



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

BÁRBARA FERREIRA DE ALMEIDA

**CINOMOSE: REVISÃO LITERÁRIA E PESQUISA SOBRE A CIRCULAÇÃO DO
VÍRUS NOS CANÍDEOS SILVESTRES *Cerdocyon thous* (Cachorro-do-mato) e
Chrysocyon brachyurus (Lobo-guará)**

RECIFE

2018

CINOMOSE: REVISÃO LITERÁRIA E PESQUISA SOBRE A CIRCULAÇÃO DO VÍRUS NOS CANÍDEOS SILVESTRES *Cerdocyon thous* (Cachorro-domato) e *Chrysocyon brachyurus* (Lobo-guará)

Relatório final, apresentado a Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências para a obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

BÁRBARA FERREIRA DE ALMEIDA

Recife, 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

A447c Almeida, Barbara Ferreira de

Cinomose: revisão literária e pesquisa sobre a circulação do vírus nos canídeos silvestres *Cercopithecus thomasi* (cachorro-do-mato) e *Chrysocyon brachyurus* (lobo-guará) / Barbara Ferreira de Almeida. – Recife, 2018.

42 f.: il.

Orientador(a): Rita de Cássia Carvalho Maia.

Coorientador (a): Jean Carlos Ramos da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Medicina Veterinária, Recife, BR-PE, 2018.

Inclui referências.

1. Cinomose 2. Animais silvestres 3. Cães selvagens 4. Lobo-Guará 5. Virologia veterinária I. Maia, Rita de Cássia Carvalho, orient. II. Silva, Jean Carlos Ramos da, coorient. III. Título

CDD 636.089

BÁRBARA FERREIRA DE ALMEIDA

**CINOMOSE: REVISÃO LITERÁRIA E PESQUISA SOBRE A CIRCULAÇÃO
DO VÍRUS NOS CANÍDEOS SILVESTRES *Cerdocyon thous* (Cachorro-do-
mato) e *Chrysocyon brachyurus* (Lobo-guará)**

Recife, _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Rita de Cássia Carvalho Maia
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. Jean Carlos Ramos da Silva
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Médica Veterinária – Maria Áurea de Azevêdo Nogueira

Médica Veterinária – Vanessa Alessandra de Barros Portela

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, e por ter caminhado comigo todos esses anos, tu és o centro, início e fim de tudo, Pai. Aos meus pais Renata e Carlos dedico os mais sinceros agradecimentos, pois sem eles eu não seria quem sou; todo mérito de eu conseguir chegar até aqui é deles, pelo apoio incondicional em tudo, os amo ao infinito e além. À minha avó Bernadete, minha flor, minha segunda mãe, minha maior fã junto aos meus pais, obrigada por todos os puxões de orelha, e por todo amor. Agradeço ao meu irmão Ítalo que agora está morando tão longe e de quem sinto saudades todos os dias, orgulho de você irmão, que está correndo atrás de seus sonhos, obrigada por me fazer rir sempre. Por fim da minha família, agradeço à todos tios e tias, primos e primas, e minhas amigas de infância do batista, os quais guardo com carinho no coração, não os citarei por nome, mas estarão sempre comigo, amo vocês.

Tenho muito que agradecer a minha orientadora professora Dra. Rita de Cássia Carvalho Maia, pois mais do que uma professora é minha amiga, e uma pessoa ímpar. Obrigada por todo apoio e sempre levantar meu ânimo diante das dificuldades. Ao professor Dr. Jean Carlos Ramos, muito obrigada por ser uma pessoa de muita luz por onde passa, pelas dicas e palavras certas sempre. A todos os meus professores e mestres antes da graduação e durante ela, obrigada por compartilhar de suas sabedorias com tanto amor, e me guiar até aqui. Em especial Marliete que me deu muitos bons conselhos antes da minha aprovação na veterinária. À minha ex-professora Dra. Glória Potier, obrigada pela amizade, carinho e sempre me desejar o melhor.

A todos os meus amigos de fé do grupo muito amor e do Ecyd, que me acompanharam nesta longa jornada, em especial a minha madrinha de crisma Andressa Brito, por sempre me lembrar de quem eu sou e me levar a Deus. Agradeço à Gabi minha prima de carpina, que descobri quase no fim do curso e que me deu muito apoio e palavras amigas.

À todos que me ajudaram durante o estágio supervisionado, o pessoal da Mata Ciliar, à Dr. Cristina Harumi pela confiança de me ceder o estágio, à Letícia que me emprestou o computador, a paciência e me deu suporte quando precisei, à Lucas, Bruno, Gustavo, Daiane, Camila, Fabiana, Rodrigo e Pedro pelas risadas e momentos compartilhados no dia-a-dia. Às veterinárias Jéssica, Jéssica Kit, Gabriella e Débora que me deram apoio e suporte diário e pelo convívio também. Agradeço às outras estagiárias que estavam comigo no dia a dia também. Da UFRPE tenho muito a agradecer aos meus amigos de rotina e companheiros do laboratório de viroses, Sérgio, Inês e em especial Áurea que foi uma amiga em todas as horas.

Agradeço muitíssimo à Analu Godinho, amiga que a veterinária me deu durante o estágio supervisionado, mas que quero agradecer à parte, pois ela foi uma amizade que veio em um momento tão difícil, e que me foi mãe e amiga quando precisei obrigada por todo o apoio, as comidinhas para me animar, e tudo.

Por fim, mas muito longe de ser menos importante, agradeço a todos meus amigos de curso, que me aguentaram durante os 6 anos que estou na UFRPE, obrigada pelo carinho, pelos abraços, pelos lanches, por compartilharem dos desesperos pré-provas, por me acolherem, por tudo de verdade. Amo vocês. Em especial agradeço à Davi Rodrigues, amigo pra todas às horas e que aguentou anos de integração da macaxeira comigo. Agradeço às lindas e princesas da minha sala Lara, Laís, Thamyris, Gianniny, Brenda, Larissa, Kássia, Lílian, Mariana, Wyrlla, Izabela, Gleice e Célia, e a todas as outras que talvez esqueci de citar. Obrigada pelo companheirismo meninas, pelas risadas, e tudo que vocês fizeram por mim e são pra mim. Espero que a amizade perdure por muitos anos. Nos vemos por aí. Em especial agradeço a Brenda, por todas palavras amigas e toda carona oferecida, saídas pra distrair; à Laís e Lara pelas saídas, pelo amor, pelas loucuras compartilhadas, à Gianniny por ter sido minha madrinha de EJC com tanta dedicação e carinho, e pelo resto todo. Obrigada aos príncipes Carlos, Jerônimo e Alberes pelos anos de companheirismo, pelas cervejas compartilhadas e risadas.

RESUMO

O vírus da cinomose canina é um morbilivírus de alta virulência que aflige muitos animais, dos quais, os cães domésticos são os principais acometidos. Atinge também, canídeos selvagens, mamíferos terrestres e aquáticos. Os canídeos silvestres são os mais vulneráveis pela similaridade com os domésticos quanto às características da família dessas espécies. O presente trabalho fez uma revisão literária sobre o vírus, e a partir de então, comparar o que já se viu sobre o mesmo em trabalhos científicos de espécies silvestres com a espécie de domésticos, quando os últimos já têm circulação bem elucidada. O trabalho também abrange uma pesquisa de campo, com a qual se procurou estudar a circulação do vírus em cães selvagens das espécies *Cerdocyon thous* (Cachorro-do-mato) e *Chrysocyon brachyurus* (Lobo-guará), coletando amostras biológicas por swab retal de indivíduos residentes em cativeiro. As amostras coletadas apresentaram um resultado que tem que ser mais discutido mais a frente por ser inconclusivo. Este documento faz parte do relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) que foi realizado sob orientação da Professora Dra. Rita De Cássia Carvalho Maia, dividido em duas etapas nas instituições: Associação Mata Ciliar (ONG), Jundiaí, SP e Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, sede. Ao total foi realizada uma carga horária de 420 horas.

