



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

MARIANA DE MELLO ZANIM MICHELAZZO

**CARACTERIZAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE
MORBILIVIRUS CANINO EM QUATIS (*NASUA NASUA*) DO
SUL DO BRASIL**

Londrina
2020

MARIANA DE MELLO ZANIM MICHELAZZO

**CARACTERIZAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE
MORBILIVIRUS CANINO EM QUATIS (*NASUA NASUA*) DO
SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Selwyn Arlington Headley

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

- M623c Michelazzo, Mariana de Mello Zanim.
Caracterização imuno-histoquímica de morbilivírus canino em quatis *Nasua nasua* do sul do Brasil / Mariana de Mello Zanim Michelazzo. - Londrina, 2020.
60f. : il.
- Orientador: Selwyn Arlington Headley.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2020.
Inclui bibliografia.
1. cinomose, *Nasua nasua*, patologia comparada, silvestres - Tese. I. Headley, Selwyn Arlington. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619

MARIANA DE MELLO ZANIM MICHELAZZO

**CARACTERIZAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE MORBILIVIRUS
CANINO EM QUATIS (*NASUA NASUA*) DO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Selwyn Arlington Headley
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a Ana Paula F. R. Loureiro Bracarense
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Werner Okano
Grupo Educacional Universitário – GEU

Londrina, 27 de fevereiro de 2020.

Dedico esse trabalho à minha família,

Daniel A. M. Michelazzo

Paola Z. Michelazzo

Daniel Z. Michelazzo

João Z. Michelazzo

AGRADECIMENTOS

À minha querida família: meu esposo Daniel, que me acompanha nessa jornada e me apoia sempre. À minha filha Paola, primogênita que desde o ventre vive a medicina veterinária comigo. Ao meu filho Daniel, que me encanta com sua alegria e personalidade ímpar e ao meu caçula João, sempre amoroso e interessado nas minhas atividades. Vocês são a minha força e a minha inspiração para buscar o melhor a cada dia.

À minha mãe, fonte inesgotável de inspiração e contínuo apoio. Você sempre foi minha base e motivo de muito orgulho e alegria. Espero poder orgulhar-te também e difundir os conhecimentos que me ensina.

Ao meu pai, que me apoia e demonstra seu amor à sua maneira, sempre me dizendo que se orgulha de mim e sempre mimando seus netos com todo amor.

Ao meu orientador Professor Dr. Selwyn A. Headley, que há muitos anos me apresentou a Patologia e a vida acadêmica, me encantando com sua inteligência ímpar e sua incansável sede de descobrir e entender mais sobre a medicina veterinária. Sou muito privilegiada por ter lhe conhecido e por você ter me aceitado como aluna.

Ao Professor MSc. Zalmir Silvino Cubas que me inspirou a estudar mais sobre animais selvagens e sempre me incentivou a atuar nessa área. Não mediu esforços em disponibilizar os materiais utilizados neste e em outros estudos, agregando conhecimento sobre a fauna brasileira.

À ITAIPU Binacional – Refúgio Biológico Bela Vista, que, através do Médico Veterinário responsável MSc. Zalmir Silvino Cubas, estabeleceu parceria com a Universidade Estadual de Londrina (UEL), permitindo que eu utilizasse os materiais biológicos de sua coleção para o desenvolvimento dessa dissertação e de outros estudos da nossa equipe de pesquisa, favorecendo a disseminação de conhecimentos sobre os animais silvestres brasileiros.

Ao Professor Dr. Werner Okano e Professor Dr. Luiz César Silva que me receberam de braços abertos na Unopar – Arapongas para o término da minha graduação e me acompanharam desde então, sempre me ensinando e me

incentivando na vida acadêmica.

Às professoras Ana Paula F. R. L. Bracarense e Giovana W. Di Santis, que junto ao meu orientador, me acompanharam na residência e compartilharam comigo seus conhecimentos, me ensinando a vivência profissional.

A todos os meus amigos, que graças à Deus, não caberia citar o nome de todos aqui, mas cito alguns que representam o amor e parceria da amizade, construída num período tão marcante em minha vida. Victor Hugo Brunaldi Marutani, Bárbara Giglio Pires e Ana Aparecida Xavier, meus queridos parceiros de residência.

À Universidade Estadual de Londrina, em especial, ao Laboratório de Anatomia Patológica, onde tive a oportunidade de vivenciar a Patologia Veterinária, aprender muito e descobrir que tenho que aprender muito a aprender.

