

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

Métodos de diagnósticos da cinomose canina – revisão de literatura.

Eliane Míriam da Silva Araújo

2013



Biblioteca Setorial do CDSA. Junho de 2022.

Sumé - PB



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

Métodos de diagnósticos da cinomose canina-revisão de literatura

Eliane Míriam da Silva Araújo
Graduando

Prof. Dr. Almir Pereira de Sousa
Orientador



Patos - PB.
julho de 2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**ELIANE MÍRIAM DA SILVA ARAÚJO
Graduanda**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADA EM/...../.....

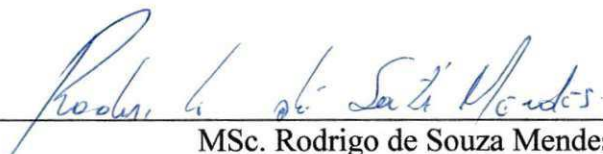
MÉDIA: _____

EXAMINADORES:



Almir Pereira de Sousa
Orientador

Nota: _____



MSc. Rodrigo de Souza Mendes
Examinador I

Nota: 10,0



MSc. Atticus Tanikawa
Examinador II

Nota: 10,0

DEDICATÓRIA

A todos meus familiares em especial aos meus pais e meus irmãos Raniere e Elaine que mesmo distantes confiaram e me apoiaram em todos os momentos. E mesmo com dificuldade continuaram me ajudando em todos os momentos da minha vida acadêmica. A eles devo tudo o que eu tenho e o que sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a meu bom Deus por me conceder uma belíssima missão de cuidar e amar todos os animais. Sou muito feliz por isso!

Aos meus pais Francisca Lúcia e Aliomar Alves, por me ajudar, me apoiar e compreender os anos que precisei me ausentar durante toda minha vida acadêmica.

Aos meus irmãos Elaine Cristine e Raniere Nicácio que sempre acreditaram e confiaram em mim, mesmo distantes e nas dificuldades da vida nunca mediram esforços para me ajudar sempre que precisei. A vocês, meu muito obrigada!

A minha gatinha Pompona por ser minha maior inspiração e dedicação a minha amada profissão.

A minha cunhada Edvância Oliveira pelas as vezes que precisei de ajudar e que você também não media esforços para me ajudar.

A todos os meus tios e tias, em especial ao meu tio Júnior e minha tia Marluce por contribuir para realização desde sonho.

A minha madrinha Eurinete Santos pelo apoio que sempre me deu. Essa conquista também devo a você.

Ao meu professor e orientador Dr. Almir Pereira pela confiança, orientação e aprendizado durante todos esses anos de vida acadêmica. Obrigada pela as vezes que me desafiou, fazendo assim com que eu me dedicasse mais aos meus estudos.

A Walkyria, Maiara e Narjara por ter me acolhido de forma carinhosa nos meus primeiros anos de vida acadêmica.

Agradeço as “Queridas” (Mariana Lacerda, Raissa Batista e em especial a Larissa Kelly e Jéssica Juliana) pelos anos de convivência, compreensão e companheirismo de sempre.

A Ahyalla Ricelle e Jackson Júnior pelos anos de convivência, e por também fazer parte dessa vitória.

A minha turma Medicina Veterinária 2008.2 pelos anos cinco anos de muita luta, trabalho, momentos tristes e felizes que passamos juntos. Obrigada pelas noites de estudos e pelas noites de descontração. Confesso que foram os melhores anos da minha vida. Faria tudo de novo se possível. Vocês irão deixar muitas saudades.

As ex-residentes do Hospital Veterinário campus de Patos-PB Angélica Ramalho e Larissa Araújo pelo conhecimento que obtive durante meus estágios.

A todas as pessoas que me ajudaram de forma direta e indireta, ficaram aqui meus sinceros agradecimentos.

Sumário

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 CINOMOSE CANINA	12
2.2 ETIOLOGIA	12
2.3 EPIDEMIOLOGIA.....	13
2.4 PATOGENIA.....	13
2.5 SINAIS CLÍNICOS.....	14
2.6 ACHADOS DE NECROPSIA	16
2.6.1 Lesões Macroscópicas	16
2.6.2 Lesões Microscópicas.....	17
2.7 DIAGNÓSTICO	17
2.7.1 Pesquisa De Anticorpos Igm E Igg.....	18
2.7.2 Imunohistoquímica	19
2.7.3 Imunoensaio Cromatográfico	19
2.7.4 Análise Do Líquido Cefalorraquidiano	22
2.7.5 Exame Hematológico.....	22
2.7.6 Teste Do Isolamento Viral.....	24
2.7.7 Pesquisa De Inclusões De Lentz.....	24
2.7.8 Técnica De Reação Em Cadeia Pela Polimerase Precedida De Transcrição Reversa (Rt- Pcr).	25
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

LISTA DE ABREVIATURAS

CC- Cinomose Canina

VCC- Vírus da Cinomose Canina.

RNA- Ácido Ribonucleico.

RT-PCR- Reação em Cadeia da Polimerase da Transcriptase Reversa.

SNC- Sistema Nervoso Central.

LCR- Líquido Cefalorraquitidiano.

DNA-Ácido Desoxirribonucleico.

MDCK- Madin Darby canine kidney.

CL- Corpúsculo de Lentz.

DNNE- Neutrofilia com desvio nuclear neutrofílico à esquerda.

qPCR- - Reação em Cadeia da Polimerase da Transcriptase Reversa em tempo real.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cão com cinomose apresentando secreção ocular purulenta.....	15
Figura 2. Cão com cinomose apresentando pústulas e crostas na região ventral do abdômen.....	15
Figura 3. Cão com cinomose apresentando hiperqueratose do plano nasal.....	16
Figura 4. Cão com cinomose apresentando hipoplasia de esmalte dentário.....	16
Figura 5. Níveis de anticorpos pós vacina de cinomose em cães saudáveis.....	18
Figura 6. Instruções de uso do kit para detecção de vírus da cinomose.....	21
Figura 7. Interpretação positiva do kit para detecção do vírus da cinomose. Presença de 2 bandas (ou faixas) rosas, uma referente ao controle (C) e a outra referente aos testes (T) positivos.....	21
Figura 8 – Interpretação negativa do kit para detecção do vírus da cinomose. Ausência de coloração no espaço abaixo da linha T, referente ao teste.....	21
Figura 9 – Corpúsculos de Lentz intracitoplasmáticos (setas) em leucócitos de um cão de 10 dias de idade.....	25

RESUMO

ARAÚJO, ELIANE MÍRIAM SILVA. Métodos de diagnósticos da cinomose canina- Revisão de literatura. UFCG, 2012 33p. (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

A cinomose canina é uma doença altamente contagiosa causada por um vírus da família *Paramixoviridae*, do gênero *Morbilivírus*. Acomete uma ampla variedade de hospedeiros além de cães domésticos. Objetivou-se com este trabalho fazer uma abordagem teórica, através de pesquisas de acervos bibliográficos sobre os métodos de diagnóstico da cinomose canina que possa auxiliar no diagnóstico da doença. Dentre as técnicas utilizadas para diagnosticar o vírus da cinomose canina além dos exames complementares como hemograma e análise do líquido, foram citados o isolamento viral, pesquisa de anticorpos séricos, imuno-histoquímica, a técnica de reação em cadeia polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR), imunoensaio cromatográfico, achados hematológicos e pesquisa de inclusão de Lentz. Pode-se concluir que dentre os métodos de diagnóstico pesquisado no presente trabalho, a técnica *ante mortem* de reação em cadeia polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) mostrou-se mais eficaz para o diagnóstico do vírus da cinomose canina. Porém essa técnica apesar de possuir alta sensibilidade e especificidade não vêm sendo difundida na rotina da clínica médica veterinária de pequenos animais devido a seu alto custo. Como alternativa podemos usar os kits imunoensaio cromatográfico.