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 Cacorro-do-mato.....	13
FIGURA 2 Classificação <i>C.thous</i> quanto a risco de extinção.....	14
FIGURA 3 Mapa da distribuição geográfica de <i>Cerdocyon thous</i> na América Latina.....	14
FIGURA 4 Lobo guará no zoológico de Beardsley	15
FIGURA 5 Classificação <i>C.brachyurus</i> quanto a risco de extinção.....	16
FIGURA 6 Mapa da distribuição geográfica de <i>Chrysocyon brachyurus</i> na América Latina	16
FIGURA 7 Representação ilustrativa do vírus em Microscópio eletrônico	17
FIGURA 8 Esquema para explicar patogenia	21
FIGURA 9 Esquema da primeira fase do VCC	22
FIGURA 10 CRAS 2, recinto de indivíduos cachorros-do-mato.....	28
FIGURA 11 CRAS 1, recinto de indivíduos cachorros-do-mato.....	28
FIGURA 12 Recinto de reabilitação dos lobos-guarás. CRAS 2.....	29
FIGURA 13 Cachorro-do-mato sendo contido por Puçá na AMC.....	29
FIGURA 14 Esquema da PCR	31
FIGURA 15 Esquema da PCR 2	32
FIGURA 16 Eletroforese.....	33
FIGURA 17 Eletroforese 2.....	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
Dos indivíduos.....	13
Etiologia Viral	17
Epidemiologia.....	18
Prevalência	19
Transmissão	19
Fisiopatologia.....	20
Sinais Clínicos.....	23
Diagnósticos.....	23
2.9. Tratamento e prevenção	24
2.10 Circulação do Vírus	25
3. Objetivo Geral	26
Específicos	26
4 METODOLOGIA.....	26
Coleta de amostras	26
Local das coletas.....	27
Procedimento da rt-PCR e da Eletroforese em gel de Agarose.....	30

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
6	CONCLUSÃO.....	37
7	REFERÊNCIAS	39

1. INTRODUÇÃO

Segundo Deem et al. (2000) citado em Carvalho (2016), a cinomose é uma doença infecto-contagiosa viral que tem como seu principal reservatório o cão doméstico. A sigla pela qual o vírus é conhecido em inglês é CDV (*Canine distemper virus*) ou ainda por VCC (Vírus da cinomose canina). Este vírus tem uma ampla distribuição mundial e é capaz de infectar um amplo número de hospedeiros da ordem Carnívora e não-carnívora como descrito por Rima e Duprex (2006) e Patel et al. (2012) logo possui um risco alto de vida para várias espécies, seja ela doméstica ou exótica, como exemplo, há relatos da doença em raposas, leões marinhos, focas, gambás, etc (VAN DE BILDT ET AL., 2002; KENNEDY, 1998; MCCARTHY et al., 2007).

A doença da Cinomose é multissistêmica e apresenta uma quantidade considerável de sinais clínicos que variam de acordo com muitos fatores de risco, como o estado geral de saúde dos hospedeiros, idade, status de vacinação, cepa do vírus, além de fatores ambientais (GREENE e APPEL, 2006). Vale salientar que é um vírus que tem maior tropismo por tecidos neurológicos (BEINEKE et al., 2009).

Segundo Greene e Vandeveld (2012) o vírus é disseminado por aerossóis e por todo tipo de secreções, estando mais presente nas do trato respiratório dos animais infectados, mas também é liberado pelas secreções oculares, pela urina, fezes, entre outros. A ação viral que leva à imunossupressão, com acentuada leucopenia e proliferação de linfócitos, é um dos fatores pelos quais o vírus deve ser investigado, uma vez que pode ser “a porta de entrada” para outros patógenos; inclusive a principal causa de morte é por via secundária, para os vírus do gênero morbilivírus (LAINE et al., 2005; BEINEKE et al., 2009).

A doença pode se apresentar sob várias formas sendo a de sintomas respiratórios a mais comum segundo Almeida et al.(2009) citado por Pereira (2014) todavia têm animais que vão apresentar diarreia e vômito como os primeiros sinais clínicos. O período de incubação é de 3 a 6 dias, o animal geralmente apresenta na fase aguda febre alta, que pode ser acompanhada de anorexia, depressão, secreções mucopurulentas e conjuntivites.

Só depois se desenvolvem os sinais neurológicos, tanto em infecções clínicas quanto em sub-clínicas (MURPHY, 1999).

O Diagnóstico da cinomose pode ser feito através da observação dos sinais clínicos, idade do animal, histórico vacinal, segundo Birchard e Sherding (2003) citados por Periozzi (2018). Os testes mais comuns e confiáveis pela sua sensibilidade são os laboratoriais, em especial a PCR (reação em cadeia de polimerase), também são usados isolamento viral, imunofluorescência, ELISA, entre outros. Os testes laboratoriais clínicos podem e devem ser feitos, porém são inespecíficos, e podem conduzir a outros diagnósticos, como parvovirose canina e raiva.

Apesar de existir vacinas no mercado disponíveis para CDV, elas ainda apresentam inúmeras falhas, principalmente quando se considera o quão mutável é o vírus, além de não haver opções de tratamentos viáveis/efetivos no mercado segundo os estudos de Martella et al. (2007); de Si et al. (2010); e Negrão et al. (2013) e Romanutti et al. (2016) citados por Carvalho (2016).

O Prognóstico é sempre de reservado a ruim em animais domésticos, pois o curso da doença vai depender de vários fatores como a resposta imune de cada indivíduo. E considerando que animais silvestres “mascaram a doença” por não poder aparentar fracos para não serem presas fáceis; quando se descobre a enfermidade, já pode ser tarde demais.

Mesmo considerando-se que a falha vacinal afeta mais aos animais domésticos e os selvagens de cativeiro, e o fato de que não há vacinas que sejam mais específicas e eficazes contra o vírus, a prevenção é o meio mais eficaz contra o VCC ou CDV; uma vez que na vida selvagem livre não há como se aplicar programas de vacinação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O CDV (*Canine distemper virus*) ou ainda VCC (Vírus da cinomose canina), pode ser considerado como o vírus infecto-contagioso de maior importância em canídeos, principalmente domésticos, pois tem altas taxas de morbidade e mortalidade em indivíduos não vacinados por todo o mundo. Os animais vacinados também não estão totalmente imunes, podendo contrair a doença por conta de falhas vacinais. A Cinomose é conhecida desde meados de 1760, em sua forma aguda ou subaguda, relatada como doença febril (MURPHY, 1999).

No Brasil um percentual de 9% da mortalidade de lobos-guarás está relacionado a doenças contagiosas, dentre os quais 19,4% dos óbitos podem estar relacionadas ao vírus da cinomose, e apesar de estudos terem aumentado a respeito da exposição de canídeos selvagens nos últimos anos, ainda falta mais monitoramento desses animais e detalhes a respeito do curso desta e de outras doenças contagiosas (JORGE e JORGE, 2014).

Os sinais clínicos da cinomose nos canídeos tanto selvagens quanto domésticos são iguais, só a forma de sua apresentação que varia com fatores como idade e resposta imune do hospedeiro. O animal pode apresentar desde depressão, secreção mucopurulenta oculonasal à acometimentos neurológicos, como convulsões, mioclonias e rigidez muscular (JORGE e JORGE, 2014).

Dos indivíduos

Cerdocyon thous (cachorro-do-mato)



Figura 1 - Cachorro-do-mato. Fonte: Vladir Hobus Google.

Cerdocyon thous ou cachorro-do-mato tem pesos que variam entre 4,5 a 8,5 kg, e medem aproximadamente 57 a 77 cm de comprimento; de cauda peluda e o focinho é comprido. Alimenta-se de frutas, crustáceos e pequenas aves e insetos, entre outros. (JORGE E JORGE, 2014).

O cachorro-do-mato, segundo os autores Hladik-barkoczy (2013) e Thoisy *et al.* (2013) e Fracassi *et al.* (2010) e Ramírez-chavez e Pérez (2015) citados no site da IUCN (2018), é uma espécie amplamente distribuída principalmente na região norte litorânea da América do Sul, de países como Colômbia, Venezuela, e se estendendo por territórios da Argentina, Bolívia e na parte de mata atlântica Brasileira onde foram registradas suas passagens. Há passagem da espécie no Equador também, segundo Ramírez-chavez e Pérez (2015) citado por IUCN (2018).

Esta espécie ocupa áreas de biomas de caatinga, cerrado, savana, mata atlântica podendo alcançar até 3.000m de altitude. É uma espécie que se adapta bem à diferentes áreas, como de desmatamento, assim como as de clima mais árido, ou que seja de plantação agrícola (IUCN, 2018). São animais que preferem áreas mais arborizadas e a estação mais chuvosa segundo a

citação Macdonald e Courtenay (1996) na IUCN (2018).

Segundo ainda a IUCN (2018), a espécie de cachorros-do-mato é classificada como pouco preocupante quanto ameaça à extinção.



Figura 2 - Classificação *C. thous* quanto a risco de extinção. Fonte: IUCN, 2015; atualizado em 2018.



Figura 3 - Mapa da distribuição geográfica de *Cerdocyon thous* na América Latina.

Fonte: IUCN, 2017.