A todos que de alguma forma me ajudaram, as vezes até sem perceber, seja com apoio no trabalho, incentivos, ideias, sugestões, críticas...

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê.”
(Arthur Schopenhauer)

MICHELAZZO, Mariana de Mello Zanim. **Caracterização imuno-histoquímica de morbilivirus canino em quatis (*Nasua nasua*) do Sul do Brasil**. 2020. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

O morbilivirus canino (também conhecido como CDV), é considerado um patógeno de uma doença infecciosa emergente em animais selvagens e tem demonstrado alta capacidade de infectar diferentes espécies animais. No entanto, a patogênese da doença em espécies selvagens ainda não está esclarecida e há poucas descrições de infecções por CDV e outros patógenos virais de doenças infecciosas em animais selvagens no Brasil. Consequentemente, este estudo investigou a possível ocorrência de doenças virais em quatis (*Nasua nasua*) no Sul do Brasil, comparando os padrões histopatológicos observados nos quatis com o cão doméstico e utilizando um protocolo imuno-histoquímico (IHQ) para identificar a presença intralesional de antígenos do CDV, podendo então associá-lo à infecção. Fragmentos de tecido de quatis (n = 13) que morreram no Refúgio Biológico Bela Vista, Foz do Iguaçu, Paraná, sul do Brasil, entre 1993 e 2012, foram rotineiramente processados para histopatologia, a fim de identificar os principais padrões histopatológicos em comparação aos do cão doméstico. Secções duplicadas desses tecidos (pulmão, fígado, bexiga e intestino delgado) foram usados em ensaios IHQ para identificar os antígenos do CDV, a partir de parafina fixada em formalina (FFPE). Além disso, secções de tecidos FFPE selecionados desses quatis foram utilizados em ensaios IHQ projetados para identificar antígenos de adenovírus canino tipo 1 e 2 (CAAdV-1 e 2) e parvovírus canino tipo 2 (CPV-2). Também foram usados métodos histoquímicos para possível identificação de agentes de doenças bacterianas e fúngicas. Os principais padrões histopatológicos identificados foram pneumonia intersticial (9/13; 69,2%), nefrite intersticial (6/13; 46,2%), enterite atrófica (4/13; 30,8%) e degeneração balonosa no epitélio urotelial (3/13; 23,1%). Três quatis demonstraram imunorreatividade intralesional e intracitoplasmática positivas para antígenos de CDV (3/13; 23,1%). A coloração IHQ positiva para antígenos do CDV foi identificada no citoplasma das células epiteliais dos brônquios no pulmão, associado a pneumonia intersticial em todos os quatis (3/3; 100%) que continham os antígenos de CDV. Adicionalmente, a imunorreatividade intracitoplasmática positiva para antígenos de CDV foi identificada nos enterócitos das criptas de Lieberkhun, nas vilosidades da mucosa intestinal e nos neurônios mientéricos do intestino delgado (2/3; 66,7%), também nas células epiteliais uroteliais da bexiga (2/3; 66,7%). Antígenos de CPV-2, CAAdV-1 e CAAdV-2 não foram identificados em nenhuma amostra de tecido testada e a coloração histoquímica não demonstrou organismos fúngicos e/ou bacterianos associados às lesões descritas acima. Esses achados indicam que esses quatis foram infectados por CDV e desenvolveram lesões com padrões histopatológicos semelhantes aos observados nos cães domésticos, sugerindo que essa espécie selvagem pode atuar como hospedeiro potencial para o CDV.

Palavras-chave: Vírus da cinomose. Doenças infecciosas emergentes. Patologia comparada. Carnívoros silvestres. Procionídeos.

MICHELAZZO, Mariana de Mello Zanim. **Immunohistochemical evidence of canine morbillivirus infection in coatis (*Nasua nasua*) from Southern Brazil**. 2020. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