Palavra-chave: Encefalomielite, *morbilivírus*, líquido, imunoensaio cromatográfico.

ABSTRACT

ARAÚJO, ELIANE MÍRIAM SILVA. Diagnostic method for canine distemper - Literature review. UFCG, 2012 33p. (Final paperwork for Veterinary Medicine course).

Canine Distemper Virus (VCC) is a highly contagious disease, caused by a virus in the family *Paramyxoviridae*, of the *Morbillivirus* type, which targets a wide variety of hosts besides domestic dogs. This paperwork attempts to make an updated theoretical approach that may help to establish an earlier diagnosis for this disease, through the different bibliographic collection about diagnosis methods on canine distemper. Among the techniques being used to diagnose this virus, besides supplementary tests such as complete blood-count test (CBC) and liquor analysis; virus isolation, serologic studies research, immunohistochemistry analysis, the real time reverse transcription polymerase chain reaction assay technique (RT-PCR), chromatographic immunoassay, hematologic results and inclusion research by Lentz were also listed. It can be therefore concluded that among the diagnostic methods investigated here, the real time reverse transcription polymerase chain reaction *ante mortem* assay technique (RT-PCR) showed to be more effective in the diagnosis of the current virus. However, despite this technique being the most sensitive and accurate method, it is not being incorporated into the clinical veterinary medicine routine for domestic animals due to its high cost-benefit ratio. As an alternative we could use the chromatographic immunoassay kits.

Key words: canine distemper, *morbillivirus*, diagnostic method.

1. INTRODUÇÃO

A cinomose canina (CC) é uma enfermidade infecto contagiosa que causa imunossupressão, causada por vírus que se apresenta com manifestações de doença contagiosa aguda apresentando sinais clínicos como respiratório, gastrointestinal, oftalmológica, dermatológicos e ou nervoso que podem ocorrer sequencialmente, isoladamente ou simultaneamente. A infecção pode-se apresentar nas formas pulmonar, neurológica e sistêmica e sua intensidade pode variar de acordo com sua variante viral, o estado imunológico, ou idade dos cães. O vírus da cinomose canina é considerado um dos mais importantes patógenos que acometem cães jovens e adultos em todo o mundo, além de outros carnívoros e mamíferos marinhos, mas a incidência é maior em cães não vacinados após a perda da imunidade da mãe (6 a 12 semanas de idade).

É um *paramyxovirus* com diferenças consideráveis na patogenicidade entre suas variantes. É encontrada em todas as excreções dos animais infectados durante a fase sistêmica da doença e a transmissão ocorre através da inalação de aerossóis e partículas virais contaminadas.

O diagnóstico clínico é dificultado pelo amplo aspecto de sinais, que também pode ser encontrado em outras doenças virais tais como parainfluenza, parvovirose, coronavirose e outras infecções que acomete os cães. Para um diagnóstico definitivo de infecção por VCC, é necessária a demonstração de inclusões virais por exame citológico, coloração de inclusões virais por exame citológico, coloração direta com anticorpos fluorescente sobre amostras citológicas ou histológicas, isolamento de vírus ou a comprovação de RNA do VCC no sangue periférico, liquor ou raspados conjuntivais pela reação em cadeia da polimerase da transcriptase reversa (RT-PCR) ou através do teste imunoensaio cromatográfico. Dessa forma o presente trabalho tem como objetivo fazer uma abordagem teórica e atualizada sobre os principais métodos de diagnóstico da cinomose canina que possa servir como fonte de consulta para os clínicos de pequenos animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CINOMOSE CANINA

A cinomose canina é uma enfermidade viral multissistêmica altamente contagiosa e severa que acomete os cães e outros carnívoros, sendo assim conhecida mundialmente (BIRCHARD & SHERDING, 2003). É uma doença infecciosa importante para os cães domésticos e apresenta alta morbidade (MARTINS et al., 2009). Considerada como a doença viral mais prevalente nos cães, a cinomose é a causa comum de convulsões em cães com menos de seis meses de idade (ETTINGER & FELDMAN, 1997). Em cães o grau de mortalidade induzido pela cinomose canina só fica atrás dos números apresentados pela raiva dos cães, em que os índices vão desde 30% a 70% (GREENE & APPEL, 2006, *apud* MARTINS et al., 2009)

Causa imunossupressão grave e comprometimento caracterizado principalmente por lesões respiratórias, gastrointestinais, dermatológicas, oftalmológicas e neurológicas (SUMMERS et al., 2005 *apud* SILVA, 2009). Deve-se suspeitar desta doença quando o cão apresentar histórico de não vacinação com exposição ao vírus e apresentar distúrbios neurológicos multifocais acompanhados de febre, transtornos respiratórios, gastrointestinal, dermatológico e ocular (NELSON & COUTO, 2010).

Segundo FIGHERA et al. (2008), a cinomose canina foi considerada como uma das principais doenças causadoras de morte e razão para indicação de eutanásia na população canina do Centro Ocidental Rio-Grandense, representando 602/4844 (12,4%) dos casos.

2.2 ETIOLOGIA

É causada pelo vírus da VCC, um *Morbillivirus* da família *paramyxoviridae*. O vírus da cinomose canina (VCC) varia quanto ao tamanho e à forma. As partículas virais são esféricas e tem tamanho entre 150 e 300 nm. O ácido nucleico viral é um RNA de fita simples linear, e o capsídeo viral é composto de seis polipeptídios principais (ZEE, 2003).

O vírus da cinomose canina é sensível a fatores ambientais, como os extremos de temperatura e pH, e a diversos desinfetantes. Ele é inativado por luz ultravioleta e aquecimento a 60°C por 30 minutos. O vírus pode sobreviver em tecidos por 48 horas a 25°C por 14 dias a 5°C. A estabilidade ótima de pH para o VCC é 7,0. A infectividade viral é perdida em pH acima de 10,4 ou abaixo de 4,4. É rapidamente inativado por

desinfetantes, como Roccal a 0,2% (um composto de amônio quaternário) e solução de fenol a 0,75% (ZEE, 2003).

2.3 EPIDEMIOLOGIA

O vírus da cinomose canina (VCC) tem distribuição enzoótica mundial (SHERDING & BIRCHARD, 2003). A infecção dissemina-se rápido entre os cães, sendo os não imunizados de qualquer idade, sexo ou raça os mais susceptíveis, porém a doença é mais comum em filhotes entre 3 e 6 meses, já que provavelmente não possuem mais a imunidade passiva derivada da mãe (NELSON & COUTO, 2006).