Chrysocyon Brachyurus (lobo-gará)



Figura 4 - Lobo guará no zoológico de Beardsley. Fonte: Google.

O lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) é o maior de canídeo da América do Sul e do Brasil, por conseguinte, segundo Rodrigues (2002). E, ainda segundo o mesmo autor, é uma espécie oportunista, generalista, que consome e altera sua dieta conforme a disponibilidade de alimentos no ambiente ao seu redor.

Eles medem de 95 a 115 cm e pesam de 20 a 30 kg. Possuem membros alongados e as orelhas também o são, marca bem característica da espécie, assim como a coloração de sua pelagem (JORGE e JORGE, 2014).

Quanto a sua localização é encontrada em regiões de diferentes biomas desde a região nordeste até parte do Rio Grande do Sul. Alguns apresentam características de demarcação de território fixo, mas uns não têm essa predileção e acabam por explorar áreas bem maiores (JORGE e JORGE, 2014).

São animais onívoros que consomem vertebrados de pequeno e médio porte, invertebrados e grandes quantidades de frutos segundo Bueno e Belentani e Motta-junior (2002) e Emmons (2012); e Jácomo et al. (2004) autores citados por Müller (2016).

Os Lobos-Guará procuram habitat em campos abertos, preferindo pradarias, habitats de arbustos, cerrado, floresta mista, etc. também é visto em áreas de altas altitudes segundo a citação de Coelho *et al.* (2008), e R. Paula pers. obs. pela IUCN (2018).

Segundo ainda a IUCN (2018), a espécie de lobos-guará é classificada como próxima de ameaçada de extinção.

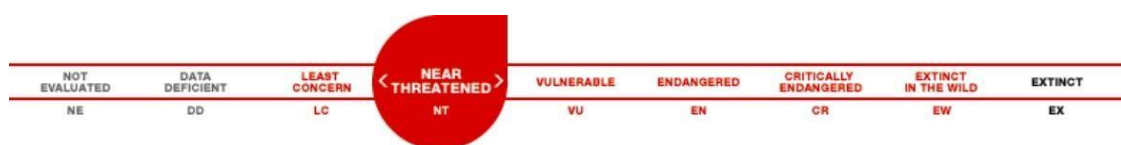


Figura 5 - Classificação *C.brachyurus* quanto a risco de extinção.

Fonte: IUCN, 2015; atualizado em 2018.



Figura 6 - Mapa da distribuição de *Chrysocyon Brachyurus* na América Latina.

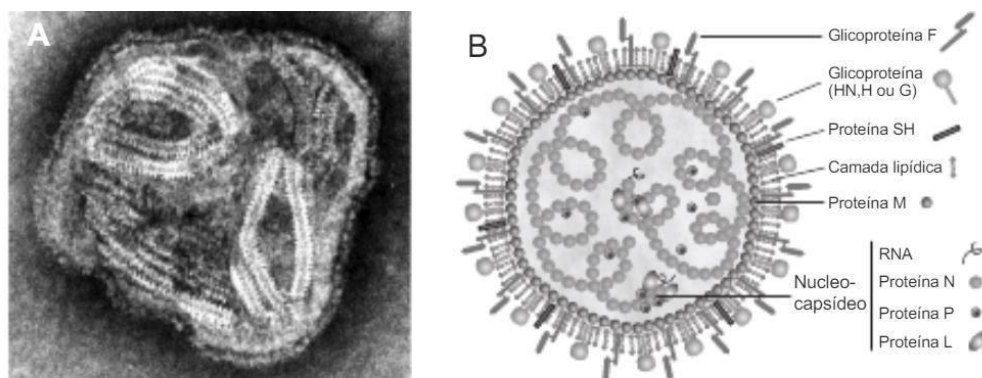
Fonte: IUCN, 2017.

Etiologia Viral

A família *Paramyxoviridae* tem o gênero *Morbilivírus* do qual o vírus da cinomose pertence e é classificado na ordem *Mononegavirales*, que inclui ainda as famílias *Rhabdoviridae* e *Filoviridae*, que possuem outros patógenos importantes para a veterinária. Os vírions desta família são de fita de RNA simples, de sentido negativo e possuem envelope lipoproteico (FLORES, 2007).

Os paramixovírus são sensíveis a pH ácido, luz ultravioleta, ao aquecimento a 50-60°C por 30 minutos. Perdem a virulência à exposição ao éter, formaldeído e agentes oxidantes, sendo vistos como pouco resistentes ao ambiente. Permanecem viáveis a temperaturas de -50°C ou menos por muitos meses (GREENE, 2012).

Este vírus é constituído de 6 proteínas estruturais/genes, três são as de envelope, a M, que é a proteína mais abundante e preenche o espaço entre o nucleocapsídeo e o envelope, a H responsável pela adsorção e tropismo do vírus às células hospedeiras e a F tem a função de conectar o vírus à célula hospedeira. O restante são proteínas internas: N (nucleocapsídeo) que está intimamente ligado ao genoma e o protege, L (polimerase) e P (fosfoproteína) que estão ligadas a replicação do RNA viral (FLORES, 2007).



Fonte: A) Dra. Linda Stannard, www.uct.ac.za.

Figura 26.1. Vírions da família *Paramyxoviridae*. A) Fotografia de microscopia eletrônica de um paramixovírus humano. Nota-se o nucleocapsídeo helicoidal enovelado no interior da partícula; B) Ilustração esquemática de uma partícula vírica e seus componentes.

Figura 7- Representação ilustrativa do vírus em Microscópio eletrônico. Fonte: FLORES, 2007.

Epidemiologia

O vírus da cinomose (VCC) é de distribuição mundial, e foi relatado em vários animais, sejam eles da ordem carnívora ou não, como os mustelídeos e felídeos selvagens; Mundialmente é uma das doenças mais importantes para os cães (DIAS, 2012).

Em 1994 foi registrado um surto pelo morbilivírus na Tanzânia em que centenas de leões no Parque Nacional de Serengethi, apresentaram sinais neurológicos e de pneumonia, e vieram rapidamente à óbito. Mas o vírus já havia se espalhado antes, por região próxima fazendo outras vítimas como cães selvagens e domésticos, hienas, morcegos, raposas, dos quais os leões teriam contraído a doença. Outro caso ocorreu no Brasil, no Zoológico Municipal de Taboão da Serra, SP, onde três furões, dois lobos-guarás e um cachorro-do-mato foram infectados (REGO et al;1997). Há registros também de uma fêmea de cachorro-vinagre na África do Sul que contraiu a doença e morreu em um zoológico da localidade (JORGE e JORGE, 2014).

Destacando a sua importância epidemiológica, o gênero Morbilivirus inclui outros vírus de grande importância infecciosa, como MV (*measles virus*) e RPV (*rinderpest viruses*), respectivamente, os patógenos de Sarampo e da Peste bovina que são doenças infecciosas de potencial zoonótico, e apesar do CDV (*canine distemper virus*) nunca ter sido relatado como zoonose, deve-se dar uma atenção a ele, uma vez que o mesmo tem um amplo alcance de hospedeiros, de diferentes biomas e espécies (VON MESSLING et al., 2003; GRIFFIN, 2007).

Esses e muitos outros trabalhos mostram que a mortalidade por cinomose em canídeos e outros animais silvestres é bastante alta, e ainda ameaça animais da *Red List* classificados como ameaçados de extinção, em vida livre ou em cativeiro, logo é uma enfermidade preocupante. Especula-se que a troca de patógenos deve-se a aproximação dos animais selvagens aos centros urbanos (JORGE e JORGE, 2014).

Uma das diferenças entre cães domésticos dos de vida livre, quanto à epidemiologia padrão do VCC, é que na ausência de vacinação, a infecção ocorre mais fácil nos domésticos pelo contato mais próximo desses entre si, como se vê em canis. Isso faz com que haja entre a população uma imunidade herdada ao vírus. Estudos mostram que filhotes de cadelas têm anticorpos com 8 semanas de vida, essa taxa decresce, mas por volta dos dois anos de idade volta a crescer. (MURPHY, 1999)

Prevalência

Citados por Dallagnol (2017) os autores a seguir afirmam que o vírus é um patógeno de suma importância, por suas altas taxas de morbidade e de letalidade, perdendo apenas para raiva canina (BARBOSA & PASSOS, 2008). A enfermidade viral não tem predileção por sexo, idade ou raça, ou sazonalidade (GAMA et al., 2005). No entanto esta tem maior ocorrência em cães jovens entre dois a seis meses de idade, não vacinados, e com baixa titulação de anticorpos maternos. Ainda é tida como uma doença enzoótica (BIRCHARD & SHERDING, 2008).

