. Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. *Journal of Comparative Pathology*. 126(1): 47-56.
- 15 Krakowka S. & Koestner A. 1976. Age-related susceptibility to infection with canine distemper virus in gnotobiotic dogs. *Journal of Infectious Diseases*. 134(6): 629-632.
- 16 Loots A.K., Mitchell E., Dalton D.L., Kotzé A. & Venter E.H. 2017. Advances in canine distemper virus pathogenesis research: a wildlife perspective. *Journal of General Virology*. 98(3): 311-321.
- 17 Martella V., Elia G. & Buonavoglia C. 2008. Canine distemper virus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 38(4): 787-797.
- 18 Martinez-Gutierrez M. & Ruiz-Saenz J. 2016. Diversity of susceptible hosts in canine distemper virus infection: a systematic review and data synthesis. *BMC Veterinary Research*. 12(1): 78.
- 19 McInnes E.F., Burroughs R.E.J. & Duncan N.M. 1992. Possible vaccine-induced canine distemper in a South American bush dog (*Speothos venaticus*). *Journal of Wildlife Diseases*. 28(4): 614-617.
- 20 Megid J., de Souza V.A.F., Teixeira C.R., Cortez A., Amorin R. L., Heinemann M. B., Cagnini D.Q. & Richtzenhain L.J. 2009. Canine distemper virus in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Brazil: case report and phylogenetic analyses. *Journal of Wildlife Diseases*. 45(2): 527-530.
- 21 Megid J., Teixeira C.R., Amorin R.L., Cortez A., Heinemann M.B., de Paula Antunes J.M.A., da Costa L.F., Fornazari F., Cipriano J.R.B., Cremasco A. & Richtzenhain L.J. 2010. First identification of canine distemper virus in hoary fox (*Lycalopex vetulus*): pathologic aspects and virus phylogeny. *Journal of Wildlife Diseases*. 46(1): 303-305.
- 22 Müller C.F., Fatzner R. S., Beck K., Vandeveld M. & Zurbriggen A. 1995. Studies on canine distemper virus persistence in the central nervous system. *Acta Neuropathologica*. 89(5): 438-445.
- 23 Origi F.C., Plattet P., Sattler U., Robert N., Casaubon J., Mavrot F., Pewsner M., Wu N., Giovannini S., Oevermann A., Stoffel M.H., Gaschen V., Segner H. & Ryser-Degiorgis M.P. 2012. Emergence of canine distemper virus strains with modified molecular signature and enhanced neuronal tropism leading to high mortality in wild carnivores. *Veterinary Pathology*. 49(6): 913-929.
- 24 Pope J.P., Miller D.L., Riley M.C., Anis E. & Wilkes R.P. 2016. Characterization of a novel canine distemper virus causing disease in wildlife. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 28(5): 506-513.
- 25 Queirolo D., Kasper C.B. & de Mello Beisiegel B. 2013. Avaliação do risco de extinção do graxaim-do-campo *Lycalopex gymnocercus* (G. Fischer, 1814) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*. 1: 172-178.
- 26 Silva M.C., Figuera R.A., Mazzanti A., Brum J.S., Pierezan F. & Barros C.S. 2009. Neuropatologia da cinomose canina: 70 casos (2005-2008). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(8): 643-652.
- 27 Sonne L., Oliveira E.C.D., Pescador C.A., Santos A.D.S., Pavarini S.P., Carissimi A.S. & Driemeier D. 2009. Achados patológicos e imuno-histoquímicos em cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(2):143-149.
- 28 Van de Bildt M.W., Kuiken T., Visee A.M., Lema S., Fitzjohn T.R. & Osterhaus A.D. 2002. Distemper outbreak and its effect on African wild dog conservation. *Emerging Infectious Diseases*. 8(2): 211-213.
- 29 Vandeveld M., Kristensen F., Kristensen B., Steck A.J. & Kihm U. 1982. Immunological and pathological findings in demyelinating encephalitis associated with canine distemper virus infection. *Acta Neuropathologica*. 56(1): 1-8.
- 30 Vandeveld M. & Zurbriggen A. 2005. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. *Acta Neuropathologica*. 109(1): 56-68.
- 31 Van Moll P., Alldinger S., Baumgärtner W. & Adami M. 1995. Distemper in wild carnivores: an epidemiological, histological and immunocytochemical study. *Veterinary Microbiology*. 44(2): 193-199.
- 32 Williams E.S., Thome E.T., Appel M.J. & Belitsky D.W. 1988. Canine distemper in black-footed ferrets (*Mustela nigripes*) from Wyoming. *Journal of Wildlife Diseases*. 24(3): 385-398.