O VCC acomete uma ampla variedade de hospedeiros além de cães domésticos e muitos carnívoros silvestres tais como os da família *canidae* – raposa, coiote, lobo e chacal, os da família *mustalidae*- vison, doninha, marta, cancambá, texigo e lontra, os da família *procyonidae*- guaxinim, panda, jupará e quati, os da família *felidae* exóticos, mas não os gatos domésticos (SHERDING & BIRCHARD, 2003), focas e golfinho e um primata não-humano tem sido infectado pelo VCC ou por um vírus relacionado (NELSON & COUTO, 2006). O cão é o principal reservatório da doença. Cães infectados secretam vírus nas secreções nasal e ocular, fezes, urina durante o curso da doença (ZEE, 2003).

2.4 PATOGENIA

A transmissão ocorre principalmente por aerossóis e gotículas infectantes provenientes de secreções e excreções oculares, respiratório, digestivas e urinárias (ETTINGER & FELDMAN, 1997). As maiores oportunidades de disseminação ocorrem em ambientes onde os cães são mantidos em grupos, como lojas de animais, abrigos, canis, clínicas veterinárias e colônias de pesquisas (BIRCHARD & SHERDING, 2003). O vírus se replica nos tecidos linfóide, nervoso e epidérmico e é eliminado nos exsudatos respiratórios, fezes, urina e exsudatos conjuntivais por até 60 a 90 dias após a infecção natural (NELSON & COUTO, 2010).

O VCC penetra no epitélio do trato respiratório superior e em 24 horas multiplica-se em macrófagos teciduais, de onde se dissemina para os linfonodos regionais e multiplica-se por mais dois a quatro dias. Nesse período, a multiplicação viral concentra-se nos folículos linfóides do baço, tecido linfático associado à lâmina própria do estômago e intestino delgado, linfonodos mesentéricos e nas células de Kupffer no fígado (SUMMERS & APPEL, 1994 apud TORRES & RIBEIRO, 2012). A multiplicação viral no tecido linfóide gera imunossupressão durante o período de incubação, que contribui para

desenvolvimento de infecções secundárias oportunistas, fator importante no desfecho da doença e principal causa de morte (GREENE & APPEL, 2006 apud TORRES & RIBEIRO, 2012).

O sistema nervoso central (SNC) e os tecidos epiteliais são infectados em aproximadamente 8 a 9 dias após a infecção inicial. A propagação do VCC nas células epiteliais do trato respiratório, do sistema gastrointestinal e do sistema geniturinário ocorre nos cães com resposta imunes inadequada 9 a 14 dias após a infecção. Nos cães com resposta imune moderada, o vírus se replica nos tecidos epiteliais e pode induzir os sinais clínicos da doença. Cães com boa resposta imune celular e humoral no 14º dia pós-infecção eliminam os vírus da maior parte dos tecidos e podem não se tornar clinicamente afetados. A maioria dos cães desenvolve infecção do SNC, mas os sinais clínicos de doença do SNC só ocorrem nos cães com baixa ou nenhuma resposta de anticorpos (NELSON & COUTO, 2010).

Anticorpos específicos IgG-VCC são eficientes em neutralizar o vírus extracelular e, assim impedir sua propagação intercelular. Portanto a gravidade da doença é inversamente proporcional ao título de anticorpos. Cães com baixa resposta imune terão maior dispersão viral e, conseqüentemente, doença clínica (GREENE & VANDELDELDE, 2012 apud TORRES & RIBEIRO, 2012).

A transmissão da doença também pode ocorrer por via transplacentária a qual foi observada em um cão de 10 dias de idade, com sintomatologia nervosa, alterações hematológicas e corpúsculos de Lentz em esfregaço sanguíneo (NOTETO et al., 2011).

2.5 SINAIS CLÍNICOS

Muitos cães clinicamente afetados não são vacinados, não receberam colostro de uma cadela imunizada, foram vacinados inadequadamente ou estão imunossuprimidos e também apresentam um histórico de exposição a animais infectados (NELSON & COUTO, 2010). Os sinais clínicos mais frequentes em cães infectados pelo VCC são alterações oculares, respiratórias, gastrintestinais, dermatológicas e neurológicas (MONTEIRO, et al., 2008).

Os sinais clínicos podem ou não seguir uma cronologia, porém na maioria trata-se de uma doença aguda febril. Após um período de incubação de três a sete dias manifestam-se os sinais inespecíficos de prostração, inapetência e elevação bifásica da temperatura (39,5 - 41,0° C), acrescidos de fluxo nasal e lacrimal seromucosos (ZEE, 2003). Cães

infectados anteriormente ao desenvolvimento da dentição permanente em geral apresentam hipoplasia de esmalte. Hiperceratose no nariz e nos coxins e dermatites com pústulas abdominais são as anormalidades dermatológicas mais comuns. Normalmente, auscultam-se ruídos bronquiais aumentados, crepitações e sibilos nos cães com broncopneumonia (NELSON & COUTO, 2010).

Dentre os sinais em animais com cinomose na fase neurológica, incluem-se mioclonia, convulsão, rigidez cervical, hiperestesia, tremores musculares, paresia, paralesia, ataxia, mudanças comportamentais, depressão e desorientação (NEGRÃO et al., 2007). A mioclonia, caracterizada pela contração repetitiva de um músculo ou de um grupo deles, é considerada um dos movimentos involuntários de maior ocorrência em cães suspeitos de cinomose (TUDURY et al., 1997).



Figura 1. Cão com cinomose apresentando secreção ocular purulenta. Fonte: Frade, 2011.



Figura 2. Cão com cinomose apresentando pústulas e crostas na região ventral do abdômen e face interna da coxa. Fonte: Frade, 2011.



Figura 3. Cão com cinomose. Hiperqueratose do plano nasal. Fonte: Frade, 2011.



Figura 4. Cão com cinomose apresentando hipoplasia de esmalte dentário. Fonte Nascimento, 2009.

2.6 ACHADOS DE NECROPSIA

2.6.1 Lesões Macroscópicas

Estudos realizado por SILVA et al.(2009) através de uma investigação anátomo-patológica das lesões e sua distribuição no sistema nervoso central (SNC) de 70 cães com cinomose foram observadas que as lesões macroscópicas no sistema nervoso central ocorrem com baixa frequência e encefalomielite induzida pelo vírus da cinomose canina é mais prevalente em filhotes e adultos (cães com idade entre um a seis anos), não havendo predisposição por raça ou sexo. Dos 70 encéfalos examinados, as lesões macroscópicas foram observadas em cinco (7,1%) casos e correspondiam à dilatação moderada dos ventrículos laterais (4/70; 5,7%) e amolecimento com depressão da substância branca telencefálica subcortical dos lobos frontal e occipital (1/70; 1,4%). Das 54 medulas

espinhais examinadas, em duas (3,7%) havia alteração macroscópica caracterizada por amolecimento do parênquima com perda da definição do “H” medular.

Segundo SONNE et al.(2009) os achados macroscópicos mais frequentes observadas em cães com cinomose são caracterizadas por corrimento ocular e nasal mucopurulentas, hiperqueratose dos coxins digitais, pulmões avermelhados e não colapsados, atrofia do timo, conteúdo intestinal diarréico e placas de Peyer proeminentes, pústulas abdominais e linfonodos aumentados de volume.