Segundo Gebara (2004) citado por Pereira (2014), o VCC pode desencadear uma progressão de sinais clínicos dependendo da cepa viral e da resposta imune do hospedeiro. E por não ter um tratamento específico voltado para o vírus, a prevenção é a principal arma de combate, segundo Martins; Lopes; França (2009) citados por Moraes (2013).

Transmissão

A principal forma de transmissão do CDV é ainda através do contato direto com secreções nasais. Há também a transmissão por fômites, ou seja, materiais contaminados com secreções (FLORES, 2007).

A afirmação de Laine et al. (2005) e Beineke et al. (2009) citados por Carvalho (2016) é que, a ação viral leva à imunossupressão, tem uma acentuada leucopenia e proliferação de linfócitos, reação que deixa indivíduos mais susceptíveis a outras patogenias. Inclusive, a principal causa das mortes, pode ser por infecções secundárias em decorrência da imunossupressão, para os vírus da cinomose.

Conforme estudos de Deem et al. (2000) e Birchard e Sherding (2003) citados por Pierozzi (2018), a transmissão via transplacentária é bastante estudada por ser rara em cães jovens.

A infecção *in vitro* mostra a predileção do vírus por células primárias principalmente de linhagem pulmonar e renal, animais jovens estão cheios destas células em replicação, além de não terem um sistema imune maduro, por isso são os mais acometidos (FLORES, 2007)

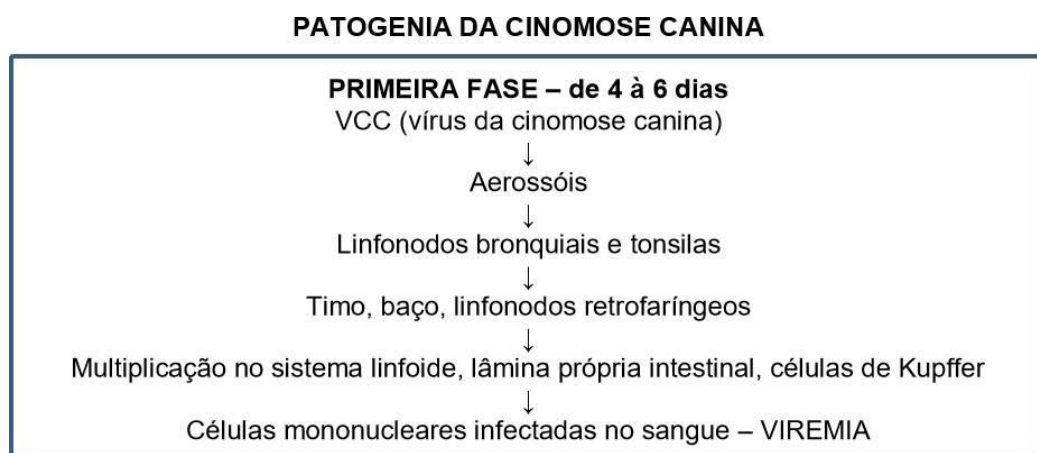
Fisiopatologia

O VCC entra no hospedeiro e se replica dentro das células do trato respiratório superior e do epitélio conjuntival de 2 a 4 dias. E depois de seguir se multiplicando nos linfonodos regionais atinge a corrente sanguínea, carregados por linfócitos. Essa primeira fase provoca o primeiro pico de febre do ciclo viral. Depois disso passa para o sistema do retículo endotelial. Essa replicação resulta na formação de grandes sincícios, grandes células multinucleadas, hiperplásicas nos órgãos linfóides (GREENE, 2012).

Segundo Appel e Summers, (1999) e Ettinger e Feldman (1997) e Orsini citados por Pierozzi (2018), o período de incubação varia de 14 a 18 dias e a eliminação do vírus pelo corpo do paciente infectado inicia-se sete dias após a infecção do mesmo podendo se alastrar por até 60 a 90 dias.

Sob condições naturais de exposição do hospedeiro ao vírus, ele é transmitido através de aerossóis e infecta a via respiratória superior, após 24 horas o vírus já se replicou nos macrófagos e células circulantes B e T

(VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995; 2005). Por sua característica de se infiltrar e começar a sua infecção nos tecidos (órgãos) linfóides, como exemplo o baço, timo, ele leva a uma longa imunossupressão (KRAKOWKA et al., 1980;1982).



Fonte: Adaptado de GREENE; VANDEVELDE, 2012.

Figura 8 – Esquema para explicar patogênica

Na figura acima vemos uma elucidação esquemática da patogênica do vírus da Cinomose como ocorre, e por cada sistema que ele passa, iniciando a viremia antes de começar a ser eliminado a partir de 7 dias após a infecção.

A maioria dos cães desenvolve uma resposta imune eficaz contra o vírus na primo-infecção e não manifesta sinais clínicos da cinomose. Já os que não conseguem ter uma resposta imune humoral e celular, apresentam diferentes formas clínicas da doença, de diferentes intensidades em 3 semanas após a infecção. Estes animais terão então o segundo pico de febre conduzido pelo seu sistema imune tentando combater o vírus, que se dissemina por diferentes órgãos, podendo chegar até no sistema nervoso central. (FLORES, 2007).

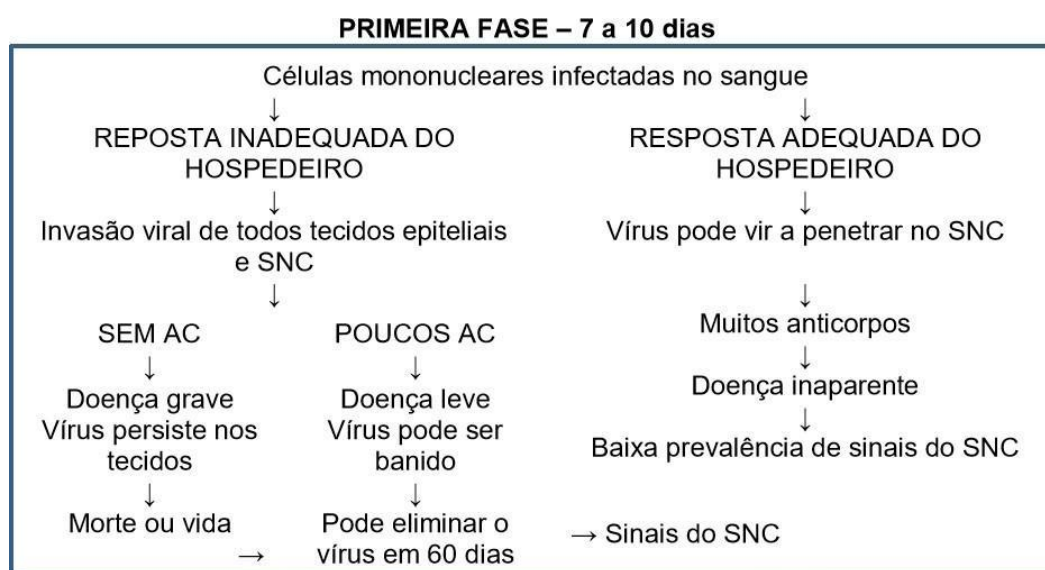
Cerca de 10 dias após a infecção, o vírus se dissemina pelas vias linfáticas e sanguíneas para todos os órgãos dos sistemas, segundo o autor Appel, (1969; 1970) citado por Pierozzi (2018).

Nelson e Couto (2006) citados por Pierozzi (2018), afirmam que a maioria dos cães desenvolvem a infecção no SNC, mas apenas apresentarão sinais clínicos neurológicos os animais que tiverem baixa ou nenhuma resposta de anticorpos.

Segundo Silva et.al (2009) citado por Moraes (2013) a característica desse vírus de se disseminar rapidamente e chegando a atingir o SNC (sistema nervoso central) ultrapassando a barreira cefalorraquidiana, em poucos dias é o motivo pelo qual os animais que não tem uma boa resposta imune morrem. E dados de pesquisas sugerem que quase todos os animais infectados desenvolvem a doença neurológica, logo daí vem a explicação de o porquê de tanto a morbidade quanto a mortalidade serem altas.

O Vírus provoca lesões multifocais no sistema nervoso, e tem preferência pela substância branca do cerebelo e da região periventricular, a formação de sincícios e aglomerações multinucleares levam a uma inflamação, ou seja, encefalite não-supurativa. Já no sistema respiratório é visto uma pneumonia intersticial (FLORES, 2007).

O esquema abaixo retrata como é a fase de disseminação do vírus e quais fatores influenciam sobre a mesma.



Fonte: Adaptado de GREENE & VANDEVELDE, 2012.