ABSTRACT

Canine morbillivirus (also known as canine distemper virus, CDV), is considered as an emerging infectious disease pathogen for wild animals and has demonstrated elevated capacity to infect different species of animals. However, the pathogenesis of the disease in wildlife species remains unclear and there are few descriptions of infections due to CDV and other viral infectious disease pathogens in wild animals from Brazil. Consequently, this investigated the possible occurrence of viral disease in coatis (*Nasua nasua*) from Southern Brazil, by comparing the histopathological patterns observed in coatis with those of the domestic dog and then used an immunohistochemical (IHC) protocol to identify the intralésional presence of antigens of CDV; thereby, associating CDV with infection. Tissue fragments (n = 13) of coatis (*Nasua nasua*) that died at the Bela Vista Biological Refuge, Foz do Iguaçu, Parana, southern Brazil, between 1993 and 2012, were routinely processed to identify histopathologic patterns associated with infectious disease agents of the domestic dog. Duplicate sections of these tissues (lung, liver, urinary bladder and small intestine) were used in an IHC assay designed to identify antigens of CDV from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE). Additionally, selected FFPE tissues sections from these coatis were used in IHC assays designed to identify antigens of canine adenovirus type 1 and 2 (CAv-1 and 2) and canine parvovirus type 2 (CPV-2). Furthermore, histochemical methods were used to identify possible bacterial or fungal disease agents. The main histopathological patterns observed were interstitial pneumonia (9/13; 69.2%), interstitial nephritis (6/13; 46.2%), atrophic enteritis (4/13; 30.8%) and ballooning degeneration of urothelial epithelium (3/13; 23.1%). Three coatis (3/13; 23.1%) demonstrated positive intralésional, intracytoplasmic immunoreactivity to antigens of CDV. A positive immunohistochemical staining for CDV antigens was identified in the bronchial epithelial cells of the lungs diagnosed with interstitial pneumonia in all coatis (3/3; 100%) that contained CDV antigens. Additionally, positive intracytoplasmic immunoreactivity to CDV antigens were identified within the enterocytes of the Lieberkhun crypts, intestinal mucosa villus, and myenteric neurons of the small intestinal (2/3; 66.7%) and in the degenerated urothelial epithelial cells of the urinary bladder (2/3; 66.7%). CPV-2, CAv-1 and CAv-2 antigens were not identified in any tested tissue sample; while, the histochemical stain did not identify fungal or bacterial organism associated with the above described lesions. These findings indicate that these coatis were infected by CDV and developed similar histopathologic patterns as observed in the domestic dog, suggesting that this wild species may serve as a potential host for CDV.

Key words: Canine distemper virus. Emerging infectious diseases. Comparative pathology. Wild carnivores. Procionids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Imagem aérea do Refúgio Biológico Bela Vista	46
Figura 2	Distribuição dos diagnósticos histopatológicos dos quatis	48
Figura 3	Lesões histopatológicas em quatis.....	49
Figura 4	Imuno-histoquímica positiva para CDV em quatis.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	(Referencial Teórico) – Espécies de animais selvagens infectados por CDV	24
Tabela 1	(Artigo) – Dados biológicos, data da coleta, origem e causa da morte dos quatis.....	47
Tabela 2	(Artigo) – Descrição dos anticorpos monoclonais utilizados nas análises imuno-histoquímicas	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BVS	Bela Vista Sanctuary
CAdV-1	Canine adenovirus type 1 (Adenovirus canino tipo 1)
CAdV-2	Canine adenovirus type 2 (Adenovirus canino tipo 2)
CDV	Canine distemper virus (Virus da cinomose)
CPV-2	Canine parvovirus type 2 (Parvovirus canino tipo 2)
IHC / IHQ	Immunohistochemistry / Imuno-histoquímica
RBV	Refúgio Biológico Bela Vista de Itaipu

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	MORBILIVIRUS CANINO: BREVE HISTÓRICO	17
2.2	MORBILIVIRUS CANINO / VÍRUS DA CINOMOSE – CDV.....	20
2.2.1	Epidemiologia	20
2.2.2	Transmissão, Patogenia e Sinais Clínicos.....	21
2.2.3	CDV nos Hospedeiros Silvestres/Selvagens	24
3	CONCLUSÃO SOBRE O REFERENCIAL TEÓRICO	31
	REFERÊNCIAS	32
4	HIPÓTESE	43
5	OBJETIVOS	44
5.1	OBJETIVO GERAL.....	44
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
6	ARTIGO PUBLICADO	45
7	CONCLUSÃO	52
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	53

1 1 INTRODUÇÃO

2 A cinomose é uma doença infectocontagiosa que vem sendo
3 estudada há mais de dois séculos e ainda não está completamente compreendida (De
4 Vries *et al.*, 2014). O vírus da cinomose (CDV) é membro da família *Paramyxoviridae*,
5 gênero *Morbillivirus*, intimamente relacionado com outros morbilivírus (Headley *et al.*,
6 2012), como o vírus do sarampo e o vírus da peste bovina, todos responsáveis por
7 epidemias devastadoras (De Vries *et al.*, 2014; Uhl *et al.*, 2019). Esses três vírus são
8 considerados como primordiais do gênero (Uhl *et al.*, 2019) e atualmente o gênero
9 tem mais quatro espécies; o vírus da peste dos pequenos ruminantes, vírus da
10 cinomose das focas, o morbilivírus cetáceo e o morbilivírus felino (Woo *et al.*, 2012;
11 Nambulli *et al.*, 2016). O CDV, assim como o vírus do sarampo e da peste bovina,
12 possui RNA não segmentado, de sentido negativo, com genoma de fita simples
13 contendo sete genes que codificam os mesmos grupos de proteínas (Rima e Duprex,
14 2006).