2.6.2 Lesões Microscópicas

No SNC o VCC causa lesões principalmente no cerebelo e nas colunas brancas da medula espinhal, caracterizadas por áreas de necrose bem delimitadas, desmielinização e inclusões intranucleares principalmente em astrócitos. Corpúsculo de inclusão intracitoplasmáticos e/ou intranucleares no epitélio vesical aliado á hiperemia, são alterações que podem estar presentes na infecção pelo VCC (JONES et al., 2000).

Segundo DOXEY (1984) as lesões vasculares incluem hipertrofia e hiperplasia das paredes dos vasos sanguíneos, infiltração perivascular linfocítica e, mais tarde, principalmente na medula espinhal, vasculite e oclusão vascular.

2.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da cinomose canina é um desafio para o médico veterinário, mesmo quando amparado por exames complementares, pois a forma de manifestações clínica e a evolução da doença podem variar de acordo com a cepa viral infectante, a idade e o estado imunológico do animal. O diagnóstico clínico da cinomose é muitas vezes inconclusivo, portanto, faz-se necessário o diagnóstico diferencial com outras doenças infecciosas e parasitárias que podem apresentar um quadro semelhante (AMUDE et al., 2007b).

Exames complementares, como análise do líquido, podem ser realizados e sugerir a infecção pelo vírus da cinomose canina. Entretanto, para a confirmação do diagnóstico da doença são necessários testes específicos, tais como, imuno-histoquímica, pesquisa de anticorpos séricos, isolamento viral, detecção do ácido nucléico por reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa RT-PCR (CUNHA et al., 2013), através do imunoensaio cromatográfico (GENELHU, 2006 apud PEREIRA, 2010), achados hematológicos ou através de pesquisa de inclusão de Lentz. (MENDONÇA et al. 2000).

2.7.1 Pesquisa de Anticorpos IgM e IgG

A comparação das respostas dos anticorpos IgM, IgA e IgG contra um agente infeccioso pode ser utilizada para tentar provar uma infecção recente ou ativa. Em geral, IgM é o anticorpo inicialmente produzindo contra a exposição antigênica. A mudança para a classe IgG ocorre em dias ou semanas. Respostas imunes por IgA no soro e mucosas também tem sido estudas para alguns agentes infecciosos (NELSON & COUTO, 2010).

A cinomose canina produz imunidade em cães que se recuperam da infecção viral. Anticorpos neutralizantes aparecem inicialmente no soro de cães infectados 8 a 9 dias após exposição viral, alcançando um pico em 4 a 5 semanas. Em cães infectados experimentalmente com VCC, IgA específica contra o vírus não é detectada no soro. Os níveis de IgM antiviral são equivalentes tanto em cães infectados de maneira persistente como em animais recuperados, enquanto altos níveis de IgG são vistos apenas em animais recuperados da enfermidade (ZEE, 2003). O aumento do título de anticorpos neutralizantes pode ser mensurado em cães que sobreviveram na fase aguda da infecção, no entanto a presença de IgM é específica para infecção recente ou 30 dias após a vacinação (LAPIN, 2006).

As partículas virais podem ser detectadas por meio da imunofluorescência de células das tonsilas, do trato respiratório, trato urinário, da conjuntiva e do LCR por 5 a 21 dias após a infecção (NELSON & COUTO, 2006). A técnica consiste na coleta do material isento de contaminação, mediante a raspagem suave da membrana mucosa, utilizando extremidade romba do cabo de bisturi ou cotonete que será transferido para lâmina limpa e examinada logo após o procedimento (ZEE, 2003).

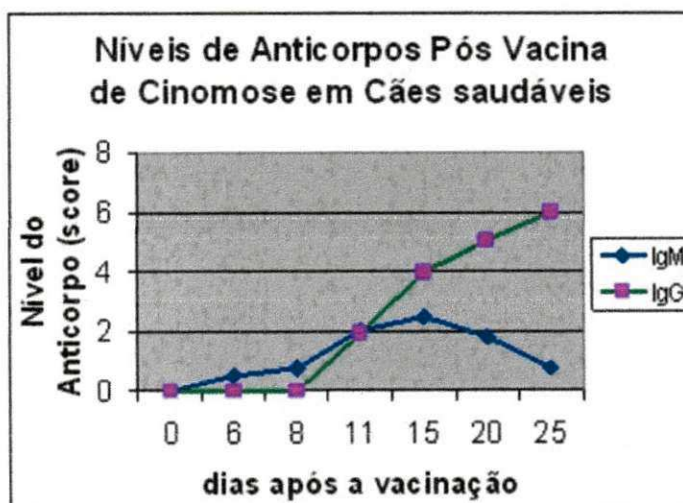


Figura 5. Níveis de anticorpos pós vacina de cinomose em cães saudáveis. Fonte: www.oswaldocruz.com.br.

2.7.2 Imunohistoquímica

É outro método de diagnóstico que se caracteriza por ser definitivo, já que as lesões causadas pelo vírus da cinomose no sistema nervoso central são bastante características. Mas este procedimento constitui um diagnóstico *pos mortem*, não permitindo o diagnóstico precoce e *ante mortem* da infecção. Os tecidos para confirmação histológica (em formalina a 10%) devem incluir tonsila, linfonodo, timo ou baço, pulmão (incluindo brônquio principal), estômago, íleo, bexiga e cérebro (incluindo o cérebro posterior). As lesões não se encontram em todos os tecidos, e os corpúsculos de inclusão podem ser difíceis de achar. Os tecidos frescos congelados instantaneamente para detecção imunohistoquímica de antígenos virais só são revelantes quando se encontra disponível um laboratório adequadamente equipado (DUNN, 2001 apud LIMA, 2007).

Estudo realizado por GEBARA et al. (2004b) avaliando as lesões histológicas de dez cães necropsiado com sinais clínicos sistêmicos e neurológico onde nove foram positivo para cinomose canina, analisados pela técnica RT-PCR apresentaram alterações histológica no cérebro e cerebelo característica de encefalite aguda (5/9) ou crônica (4/9) com lesões caracterizadas por áreas de desmielinização, necrose, maguinto perivascular e corpúsculo de inclusão no cerebelo e desmielinização multifocal moderada da substância branca, astrogliose moderada, pequenos manguitos perivasculares, corpúsculos eosinofílicos e intranucleares em astrócitos no cérebro.

2.7.3 Imunoensaio Cromatográfico

O diagnóstico precoce é importante para o estabelecimento do prognóstico, exclusão de outras causas e cuidado adequado com os contactantes, principalmente quando animais com sinais sugestivos são atendidos em hospitais veterinários (GEBARA et al., 2004). Seria interessante que um teste acessível para o clínico de pequenos animais permitisse o diagnóstico precoce, principalmente quando se considera a necessidade de internamento de animais com sinais inespecíficos da doença e o risco de transmissão da cinomose para outros cães. Recentemente, visando suprir esta necessidade, foi introduzido no mercado kits de imunoensaio cromatográfico para detecção de antígeno da cinomose em cães, para uso em clínicas e consultórios, nos quais amostras de urina, saliva, soro, plasma ou líquido são utilizados com o objetivo de detectar a proteína F do envelope do vírus (CURTI et al., 2012)

Este teste utiliza um sistema de fase sólida em que os anticorpos específicos na superfície de placas ou tubos reagem contra a amostra teste contendo o vírus suspeito, permitindo a análise visual do resultado, porém de forma qualitativa (CURTI et al., 2012).