Figura 9 – Esquema primeira fase do VCC.

Sinais Clínicos

Segundo Oliveira, Antonio e Zappa (2009) citados por Albuquerque (2013) os sinais clínicos não são específicos, dependem de variações de cepas, da resposta imune de cada indivíduo, e se assemelham com outras patogenias virais ou não, dentre elas a hepatite canina, toxoplasmose, raiva, que inclusive é um dos diagnósticos diferenciais para esta patologia, de acordo com Monti (2004) citado por Moraes (2013).

Há dois picos febris enquanto a doença desenvolve seu curso sistêmico. O segundo pico de febre é o que comumente vem acompanhado de sinais clínicos como depressão, anorexia, descargas nasais e oculares (BARR AND BOWMAN, 2012).

Além dos sinais clínicos mais generalizados vistos até agora, como secreções oronasais, acometimentos gástricos e dermatológicos, que são mais comuns em cães jovens domésticos e cães selvagens, observa-se uma das formas de apresentação da enfermidade estudada, que ocorre em cães senis, que se chama encefalite em cães velhos que progressivamente vai destruindo as funções neurológicas (MURPHY, 1999).

A mioclonia segundo Lorenz e Kornegay (2006) é considerada como um sinal patognomônico da cinomose, sendo vista com mais frequência na fase crônica, relacionada à hiperexcitabilidade dos neurônios motores inferiores.

Diagnósticos

Os diagnósticos laboratoriais disponíveis para identificação do VCC ou CDV são os laboratoriais clínicos como hemograma e pesquisa do corpúsculo da inclusão de *Lentz* no plasma de linfócitos circulantes (BARR e BOWMAN, 2012). Existe também os mais específicos como RT-PCR, ELISA e soroneutralização. A confirmação laboratorial da cinomose é realizada por meio dos diagnósticos virológico, molecular, sorológico e histopatológico segundo (BRAZ, 2009) citado no estudo de Pierozzi (2018).

O vírus pode ser achado de 7 a 14 dias na pós-infecção em descargas nasais, utilizando técnicas como a de ensaio imunoenzimático ou isolamento viral. Os diagnósticos laboratoriais são feitos para que se excluam outras enfermidades como parvovirose canina, raiva, entre outros; embora uns sejam mais específicos e sensíveis que outros (MURPHY, 1999).

Um exame diagnóstico de baixo custo, de fácil execução e que tem uma boa sensibilidade é a RT-PCR (reação de cadeia de polimerase, ou ainda, *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) e por isso é tão utilizada.

Além dos testes citados, podemos utilizar métodos imunohistológicos a partir de fragmentos de tecidos como de intestino e bexiga para achados post-mortem. O exame serve para demonstrar a presença e impressão de antígeno viral nas conjuntivas e linfócitos da corrente sanguínea (MURPHY, 1999).

2.9. Tratamento e prevenção

Não há tratamentos específicos disponíveis no mercado, por isso, faz-se o uso de terapias de suporte, visando melhorar a imunidade do animal e amenizar os sintomas; antibióticos no caso de infecções secundárias; e claro, a prevenção, segundo Oliveira e Oliveira (2010) citados por Albuquerque (2013).

A Europa estava tendo sucesso com vacina viva feita a partir do vírus de Sarampo atenuado, que também é um Morbilivírus, que não sofrem interferência da imunidade passiva. Vacinas inativadas não produzem resposta imune eficaz (FLORES, 2007).

Segundo os autores a seguir, citados por Dornelle (2015) ainda não há terapia antiviral específica disponível para o tratamento da cinomose no mercado, assim, não se pode dizer que exista um tratamento mais eficaz (GALLINA et al; 2011). Nelson & Couto (2006); Birchard & Sherding (2008);

Laurito Summa (2010), falam da importância de quarentena e isolamento dos cães para que não se infecte a outros por aerossóis.

Para cães domésticos o uso de Ribavirina e vitamina A foram relatados por algumas pessoas como potenciais de controle e cura da enfermidade a depender do seu estágio (ROSA, 2016). O uso em silvestres nunca foi experimentado possivelmente pelo curso rápido da patologia causada pelo VCC.

2.10 Circulação do Vírus

O crescimento populacional juntamente com o aumento da densidade de cães domésticos nas cidades, e também, devido à fragmentação de espaços dos cães silvestres fez com que houvesse uma aproximação entre cães selvagens e domésticos. Essa situação se torna perigosa a partir do momento que esse contato pode dar abertura a epizootias e doenças infecciosas (JORGE e JORGE, 2014).

Pelo lado de se pensar na saúde é uma questão de extrema importância pensar que por conta da aproximação dos núcleos humanos, estes animais possam se tornar fonte de transmissão de doenças infecciosas para domésticos e para humanos (JORGE e JORGE, 2014).

A prevenção é a palavra-chave quando se trata da conservação da vida exótica, a necessidade de investigar a circulação desse vírus se torna ainda maior, seja em animais de cativeiro ou em vida livre. Quanto mais se souber do vírus, por onde circula, e as possíveis co-infecções que vem com ele, mais intensamente poderemos combater de forma eficaz para preservação das espécies.

3. Objetivo Geral

Identificar a circulação do vírus da cinomose em canídeos selvagens.

3.1 Específicos

Avaliar se os animais apresentam sinais clínicos relativos à cinomose; a detecção do vírus da cinomose em amostras de Swab retal, assim como, tentar identificar a nucleoproteína viral por PCR para posterior Análise filogenética dos vírus encontrados.

4 METODOLOGIA

Coleta de amostras

Foram realizadas coletas por swab retal após a captura dos animais via puçá para coleta de amostra biológica fecal pretendendo-se ter um N experimental de até 50 animais, dependendo da disponibilidade das instituições envolvidas (Associação Mata Ciliar e Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens – UNESP, Botucatu), independentemente do sexo, ou idade. Os animais foram avaliados quanto a presença de sinais clínicos compatíveis com Cinomose.

As espécies nas quais foram realizadas as coletas foram: *Chrysocyon brachyurus* (Lobo-guará) e *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato). As amostras coletadas foram mantidas, para sua conservação, em um frasco coletor: tubos falcon contendo PBS (tampão fosfato-salino) e antibiótico (penicilina) para evitar contaminações por outros microorganismos, e em seguida congeladas.

A AMC (Associação Mata Ciliar) contribuiu com oito (8) amostras de swab retal cachorros-do-mato, que foram identificadas como C1 a C8. E o CEMPAS (Centro de

Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens) da UNESP (Universidade Estadual Paulista), Botucatu, SP, contribuiu com 5 amostras *swab* retal de diferentes indivíduos dentre elas três (3) pertenciam a cachorros-do-mato e duas (2) de lobos-guarás; identificadas de C9 a C13. Tendo ao final o total de 13 amostras.

Ao serem encaminhadas para o Laboratório de Virologia Animal (LAVIAN) da UFRPE as amostras foram descongeladas, seguiram vários procedimentos protocolados para que fossem extraídos o RNA viral das mesmas, e logo após, passaram por uma transcrição reversa para cDNA. Em seguida, foi realizada a PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) para o gene da Nucleoproteína (N) viral, que é uma região bastante estudada por ser a mais conservada. Todo o protocolo de extração e isolamento foi realizado com o Kit da Promega®, bem como a eletroforese em gel de agarose.

Após a detecção dos positivos as amostras foram preparadas para o sequenciamento viral para estudo da variabilidade genética dos isolados por análise filogenética. O teste não-paramétrico de Mann Whitney é o eleito para análise estatística considerando que as amostras não apresentam distribuição normal.

Local das coletas

As coletas foram realizadas na AMC (Associação Mata Ciliar) no CRAS 1 e CRAS 2, ou seja, nos sub-setores do Centro de reabilitação para animais silvestres. Foram coletados dos animais em seus recintos separados de cachorros- do-mato (*Cerdocyon thous*) e os dos lobo-guarás (*Chrysocyon brachyurus*). E outras enviadas direto LAVIAN, UFRPE, Recife pelo CEMPAS - Botucatu,SP.



Figura 10 - CRAS 2, recinto de indivíduos cachorros-do-mato.

Fonte: Arquivo Pessoal.2018.