15 A doença induzida por morbilivírus é semelhante entre as espécies,
16 variando de subclínica a letal (Uhl *et al.*, 2019). A doença clínica geralmente resulta
17 em febre, problemas respiratórios, gastrointestinais e, por vezes, dermatites (Beineke
18 *et al.*, 2009). Com exceção do vírus da peste bovina, os morbilivírus produzem lesões
19 no sistema nervoso central, podendo desenvolver a doença crônica (Summers e
20 Appel, 1994; Vandeveld e Zurbriggen, 1995; Headley *et al.*, 2009; Uhl *et al.*, 2019).
21 O CDV é considerado um vírus emergente mundialmente em espécies selvagens e
22 tem sido relatado causando infecção em diversas espécies diferentes, incluindo
23 primatas não humanos (Martinez-Gutierrez e Ruiz-Saenz, 2016; Loots *et al.*, 2017).

24 Investigações sorológicas demonstraram a magnitude do vírus da
25 cinomose na vida selvagem, como por exemplo no Parque Nacional do Serengeti,
26 Tanzânia, onde o cão doméstico foi considerado responsável pela disseminação do
27 CDV aos leões (*Panthera leo*) e também a outros carnívoros selvagens, que
28 permaneceram como hospedeiros subclínicos e fontes potenciais de infecção dentro
29 desse ecossistema (Viana *et al.*, 2015). No Brasil, poucos estudos investigaram a
30 participação de patógenos de doenças infecciosas na fauna silvestre quando
31 comparados à Europa e América do Norte. No entanto, a maioria dos estudos
32 publicados, confirma a participação de infecções induzidas por CDV na vida selvagem,
33 como por exemplo em furão-grande (*Galictis vittata*), cachorro do mato, *Cerdocyon*

1 *thous* (Megid et al 2010, Rego et al 1997) e lobo guará, *Crisocyon brachyurus* (Rego
2 *et al.*, 1997), raposa do campo, *Lycalopex vetulus* (Megid *et al.*, 2010), furão-pequeno,
3 *Galictis cuja* (Megid *et al.*, 2013) e tamanduá-mirim, *Tamandua tetradactyla* (Lunardi
4 *et al.*, 2018). O cão doméstico é considerado uma fonte de infecção para três doenças
5 infecciosas virais que têm o maior impacto sobre as populações de carnívoros
6 selvagens em todo o mundo: raiva, cinomose e parvovirose, conhecidas como “The
7 big Three” (Viana *et al.*, 2015).

8 A ocorrência da cinomose em cães domésticos do Brasil está
9 relacionada a não vacinação e à grande quantidade de cães errantes nas áreas
10 urbanas (Headley e Graça, 2000; Amude *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2009) e rurais
11 (Whiteman *et al.*, 2007). O contato entre animais silvestres e domésticos, assim como
12 a proximidade ao homem, resultam na transmissão de diferentes tipos de doenças
13 infecciosas, sendo um risco à saúde pública e uma ameaça à fauna silvestre
14 (Whiteman *et al.*, 2007; Sepúlveda *et al.*, 2014). O risco de transmissão de doenças
15 entre populações de carnívoros domésticos e selvagens é diretamente proporcional à
16 frequência de interação e proximidade entre essas populações (Acosta-Jamett *et al.*,
17 2011; Woodroffe *et al.*, 2012). Essas doenças infecciosas frequentemente resultam
18 em elevada morbimortalidade entre carnívoros selvagens, aumentando o risco de
19 extinção para várias espécies (Viana *et al.*, 2015; Curi *et al.*, 2016).