A embalagem do teste recomenda a utilização do líquido quando o cão apresenta sinais neurológicos característicos da cinomose. Resultados falso-negativos podem ocorrer se o animal estiver na fase crônica da doença e outras amostras forem utilizadas, pois o vírus pode não estar sendo eliminado nesta fase (PEREIRA, 2010).

CURTI *et al* (2012) através de um trabalho realizado para avaliar a eficácia do teste cromatográfico para detecção de Antígenos da cinomose em 33 cães com suspeita de cinomose canina com sinais clínicos e neurológico comparando o resultado com RT-PCR verificou que kit de imunoensaio cromatográfico não foi eficaz para o diagnóstico da cinomose em sua forma neurológica, pois nenhum animal apresentando apenas sinais neurológicos foi diagnosticado por este exame, porém o teste apresentou resultado positivo em cães com sinais sistêmicos. Já teste através da RT-PCR foi mais sensível que o teste do antígeno quando a amostra biológica examinada foi o líquido.

O teste cromatográfico não colaborou para o diagnóstico da cinomose em muitos casos, permitindo ainda a obtenção de resultados falso-negativos da doença, o que poderia levar à presença de animais infectados eliminando o vírus no ambiente e colocando em risco outros animais, dentro de uma população em que a maioria não é vacinada, caso o clínico confie somente neste exame para o diagnóstico (CURTI et al., 2012)

Pereira (2010) também realizou o teste do Ag em cães submetidos à eutanásia devido à presença de sinais sistêmicos e neurológicos compatíveis com cinomose, em uma Sociedade Protetora de Animais, obtendo 31 resultados positivos em líquido de cães com sinais oculares associados a sinais neurológicos, encontrando, porém corpúsculos de inclusão no globo ocular de cinco cães negativos no teste do Ag, constatando assim sensibilidade de 86% e especificidade de 100% quando o teste foi realizado no líquido e considerando como padrão de comparação a presença de corpúsculo de inclusão no exame histopatológico, sendo que a bula do kit comercial indica sensibilidade de 98,9% e especificidade de 97,7%.

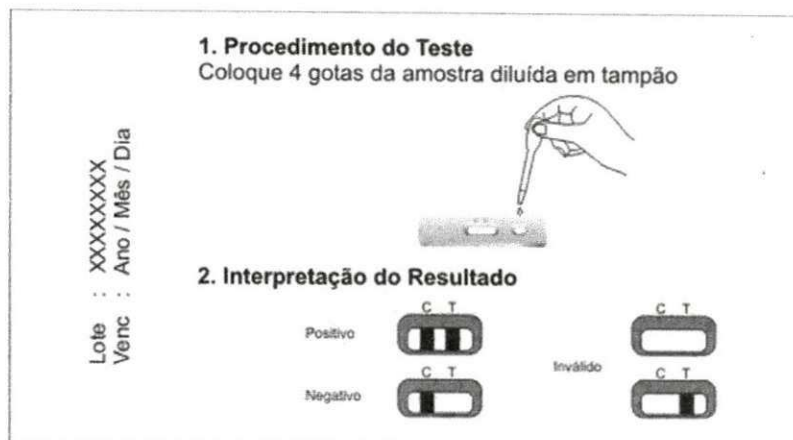


Figura 6. Instruções de uso do kit para detecção do vírus da cinomose. Fonte: www.vencofarma.com.br

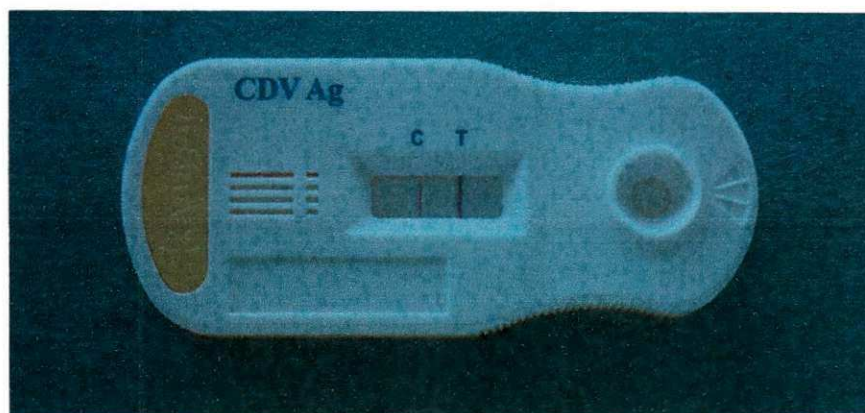


Figura 7. Interpretação positiva do kit para detecção do VCC. Presença de 2 bandas (ou faixas) rosas, uma referente ao controle (C) e a outra referente aos testes (T) positivos. Fonte: Pereira, 2010.

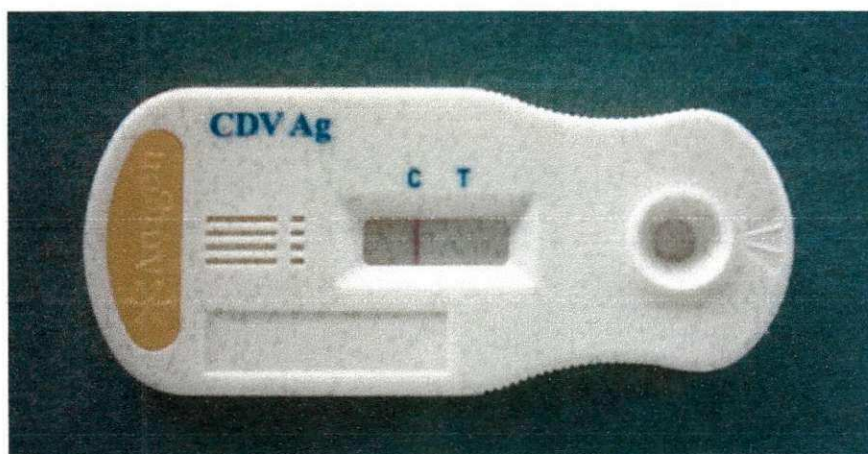


Figura 8. Interpretação negativa do kit para detecção do VCC. Ausência de coloração no espaço abaixo da linha T, referente ao teste. Fonte: Pereira, 2010.

2.7.4 Análise Do Líquido Cefalorraquidiano

A análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) é de grande importância na avaliação de doenças neurológicas, particularmente aquelas de origem infecciosa, pois sua composição pode variar diretamente com processos patológicos do sistema nervoso central (FEITOSA et al., 1997). Essa técnica pode auxiliar no diagnóstico da infecção pelo vírus da cinomose, embora alguns cães com a infecção no SNC apresentem análise normal do LCR, muitos apresentam pleocitose das células mononucleares e aumento na concentração de proteínas (NELSON & COUTO, 2006). Em condições patológicas FEITOSA et al (2007) relata que, geralmente, em cães portadores de encefalite ocorre hiper celularidade líquórica, em cujas infecções virais a pleocitose é caracterizada por maior quantidade de linfócitos, havendo ainda, a presença de monócitos, macrófagos e raros neutrófilos.

Estudos comprovam que as características físico-químicas do liquor tais como, coloração, aspecto, densidade, pH e glicose, não foram capazes de contribuir para indicar qualquer anormalidade líquórica, nas diferentes fases da cinomose canina. Por outro lado, o componente proteico e a celularidade líquórica mostraram alterações importantes na presença de sinais neurológicos, porém na ausência destes, não adicionam informações capazes de levar à detecção precoce de lesões do sistema nervoso central em colaboração ao diagnóstico da referida enfermidade (GAMA et al., 2005).