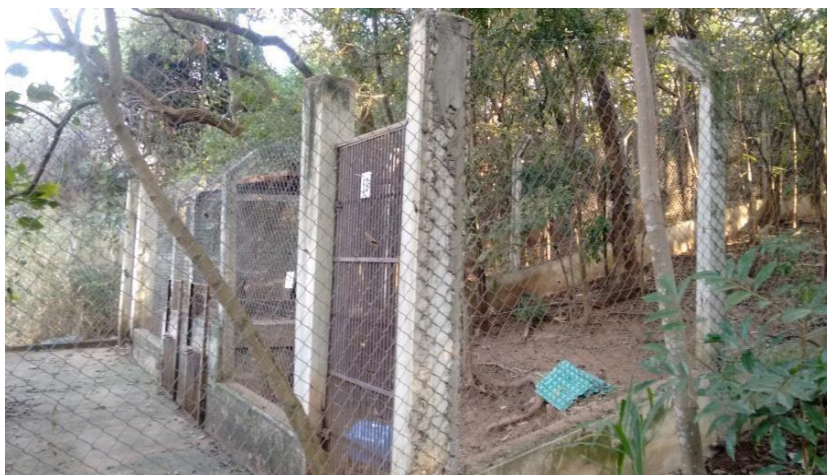


Figura 11- CRAS 1. Recinto de cachorros-do-mato.

Fonte: Arquivo pessoal.2018.



Figura 12 - Recinto de reabilitação dos lobos-guarás. CRAS 2. Fonte: Arquivo Pessoal.2018.



Figura 13 – Cachorro-do-mato sendo contido por Puçá na AMC. Fonte: Arquivo Pessoal.2018.

Procedimento da rt-PCR e da Eletroforese em gel de Agarose.

As amostras que possivelmente contém o VCC, possuem um RNA de fita simples, e que por ser mais instável e difícil de trabalhar passa por um procedimento conhecido como rt (transcrição reversa) para ser deixado em cDNA (DNA complementar), e por fim é feita a PCR (Reação em cadeia de polimerase).

A PCR consiste em um procedimento que amplifica o DNA previamente extraído *in vitro* em milhões/bilhões de vezes. Num tubo específico, individual e autoclavado é colocado o DNA experimental, oligonucleotídeos ou *primers* (são sequências de DNA sintetizadas, mas adjacentes às que serão processadas); nucleotídeos dNTPs (bases nitrogenadas) e a Taq DNA polimerase (enzima que vai auxiliar na extensão do cDNA). Os tubos são colocados em um termociclador que realizará três etapas: 1) Desnaturação e separação da fita dupla de DNA a 95 °C; 2) Anelamento dos *primers* à 57-63°C; 3) Extensão que ocorre a 72°C temperatura ótima para Taq polimerase (introdução dos nucleotídeos sintetizados). Todas as etapas se repetem em alguns minutos, e o ciclo se repete 25-35 vezes, cada ciclo expande mais o DNA (COSTA, 2009).

Para visualização dos produtos da PCR utiliza-se da eletroforese em gel de agarose, o gel é posto numa máquina específica de que tem um campo que gera correntes elétricas, imersas em uma solução salina tampão para manutenção do pH.

Os DNA amostrais são postos em poços furados no gel, e ficam na cuba específica para eletroforese até que o gel as desloque do pólo negativo para o positivo, a razão para isto, é seguindo o princípio de que o DNA é composto por cargas negativas. O fluxo migratório depende do peso molecular, as moléculas mais leves vão mais longe, e se localizam mais abaixo no gel. Há a formação do que chamamos de bandas, que são traços de DNA escorridos no gel no formato do poço perfurado. O resultado é visualizado pela incorporação de um corante (junto às amostras nos poços) que reage à luz ultravioleta; o corante mais utilizado para o gel de agarose é o brometo de etídeo que é um intercalante de DNA (OLIVEIRA, 2015). A

luz ultravioleta é emitida por uma máquina chamada de transiluminador que ligada ao computador faz a exibição das bandas do gel (OLIVEIRA, 2015).

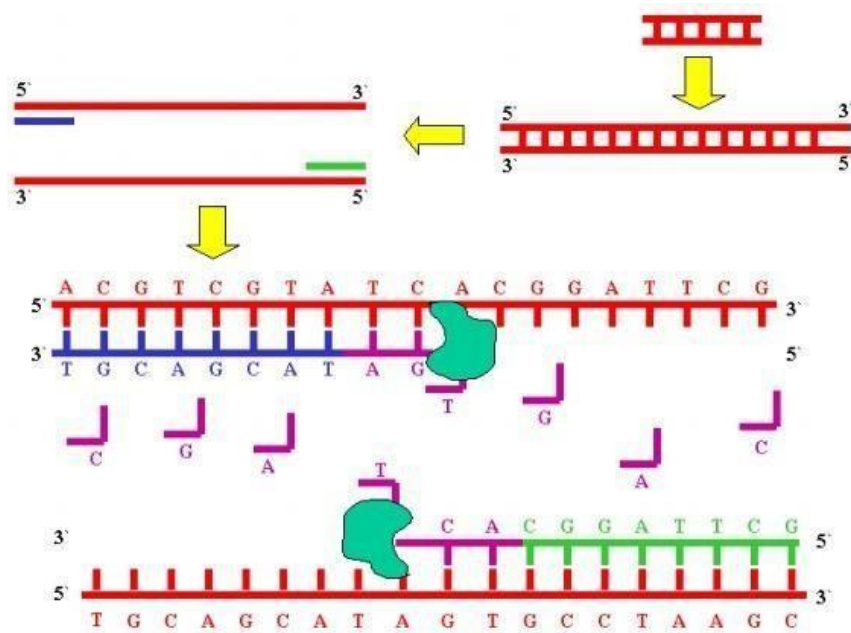


Fig. 3: Esquema dos processos realizados numa reação de PCR. Após a denaturação das fitas-molde, ocorre o pareamento dos *primers*. A enzima, representada em verde, adiciona os desoxinucleotídeos complementarmente às fitas-mãe.

Figura 14- Esquema da PCR.

Fonte: <http://www.imt.usp.br/wp-content/uploads/proto/protocolos/aula1.pdf>

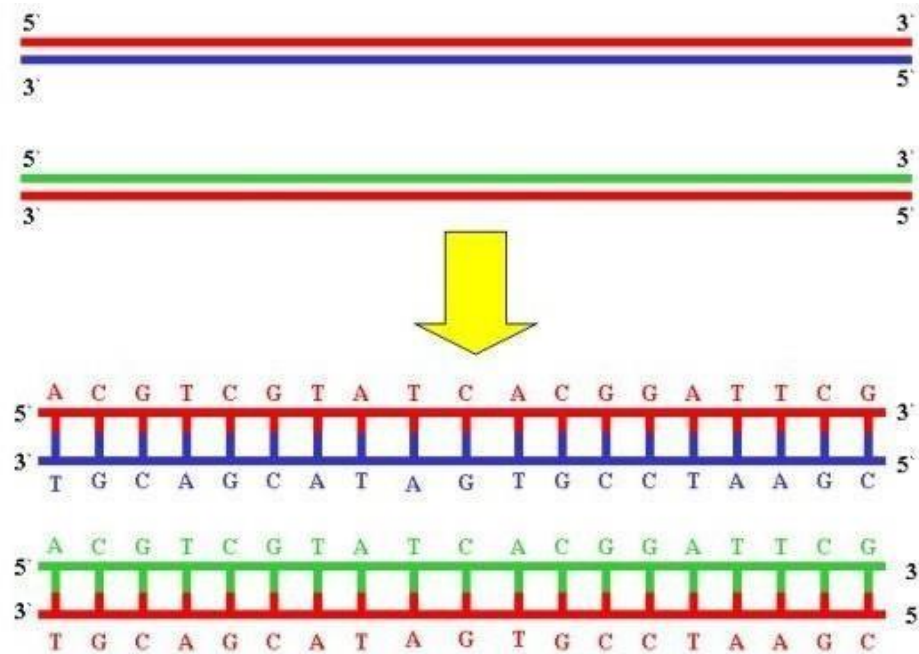


Fig. 4: Passos finais de uma reação de PCR. A figura mostra as duas fitas-mãe, pareadas com as suas fitas-filha complementares, sintetizadas a partir da adição dos desoxinucleotídeos pela DNA polimerase.