20 Dentre os poucos estudos brasileiros sobre infecção por CDV em
21 animais silvestres, a maioria utilizou detecção molecular seguida por sequenciamento
22 genético para confirmar a infecção e a filogenia do morbilivírus, respectivamente.
23 Essas análises moleculares foram importantes para demonstrar que a cepa viral
24 encontrada nesses carnívoros selvagens investigados era a mesma cepa de cães
25 domésticos (Megid *et al.*, 2009; Megid *et al.*, 2010; Megid *et al.*, 2013). Adicionalmente,
26 dados sobre ocorrência de infecções causadas por CDV em quatis (*Nasua nasua*) não
27 foram encontradas quando os principais bancos de dados *online* foram pesquisados
28 e informações relativas à evidência imuno-histoquímica em espécies silvestres da
29 fauna brasileira foi demonstrada em um relato de infecção por CDV em um tamanduá,
30 *Tamandua tetradactyla* (Lunardi *et al.*, 2018). O uso de técnicas imuno-histoquímicas
31 permite relacionar as lesões histopatológicas observadas com a presença do vírus
32 intralesional, confirmando que o CDV foi responsável pelas lesões teciduais nas quais
33 está inserido.

1 O adenovírus canino (*canine adenovirus*, CAdV) também tem sido
2 descrito em cães domésticos (Headley *et al.*, 2018b) e selvagens participando de
3 coinfeções com CDV (Akerstedt *et al.*, 2010; Balboni *et al.*, 2013). CAdV pertence à
4 família *Adenoviridae*, gênero *Mastadenovirus* e são vírus DNA não envelopados
5 (Greene, 2012). Existem dois tipos de adenovírus canino, o tipo 1 (CAdV-1) e o tipo 2
6 (CAdV-2), que são distintos por suas características genéticas, antigênicas e
7 patogênicas (Greene, 2012; Balboni *et al.*, 2013). O CAdV-1 é o agente etiológico da
8 hepatite infecciosa canina e causa necrose hemorrágica no parênquima hepático
9 (Greene, 2012; Headley *et al.*, 2018b). O CAdV-2 é um dos agentes associados à
10 traqueobronquite infecciosa canina (tosse dos canis) e causa doença respiratória
11 aguda, predominantemente em filhotes de cães (Maclachlan *et al.*, 2011; Headley *et*
12 *al.*, 2018b). Ambos adenovírus foram descritos em carnívoros selvagens através de
13 métodos sorológicos (Akerstedt *et al.*, 2010) e moleculares (Balboni *et al.*, 2013) de
14 diagnóstico.

15 O parvovírus canino do tipo 2 (*canine parvovirus*, CPV-2) é um vírus
16 DNA não envelopado que infectam as células epiteliais com alta taxa mitótica, como
17 os enterócitos, causando enterite necro-hemorrágica principalmente em filhotes de
18 cães (Greene, 1998). Carnívoros selvagens são susceptíveis à infecção por CPV-2 e
19 há descrições de infecção em áreas antrópicas do Brasil (Furtado *et al.*, 2016).

20 Os objetivos deste estudo foram: determinar a ocorrência de possíveis
21 alterações histopatológicas nos quatis; caracterizar achados histopatológicos em
22 quatis do Refúgio Biológico Bela Vista de Itaipu; verificar se os achados são
23 semelhantes aos padrões descritos nos cães domésticos; associar os padrões
24 encontrados com possíveis agentes infecciosos e usar técnicas histoquímicas e
25 imuno-histoquímicas para identificar agentes infecciosos intralesionais. O presente
26 referencial teórico enfoca a epidemiologia associada a ocorrência de morbilivírus
27 canino em animais silvestres no mundo.

1 2 REFERENCIAL TEÓRICO

2 2.1 MORBILIVIRUS CANINO: BREVE HISTÓRICO

3 Estudos históricos investigativos sugerem que o vírus da peste bovina
4 talvez seja o mais antigo morbilivírus e antecede o vírus do sarampo (Nambulli *et al.*,
5 2016). De acordo com estudos matemáticos, para manter a endemia, necessita-se de
6 populações de 250 a 400 mil indivíduos (Keeling e Grenfell, 1997). Acredita-se que
7 ungulados infectados tinham maior densidade populacional que a de humanos na Ásia
8 há pelo menos 3 mil anos, data dos primeiros relatos da peste bovina (Barrett e
9 Rossiter, 1999; Uhl *et al.*, 2019). Posteriormente, o vírus da peste bovina se espalhou
10 para o Oriente Médio e, na sequência, para a Europa (Uhl *et al.*, 2019).