Anticorpos no LCR contra o vírus da cinomose são elevados em alguns cães com encefalite (NELSON & COUTO, 2006) e oferecem uma evidência presuntiva da encefalite pela cinomose, já que estes anticorpos são produzidos no local, e este aumento não é encontrado em animais vacinados ou na cinomose sistêmica sem alterações neurológicas, sendo importante citar que a amostra não deve estar contaminada para um diagnóstico seguro (MANGIA; PAES, 2008 *apud* NASCIMENTO 2009). As anormalidades líquóricas encontradas por TUDURY et al . (1997) foram aumento de proteínas totais e pleocitose em cães com cinomose nervosa.

2.7.5 Exame Hematológico

As inclusões virais podem ser encontradas, em raras ocasiões, em eritrócitos, leucócitos e precursores dos leucócitos dos cães infectados (NELSON & COUTO, 2006). O perfil hematológico de cães positivos para cinomose difere de acordo com tipo de célula

sanguínea que apresenta Corpúsculo de Lentz (CL) (BARBOSA et al 2011). No quadro hematológico, os principais achados em cães são linfopenia, anemia e trombocitopenia. No final da primeira semana após a infecção, os animais podem apresentar discreta neutropenia. Na presença de infecção bacteriana secundária, observa-se neutrofilia (ALMEIDA et al., 2009).

Estudos realizados avaliando o quadro hematológico dos cães com cinomose verificaram que nem sempre está alterado e quando presentes não são específicas da doença (GEBARA et al., 2004a).

Estudos realizados em trinta cães com sinais clínicos e corpúsculos de inclusão de Lentz em células sanguíneas, foram observadas as alterações hematológicas como de anemia (80%); leucocitose (13,3%); leucopenia (10%); DNNE (33,3%); neutrofilia (46,7%); linfopenia (46,7%); linfocitose (6,7%); monocitose (13,3%) e trombocitopenia (36,7%) e 86,7 % dos animais tinham corpúsculo de inclusão vírica em linfócitos. Essas alterações hematológicas de anemia, leucopenia, neutrofilia com desvio nuclear neutrofilico à esquerda (DNNE) e trombocitopenia, são significativos e podem ser utilizadas pelos clínicos veterinários como recursos diagnósticos auxiliares na cinomose canina, mas deve ser devidamente confirmada pela presença de corpúsculos de inclusão vírica nas células sanguíneas (VICENTE et al., 2010).

TUDURY et al. (1997) estudando pacientes como cinomose na fase nervosa observaram que as alterações hematológicas mais frequentes nos animais, leucocitose, neutrofilia e linfopenia.

LOPES (2013) avaliou os resultados laboratoriais de exames hematológicos de 252 casos de cães suspeitos de Cinomose canina. Foi observado que dos 252 casos os parâmetros hematológicos variaram em 60,7% (153/252) estavam anêmicos. Em 15,1% (38/252) foi observada leucopenia e 40,5% (102/252) dos casos apresentaram linfopenia. Em cinco casos clínicos foi solicitada pesquisa de inclusões de Lentz, sendo estes, positivo em todos. Lopes (2013) concluiu que os exames hematológicos e pesquisa de inclusão viral são exames que definitivamente não possibilitam a confirmação da Cinomose canina, tornando-se necessário implementar a utilização de exames mais específicos.

2.7.6 Teste Do Isolamento Viral

O isolamento viral em cultivo celular é específico (SHIN et al., 1995), podendo ser difícil sua realização (QUINN et al., 2005). Bexiga urinária, creme leucocitário de sangue com heparina e cerebelo são espécies *pos-mortem* adequados para a técnica. Essa técnica é demorada e pode obter resultados falso-negativos (SHIN et al., 1995).

Em um estudo de caso descrito por AMUDE et al. (2007b) através do isolamento e caracterização molecular do vírus da cinomose canina de um cão adulto com encefalomielite multifocal pela cinomose, seu diagnóstico *ante morte* não foi idealizado devido a ausência de sinais típicos da enfermidade tais como mioclonias e alterações sistêmicas. O diagnóstico definitivo da cinomose só foi efetuado *post-mortem* através do isolamento do vírus em cultura de células fresca do sistema nervoso central (SNC). O isolamento do VCC foi conseguido com sucesso em culturas de células MDCK (Madin Darby canine kidney) na terceira passagem e foi assegurado por meio de efeito citopático e através da detecção do RNA do VCC por meio da técnica RT-PCR na cultura de células MDCK infectada na mesma passagem

2.7.7 Pesquisa De Inclusões De Lentz

O vírus da cinomose pode ser confirmado pela identificação de corpúsculo de inclusão de Lentz em células associadas à exudato, em células epiteliais e em neutrófilos, eritrócitos ou leucócitos (JONES et al., 2000), porém sua ausência não exclui a possibilidade de infecção, pois são frequentemente observadas na fase de viremia e, geralmente não são encontradas nas infecções crônicas (GEBARA et al., 2004). Também pode ser observada nos epitélios do estômago, pelve renal, pulmão, bexiga, conjuntiva, coxins digitais e em células do sistema nervoso central. (SONNE et al., 2009).

Através de um relato de caso NOLETO et al. (2011) confirmou a presença de corpúsculo de Lentz intracitoplasmático em leucócitos em um cão de 10 dias de idade macho, branco, sem raça definida pesando 500 gramas e que apresentava convulsões periodicamente. Foi feito o hemograma desse animal constatando anemia macrocítica normocrômica regenerativa e trombocitopenia. Ao realizar a contagem diferencial de leucócitos pela leitura do esfregaço sanguíneo, constatou-se a presença de corpúsculo de Lentz intracitoplasmático em monócitos e neutrófilos. Observando alterações hematológicas no cão relatado, os mesmos exames foram realizados no irmão e na mãe do animal em questão. Foram achados corpúsculos de Lentz no esfregaço sanguíneo apenas

do irmão, apesar de não apresentar sinais clínicos semelhantes ao filhote relatado, entretanto apresentando achados hematológicos similares. A mãe apresentava-se com anemia normocítica normocrômica e ligeira trombocitopenia, aparentemente normal ao exame clínico. Assim, a ausência de corpúsculos de Lentz não exclui a possibilidade da doença. NOLETO et al. (2011) concluiu com o referido relato que o cão foi infectado pelo vírus da cinomose canina por via transplacentária, apresentando corpúsculos de Lentz intracitoplasmático em monócitos e neutrófilos, caracterizando uma alta viremia em menos de duas semanas de vida. Esta inclusão pode ser considerada para cinomose canina uma ferramenta de diagnóstico precoce, rápida e de baixo custo, entretanto, a exclusão desta não descarta a doença (NOLETO et al., 2011).