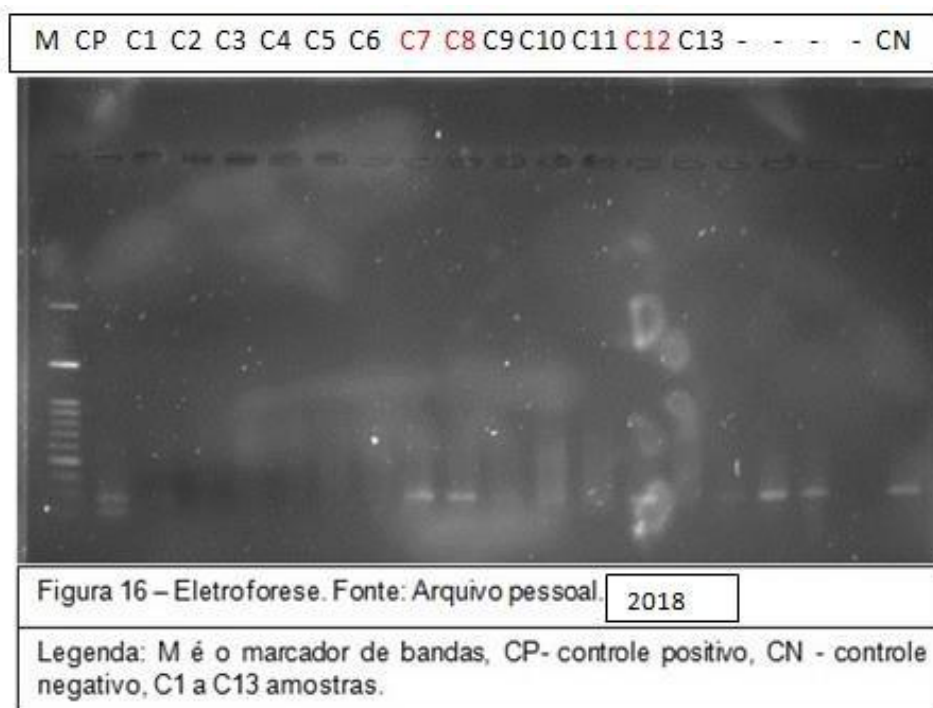
Figura 15 – Esquema de PCR 2.

Fonte: <http://www.imt.usp.br/wp-content/uploads/proto/protocolos/aula1.pdf>

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

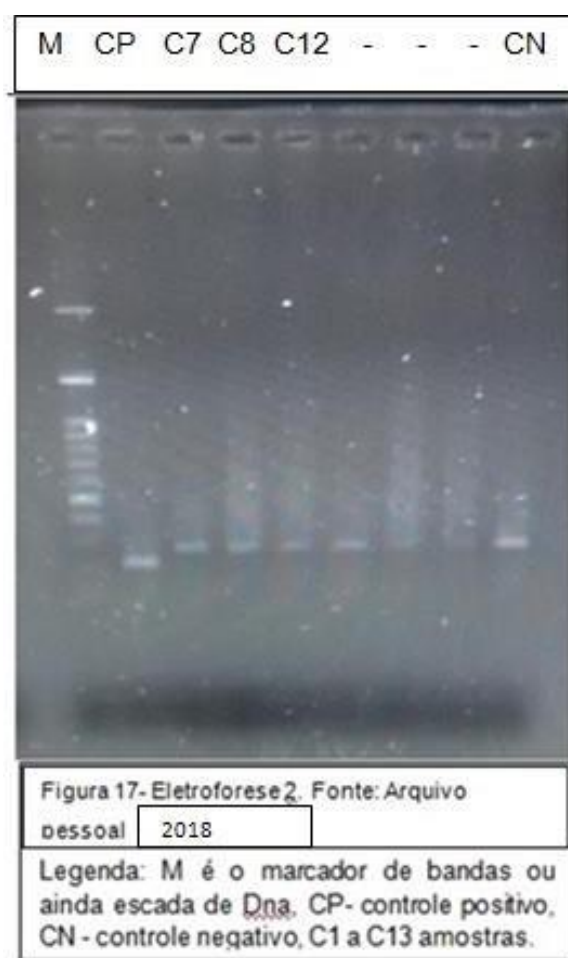
Das treze (13) amostras encaminhadas ao LAVIAN- laboratório de viroses animais domésticas, todas foram analisadas pelo método de rt-PCR segundo o protocolo de extração e isolamento de Rna pelo kit da Promega® e, em seguida, feita eletroforese.

Por terem sido recebidos os Swabs em diferentes datas, foram separados em dois grupos: amostras da Mata Ciliar oito (8) animais que eram cachorros-do-mato; e amostras do CEMPAS (5 animais) sendo três (3) cachorros-do-mato e (2) dois de lobos-guará.



Através dessa eletroforese foi visto que algumas das amostras inalizaram como “positivas” seguindo a linha de raciocínio que acenderam na mesma altura do controle positivo, pelo qual nos baseamos. Essas amostras foram a C7, C8 e C12, todas pertencem a espécie *Cerdocyon thous*.

Entretanto, notou-se que o controle negativo também acendeu o que seria indicativo de um resultado inconclusivo, ou ainda de uma contaminação do controle negativo na hora da PCR na capela do laboratório ou dos reagentes utilizados nas amostras. Então o teste foi repetido somente para as amostras que deram positivo, uma vez que as negativas não sofreriam alteração ao passar por outra PCR e eletroforese.



Mesmo com todas as medidas de controle de qualidade e de higiene exigidas para um laboratório e experimento sendo obedecidas, mais uma vez o resultado de tais amostras C7, C8 e C12 continuaram como inconclusivas, com o controle negativo positivado também, não podendo afirmar se seriam um falso positivo ou não.

Ainda não há muitos trabalhos científicos que identifiquem os sinais clínicos da cinomose nas duas espécies estudadas *Chrysocyon Brachyurus* e *Cerdocyon thous*.

Diante de tais resultados, consultaram-se literaturas e artigos científicos mais atuais quanto a possibilidade de se encontrar sinais clínicos e o vírus da cinomose tanto em cachorros-do-mato quanto lobos-guará.

Antes, voltando um pouco a relatos mais antigos, observou-se um cachorro-do-mato, três furões (*Galictis vittata*) e dois lobos-guará foram diagnosticados no zoológico de Taboão de Serra, SP positivos para o VCC. Os animais apresentaram sinais compatíveis com a cinomose, e apenas o cachorro-do-mato resistiu, e supõe-se que isso seria porque ele havia sido previamente vacinado. No exame histológico *pós-mortem* histológico dos demais foram relatados a presença de inclusões intracelulares citoplasmáticas eosinofílicas em células de estômago e de intestino delgado, característico de achados da patologia (REGO, 1997).

Em outro relato de caso de cinomose em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre, o autor deixa claro que a doença é endêmica no Brasil. O animal foi resgatado, mas morreu no dia seguinte, apresentando sinais de mioclonias quando chegou. Foram enviadas amostras de vários tecidos para exame histológico, como amostras de rins e bexiga, e o resultado foi positivo (MEGID, 2009).

Em uma discussão mais atual sobre o CDV, discutiu-se em como as mutações na proteína H do envelope do vírus e, portanto de cepas, determina a virulência e patogenia do vírus, pois é o sítio mais comum de aderência do mesmo. E que diferente de canídeos domésticos, os cães silvestres apresentariam a patogenia adquirida de forma natural, ou vacina-induzida, no caso de silvestres de cativeiro.

Também é visto que o lobo-guará é o que mais tem relatos no Brasil de casos com sinais clínicos, apesar de se supor que não foi por infecção natural e sim vacina-induzida (BEINEIKE, 2015).

6 CONCLUSÃO

O vírus da Cinomose é um morbilivírus que tem uma importância muito grande ecologicamente, já que afeta várias espécies de animais, carnívoras ou não, e de diferentes biomas. Isso pode levar a um desequilíbrio ecológico, acarretar reflexos econômicos, além de que a gama de hospedeiros que ele atinge traz à tona a preocupação com epizootias ou até mesmo uma possível futura infecção humana por vírus desse gênero. Logo, ele é uma questão de saúde pública também, tanto se tratando de animais domésticos quanto selvagens.

Apesar de se ter alguns estudos notáveis sobre o VCC em animais silvestres, por conta da complexidade desse vírus e suas mutações, quanto mais as pesquisas futuras forem mais detalhadas e específicas sobre o mesmo, melhor. Precisa-se de mais informações sobre VCC tanto em pesquisas à campo quanto laboratorial.

Tendo os resultados das amostras inconclusivas, e consultando a literatura, foi visto que a possibilidade da presença do VCC nesses animais pela infecção de forma natural é mais rara, todavia não exclui os animais de servirem talvez como reservatórios.

Portanto, é uma possibilidade a ser estudada para se entender mais sobre a manutenção do vírus na natureza, pois, dentre os que vêm à óbito devido a doença é um número escasso em relação ao número de animais disponíveis em vida livre. Já os casos possíveis de patologia vacina-induzida, os animais vêm a óbito rapidamente e não é bem elucidado.

É importante estudar-se no futuro as mutações genéticas existentes entre as cepas virais circulantes para entendermos a patogenia e sua epidemiologia.