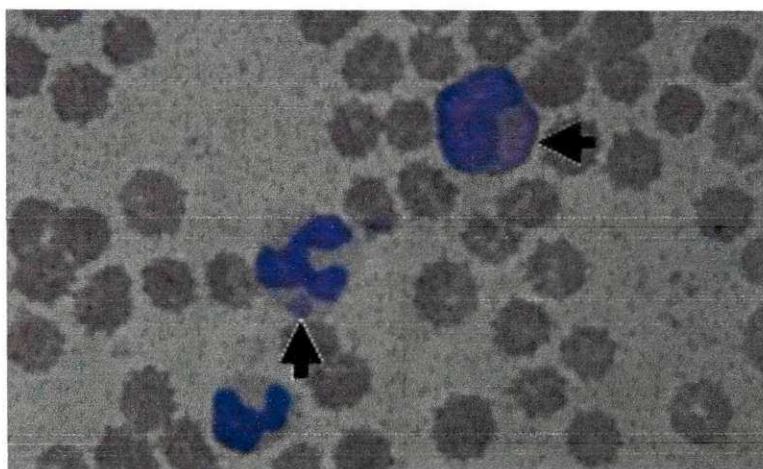


Figura 9. Corpúsculos de Lentz intracitoplasmáticos (setas) em leucócitos de um cão com 10 dias de idade. Fonte: Noletto, 2011.

2.7.8 Técnica De Reação Em Cadeia Pela Polimerase Precedida De Transcrição Reversa (Rt-Pcr).

Visa detectar o ácido nucléico viral no sangue e tecidos, pelo método de reação em cadeia polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) (BARRETO, 2006). A PCR amplifica pequenas quantidades de DNA até níveis detectáveis. Com a transcriptase reversa, o RNA é convertido em DNA, portanto a técnica pode ser usada para detectar RNA (RT-PCR) (NELSON & COUTO, 2010).

A RT-PCR vem sendo empregada na detecção do vírus da cinomose, devido a sua rapidez na obtenção dos resultados, a não exigência da infeciosidade da partícula viral e os

altos níveis de sensibilidade e especificidade. Seu procedimento requer diferentes tipos de amostras biológicas como sangue, soro, urina, e fragmentos de órgãos (GEBARA et al., 2004).

Apesar de sensível e específica, a RT-PCR pode também não excluir a infecção. Nesse caso, os resultados podem sofrer interferência de vários fatores tais como: seleção da sequência alvo de nucleotídeos a ser amplificada, método de extração do RNA a ser utilizado, padronização dos reagentes empregados na técnica, seleção do material biológico a ser utilizado para o diagnóstico, forma de conservação e tempo de estocagem, uma vez que trata-se de um vírus cujo genoma é constituído por RNA de fita simples, que pode facilmente sofrer degradação. Entretanto, essa técnica, após adequada padronização, pode revelar-se como uma das principais ferramentas para o diagnóstico etiológico *ante mortem* da infecção pelo VCC (GEBARA et al., 2004; NEGRÃO et al., 2006).

Um estudo realizado por GEBARA et al (2004), com amostra de urina de 87 cães que apresentaram sinais clínicos sugestivo de cinomose foi avaliada pela reação em cadeia da polimerase, precedida de transcrição reversa (RT-PCR). Os cães foram divididos em quatro grupos, grupo A, 41 cães com sintomas sistêmicos da doença, grupo B 37 cães com sinais neurológicos, grupo C 9 cães com sinais sistêmicos e neurológicos simultaneamente e o grupo D como grupo controle com 20 cães assintomáticos. Das 87 amostras de urina do proveniente dos cães com sinais sugestivo de cinomose canina 41 (47,1%) das amostras foram positivas para o VCC. Todos os animais do grupo controle (D) foram também avaliados por até 15 dias após a colheita de material biológico (urina/sangue) e nenhum deles apresentou qualquer sinal clínico sistêmico e/ou neurológico durante esse período (GEBARA et al., 2004).

Recentemente, observou-se que a urina é uma amostra biológica sensível para a detecção *ante-mortem* do VCC por RT-PCR em cães com encefalomielite pela cinomose, nos quais o diagnóstico clínico não foi possível de ser idealmente realizado, neste estudo em 4 dos 5 cães o vírus pode ser detectado na urina por RT-PCR (AMUDE et al., 2006).

A RT-PCR para a detecção do gene da nucleoproteína do VCC, utilizando a urina como amostra biológica, proporcionou o diagnóstico *ante mortem* da cinomose em cães com sinais clínicos sugestivos da infecção. O emprego de um método sensível de diagnóstico *ante mortem* do VCC permite que condutas adequadas de tratamento e

profilaxia, tanto da cinomose canina quanto de outras enfermidades que apresentam sinais clínicos semelhantes, possam ser adotadas com antecipação e eficiência (GEBARA et al., 2004).

Outro estudo foi realizado por CUNHA et al. (2013) para detectar e quantificar partículas virais de cinomose em diferentes fluidos e tecidos biológicos de um cão adulto com manifestações clínicas inespecíficas e corpúsculos de Sinéglia Lenz em linfócitos, determinando o melhor tecido para diagnóstico viral *ante mortem* na fase de viremia. Foram coletadas amostras *pos mortem*, de sangue, estômago, cérebro, cerebelo, medula, líquido, pulmão, rins, bexiga, fígado, urina, e terceira pálpebra e foram submetidas ao exame PCR em tempo real (qPCR) onde foram confirmadas a presença de partículas virais em todas as amostras enviadas para análise, em diferentes quantidades confirmando a ocorrência de disseminação viral generalizada, comum em animais imunossuprimidos. Das amostras analisadas o líquido foi a que apresentou maior percentual de partículas virais (1.216) seguindo por bexiga (1.009), cérebro (605), sangue (572), cerebelo (523), rins (373), fígado (257), pulmão (191), estômago (154), terceira pálpebra (70) e urina (2,1). A presença do vírus nos pulmões, na bexiga e na urina demonstra o papel do animal como fonte de infecção, tendo em vista que suas secreções e fluidos podiam entrar em contato com o meio externo, favorecendo a eliminação do vírus no meio ambiente e sua manutenção na população de cães.

CUNHA et al. (2013) concluiu o seu estudo demonstrando que a técnica de qPCR foi uma excelente ferramenta para o diagnóstico precoce da cinomose em diferentes tecidos, tendo o líquido como amostra de eleição para o diagnóstico *ante mortem* da cinomose canina.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cinomose canina é uma doença com manifestações multissistêmica. Por isso o diagnóstico através de sinais clínicos é inconclusivo, pois os mesmos ocorrem em várias outras infecções virais. Conhecer os diferentes métodos para diagnosticar a cinomose canina é de extrema importância para a clínica veterinária, pois só assim podemos obter um diagnóstico da doença, estabelecer um prognóstico, permitindo exclusões de outras causas e ter os cuidados adequados com os contactantes já que a cinomose canina é uma doença de rápida disseminação. Entre os métodos de diagnóstico citados no presente trabalho, a técnica *ante mortem* de reação em cadeia pela polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) tem se mostrado mais eficaz no diagnóstico do VCC de forma rápida e conclusiva. Porém essa técnica apesar de possuir alta sensibilidade e especificidade não vêm sendo difundida na rotina da clínica médica veterinária de pequenos animais devido a seu alto custo. Como alternativa podemos usar os kits imunoensaio cromatográfico atendendo os pré-requisitos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R.K; VASCONCELOS, A.C; CARNEIRO, R.A. **Alterações citológicas do sangue periférico e da medula óssea de cães com cinomose.** Escola de Veterinária - UFMG – Belo Horizonte, MG. 2009.

AMUDE, A.M. et al. **Antemortem diagnosis of CDV infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation.** Veterinary Research Communications, Amsterdam, v.30, p.679–687, 2006.

AMUDE, A.M. et al. **Clinicopathological findings in dogs with distemper encephalomyelitis presented without characteristic signs of the disease.** Research in Veterinary Science, London, v.82, p.416 – 422, 2007b.

BARBOSA T.S; VIERA R.F.C; VIOL.M.A. Avaliação laboratorial da cinomose canina- estudo retrospectivo de 25 casos no município de Araçatuba, São Paulo. **Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages**, v.10, n.2, p.113-118, 2011.

BARRETO, MICHELLE GOMES. **Estudo comparativo das técnicas de imunofluorescência Direta, Imunofluorescência Indireta e coloração de Sellers em amostra de tecido nervoso de cães e de animais silvestres para o diagnóstico da cinomose.** Soropédica: UFRRJ,2006. 58 pág. (Dissertação, Mestrado em Microbiologia e Imunologia Veterinária).

BIRCHARD, S. J. ; SHERDING, R. G. **Manual Saunders, Clínica de pequenos animais.** 2. ed. São Paulo: Rocca, 2003.

CURTI, M.C.; ARIAS, M.V.B.; ZANUTTO, M.S. Avaliação de um kit de imunoenensaio cromatográfico para a detecção do antígeno do vírus da cinomose em cães com sinais sistêmicos ou neurológicos da doença. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.6, p.2383-2390, 2012.

CUNHA, G. R; COSTA, E. D; GIZZI, A. B. R. Detecção precoce e quantificação de vírus da cinomose por PCR quantitativa em tempo real (qPCR) em diferentes tecidos e fluidos de um cão. **Revista Clínica Veterinária**, n. 104, p.90 – 96, 2013.

DEWEY, C. W. Neuroanatomia funcional e não funcional: a chave para a localização da lesão. In: DEWEY, C. W. (Org) **Neurologia de cães e gatos. Guia prático.** São Paulo: Roca, 2006. cap. 1, p. 1-18.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária - moléstias do cão e do gato.** 4.ed. São Paulo: Manole, 1997. v. 1 p.576-581.

FEITOSA, M.M.; FEITOSA, F.L.F.; KOHAYAGAWA, A. et al. **Avaliação física, citológica, de proteínas e determinação qualitativa de globulinas do líquido de cães normais e com encefalites por cinomose.** Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., v.34, p.147-151, 1997.

FIGHERA, R.A. et al. **Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense.** Pesq. Vet. Bras. 28(4):223- 230, abril, 2008.

GAMA, F.G.V.; NISHIMORI, C.T.; SOBREIRA, M.R.; SANTANA, A.E. **Características físico-químicas e citológicas do líquido de cães em diferentes fases da cinomose.** Ciência Rural, v. 35, n.3, p.596-601, 2005.

GEBARA, C. M. S.; WOSIACKI, S. R.; NEGRÃO, F. J.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A.F. **Lesões histológicas no sistema nervoso central de cães com encefalite e diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da cinomose canina.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia*, v.56, n.2, p.168-174, 2004b.

GEBARA, C.M.S. et al. Detecção do gene da nucleoproteína do vírus da cinomose canina por RT-PCR em urina de cães com sinais clínicos de cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte v.56, p.480 - 487, 2004a.

JONES, C.T. et al. Moléstias causadas por agentes virais **Patologia Veterinária.** São Paulo: Manole, 2000. cap.8. 323p.

LIMA, E. M. M. **Levantamento epidemiológico de cinomose canina no Hospital Veterinário da UFCG.** Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 2007. 35p.

MARTINS, D.B., LOPES, S.T.A., FRANÇA, R. T. Cinomose Canina – Revisão de Literatura. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.2, p.68-76, 2009.

MONTEIRO, M.V.B. et al. **Avaliação clínica e hematológica de cães com cinomose em Belém, Pará.** *Ciência Animal*, v.18, n.1, p.41-44, 2008.

MENDONÇA, R. B.; PAGANI, F. F.; MOREIRA DE SOUZA, A. **Respostas hematológicas em cães naturalmente infectados pelo vírus da cinomose: estudo retrospectivo de casos.** *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 7, p.114-116, supl.2000.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais.** 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

NELSON, Richard W.; COUTO, C. Guillermo. **Medicina interna de pequenos animais.** 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006 p 737

NOLETO, P.G. et al. **Corpúsculos de Lentz em um cão com 10 dias de idade.**

Biosci. J., Uberlândia, v.27, n.1, p.112-115, Jan/Fev.2011.

NEGRÃO, F. J. et al. **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.** Londrina, Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia, Belo Horizonte, v. 59, n. 1, p. 253-257, 2007.

NEGRÃO, F.J.; WOSIACKI, S.R.; ALFIERE, A.A.; ALFIERE, A.F. **Perfil de restrição de um fragmento do gene da hemaglutinina amplificado pela RT-PCR a partir de estirpes vacinais e selvagens do vírus da cinomose canina.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.58, n.6, p.1099-1106, 2006.

NASCIMENTO, D.N.S. **Cinomose Canina: Revisão de literatura.** Monografia - Programa de graduação em medicina veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade federal rural do semi-árido, Belém – Pará, 2009.

PEREIRA, FB. **Comparação de Métodos de Diagnóstico para a Cinomose Canina, com ênfase nas alterações oculares.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Paraná para a obtenção do título de Mestre, Curitiba, 2010.

LOPES, PIÊTRO MONTEIRO. **Correlação dos achados clínicos e laboratoriais de cães suspeitos de Cinomose – estudo retrospectivo.** UFCG, 2012 37pg. (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária).

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. *C. Paramyxoviridae*. In: _____. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** Porto Alegre-RS: Artmed, 2005. Cap. 65, p. 375-376, 2005.

SILVA, M.C. et al. **Neuropatologia da cinomose canina: 70 casos (2005-2008).** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.29, p.643-652, 2009.

SONNE, L.; OLIVEIRA, E.C.; PESCADOR, C.A.; SANTOS, A.S.; PAVARINI, S.P.; CARISSIMI, A.S.; DRIEMEIER, D. **Achados patológicos e imuno-histoquímicos em cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 143-149, 2009.

SHIN, Y.; et al. **Detection of canine distemper virus nucleocapsid protein gene in canine peripheral blood mononuclear cells by RT-PCR.** *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 57, n.3, p. 439 – 450, 1995.

TUDURY, E. A. et al. **Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa.** *Ciência Rural*. Santa Maria, v.27, n.2, p.229-235, jun. 1997.

TORRES, BBJ; RIBEIRO, VM. Cinomose nervosa canina: patogenia, diagnóstico, tratamento e prevenção. **Revista Cães e gatos, Pequeno perigo**. Ano 28-nº161-2012. Pag. 18- 24.

VICENTE, A. F. et al. **Perfil hematológico em cães infectados naturalmente por cinomose com presença de Corpúsculos de Sinegaglia Lentz, em Vassouras - RJ**. Rev. de Saúde, Vassouras, v.1, n.1, p. 49-54, jan/mar., 2010.

ZEE Y. C. *Paramyxoviridae*. In: HIRSH, D. C.; ZEE Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro-RJ. Guanabara Koogan, 2003. Cap. 69, p. 374-382.