Por fim, mas muito importante, o Estágio Obrigatório é de extrema importância para a conclusão da vida acadêmica trazendo novas experiências, complementando os conhecimentos adquiridos na graduação e os pondo em prática. Enriquecedor tanto profissionalmente quanto no quesito pessoal.

7 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, Andréia Rocha de; DREHMER, César Leandro; SILVA, Vanessa Gomes da. **Cinomose Canina: revisão de literatura**. Publicado em: 11º encontro científico interinstitucional. Faculdade de Assis Gurgacz – Paraná. 2013.

BARR, Stephen C.; BOWMAN, Dwight D. **Five-Minute Veterinary Consult Blackwell's. Clinical Companion. Canine and Feline Infectious Diseases and Parasitology** . Second Edition. 656 p. Published by Wiley blackwell. New Delhi, India. 2012.

BEINEKE, A.; PUFF, C.; SEEUSEN, F.; BAUMGÄRTNER, W. **Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper**. Veterinary Immunology and Immunopathology, v.127, n.1-2, p.1–18, 2009.

BEINEKE, A.; BAUMGÄRTNER, W.; WOHLSEIN, P. **Cross-species transmission of canine distemper virus—an update**. 2015. In: One Health. Volume 1, December 2015, Pages 49-59.

COSTA, Ronaldo de Jesus. Técnica de Biologia Molecular: **PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)**. Disponível em: <<http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/8577/tecnica-de-biologia-molecularpcr-reacao-em-cadeia-da-polimerase>>. Acessado em 15 de agosto de 2018.

CARVALHO, Otávio Valério. **Gene therapy and thiopurine drug approaches against canine distemper virus**. 2016. 153 f. Trabalho de conclusão de curso (Doutorado em Ciência Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2016. [Orientador: Professor Abelardo Silva Júnior].

CLEAVELAND S, Appel MG, CHALMERS WS, CHILLINGWORTH C, Kaare M, Dye C. (2000) **Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife**. *Vet Microbiol* 72: 217-227.

CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos Ramos; CATÃO-DIAS, José Luiz (Orgs). **Tratado de Animais Selvagens**. 2512 p. São Paulo: Roca, 2014. - p.765-770.

DALLAGNOL, Eliara Florinda; CASTAGNARA, Danilo Augusto; SILVA, Romildo Pereira; JÚNIOR, Edson Souza; REBELATTO, André Luiz; SEBEM, Juliana Gottlieb; FACCIN, Ângela; RIBEIRO, Ticiany Maria Dias; GUIMARAES, Tarcisio Gueraa; BRUSTOLIN, Joice Magali; OLIVEIRA, Daniela Dos Santos. **Cinomose em um canino: relato de caso**. 2017. Faculdade IDEAU – Getúlio Vargas/RS. 2017.

DEEM SL, SPELMAN LH, YATES RA, Montali RJ (2000) **Canine distemper in terrestrial carnivores: a review**. *J Zoo Wildl Med* 31: 441-451

DORNELLES, Débora Zoti; PEZZUTTI, Paola; PANIZZON, Andryara; SPERING, Rubia Raquel; SANTOS, Ivone Ribeiro dos; ESTRAL, Anderson Felix; GOTTLIEB, Juliana; OLIVEIRA, Franciele de. **Protocolos terapêuticos utilizados no tratamento da cinomose canina no alto uruguaí gaúcho e oeste catarinense**. RAMVI, Getúlio Vargas, v. 02, n. 03, jan./ jul. 2015. ISSN 2358-2243.

FLORES, Eduardo F. (Org.) **Virologia veterinária**. Ed. da UFSM, 2007. 888P. Santa Maria. 2007. P.657-559; 674-677.

GREENE C.E, APPEL M.J (1998) **Canine distemper**. In: Greene CE (2006) *Infectious diseases of the dog and cat*. 3th ed. St. Louis: Saunders Elsevier 3: 25-41. **Canine distemper**. *Infectious diseases of the dog and cat*. Philadelphia: Saunders Elsevier, 1990. 16: 226-239.

GREENE, Craig E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4 th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2012. 3: 70-89.

JORGE, M. Luísa S.; JORGE, Rodrigo S.P. **Capítulo 36 Carnivora – Canidae (Cachorro-do-mato, cachorro-vinagre, lobo-guará e raposa-do-campo)**. In: 766-768.

KRAKOWKA, S. **Mechanisms of in vitro immunosuppression in canine distemper virus infection**. Journal of Clinical and Laboratory Immunology, v.8, n.3, p.187– 706 196, 1982.

MEGID, Jane; SOUZA, Vanessa Aparecida Feijó; TEXEIRA, Carlos Roberto; CORTEZ, Adriana; AMORIN, Réene Laufer; HEINEMMAN, Marcos Bryan; CAGNINI, Didier Quevedo; RICHTZENHAIN, Leonardo José. **Canine Distemper virus in a Crabbing-eating Fox in Brazil: Case report and phylogenetic analyses**. 2009. In: Journal of Wildlife Diseases, 45(2), 2009, pp. 527–530. Wildlife Disease Association.

MORAES, F.C. et al. Diagnóstico e controle da cinomose canina. PUBVET, Londrina, V. 7, N. 14, Ed. 237, Art. 1566, Julho, 2013.

MÜLLER, Samara Thays Moreira. **Hábitos alimentares e conservação do lobo-guará chrysocyon brachyurus (illiger, 1815) em um remanescente de cerrado em pirassununga – sp**. 2016. Trabalho de conclusão de mestrado na área de Conservação da Fauna. Universidade Federal de são Carlos, São Paulo, 2016. [Orientador: Prof. Dr. Vlamir José Rocha.]

MURPHY, Frederick A., GIBBS, E. Paul J, HORZINEK, Marian C., STUDDERT, Michael J. **Veterinary Virology .Third edition**. Chapter: 29 - p.411-413,423-425. Cambridge, Massachusetts, EUA: Academic Press from Elsevier, 1999.

OLIVEIRA, Evelyn de; TRENTIN, Thays de Campos; CAMARGO, Fabrício; PINTO, Yago Danilo Pereira; MARTINS, Danieli Brolo. **ELETROFORESE: CONCEITOS E APLICAÇÕES**. Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2015.

PEREIRA, Márcio Aparecido ; Lobo, Luis Miguel; OLIO , Rennan Lopes; SANTOS, Amilton Cesar dos; VIANA, Diego Carvalho. **Aspectos gerais da cinomose**.

Publicado em: Centro científico. Universidade de São Paulo/USP. 2013.

PIEROZZI, Lívia Helena Silveira. **Cinomose: revisão de literatura e relato de caso.** 2018. 65 f. Trabalho de conclusão de curso para obtenção do título de graduação em Medicina Veterinária. Universidade Paulista, Campinas, 2018. [Orientador: Prof. Dr. Reinaldo B. Orsi].

REGO, Alexandre A. M. da Silva; MATUSHIMA, Íliliana Reiko ; PINTO, Celso Martins; BIASIA, Iara. **Cinomose em canídeos e mustelídeos silvestres brasileiros: relato de caso.** 1997. Publicado em: Braz. J. vet. Res. anim. Sei., São Paulo, v. 34. n.3, p. 156-158, 1997.

RODRIGUES, Flávio Henrique Guimaraes. **Biologia e conservação do lobo-guará na estação ecológica de águas emendas, DF.** 2012.105 f. Trabalho de conclusão de curso (Doutorado em biologia). Instituto de biologia da Universidade Estadual de Campinas, 2012. [Orientador: Wesley Rodrigues Silva].

ROSA, Paula da Silva; JÚNIOR, João Gomes de Carvalho; SILVA, Luis Gustavo Crochemore da. **Uso da ribavirina e vitamina a na cura da cinomose em cães naturalmente infectados.** Publicado na terceira amostra de iniciação científica, congrega URCAMP. 2016.

THE IUCN RED LIST OF THREATENED SPECIES. **Chrysocyon brachyurus.** 2018. Disponível em: < <http://www.iucnredlist.org/details/4819/0> >. Acesso em: 25 de jun. de 2018.

THE IUCN RED LIST OF THREATENED SPECIES. **Cerdocyon thous.** 2018. Disponível em: < <http://www.iucnredlist.org/details/4248/0> >. Acesso em: 25 de jun. de 2018.

VANDEVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A. **demyelination in canine distemper virus infection: a review.** *acta neuropathologica*, V.109, N.1, P.56–68, 2005.

VANDEVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A. **The neurobiology of canine distemper virus infection.** *VETERINARY MICROBIOLOGY*, V.44, N.2–4, P.271–280, 1995.