11 O sarampo tem como descrição mais antiga, um relato feito por um
12 médico persa chamado Rhazes (860 – 932 d.C.) que, durante um surto
13 contemporâneo da doença, distinguiu o sarampo da varíola, chamando-a “doença
14 menor”, ou “morbili” que é diminuto de *morbus* (Uhl *et al.*, 2019). Essa data de 860 –
15 932 d.C., se correlaciona aos resultados de um estudo que utilizou análise filogenética
16 bayesiana de sequências de nucleotídeos do vírus da peste bovina e do sarampo,
17 demonstrando que eles divergiram entre os séculos 11 e 12 (Furuse *et al.*, 2010).
18 Porém, não ficou claro se os parâmetros utilizados neste estudo também serviriam a
19 outros morbilivírus, devido as variações e imprevisibilidade das mutações às quais o
20 RNA viral foi submetido pela pressão de seleção ao longo dos anos (Furuse *et al.*,
21 2010). Em 2011 a *United Nations Food and Agriculture Organization* (FAO) anunciou
22 a erradicação do vírus da peste bovina, sendo a segunda doença infecciosa, após a
23 varíola, globalmente erradicada, tornando-se uma data memorável para a Medicina
24 Veterinária (Horzinek, 2011; Maclachlan *et al.*, 2011).

25 Dentre as possibilidades de transmissão dos morbilivírus, cita-se a
26 Rota da Seda, que acontecia entre o Mediterrâneo, o subcontinente indiano e a Ásia,
27 que favorecia a endemia no Velho Mundo e posteriormente, com as novas rotas
28 comerciais para o Novo Mundo no século 16, causando devastação nas populações
29 pré-colombianas na América do Sul e em muitas ilhas do Caribe (Nambulli *et al.*,
30 2016).

31 Ao contrário da peste bovina e do sarampo, que foram relatadas

1 primeiro no Velho Mundo, a cinomose foi descrita pela primeira vez no Novo Mundo
2 por um cientista membro da Missão Geodésica Francesa, chamado Don Antonio de
3 Ulloa, no ano de 1746, quando observou a doença em cães na América do Sul
4 (Blancou, 2004; Nambulli *et al.*, 2016; Uhl *et al.*, 2019). Durante suas observações,
5 Ulloa comparou a severidade da cinomose à varíola em humanos, fatos também
6 observados por relatos subsequentes (Fleming, 1871; Blancou, 2004). Ainda relatou
7 que a cinomose começava com tristeza e perda de apetite para depois evoluir para
8 convulsões, vômitos com sangue, fraqueza muscular e incapacidade de se manter em
9 pé, assim como descreveu as características da encefalite por CDV, dizendo que os
10 cães com manifestações neurológicas não eram tão agressivos como os cães com
11 raiva e que a doença não era transmitida por mordidas (Blancou, 2004; Uhl *et al.*,
12 2019). Ulloa observou ainda que os cães geralmente contraíam a doença quando
13 eram pequenos e os que se recuperavam nunca mais apresentavam a doença,
14 demonstrando que, na época de 1746, a cinomose provavelmente estava bem
15 estabelecida e era endêmica (Blancou, 2004; Uhl *et al.*, 2019).

16 Segundo registros históricos, os cães europeus foram introduzidos no
17 Novo Mundo por Cristóvão Colombo em 1493, durante as navegações de descoberta
18 das Américas, porém, curiosamente, a chegada desses cães não foi acompanhada
19 por epidemias registradas, com mortalidade nas populações dos cães europeus ou
20 nas populações nativas durante o período de 1500 a 1600 (Fleming, 1871; Varner e
21 Varner, 1983; Uhl *et al.*, 2019).

22 Acredita-se que houve uma importação recíproca de morbilivírus na
23 época em que a cinomose foi descrita na América do Sul (1746), onde os navios que
24 vinham do Velho Mundo trazendo o sarampo, voltavam ao seu local de origem levando
25 o CDV (Blancou, 2004; Nambulli *et al.*, 2016). A cinomose foi relatada pela primeira
26 vez na Europa em 1760, causando a morte de 900 cães em Madrid (Blancou, 2004).
27 Nos 10 anos subsequentes, houve relatos na Itália, na Rússia e em 1767 houve
28 registro de um grande número de cães mortos na Louisiana EUA, porém não ficou
29 esclarecido se o vírus era oriundo da Europa ou América do Sul (Blancou, 2004; Uhl
30 *et al.*, 2019). Na Grã-Bretanha, por volta de 1800, a cinomose se desenvolveu em
31 meio a um estilo de vida que envolvia a caça esportiva e criações comerciais de cães
32 de raça pura, estreitando os laços familiares com o cão doméstico (Bresalier e
33 Worboys, 2014).

34 Esse fato, fez com que houvesse maior interesse da comunidade

1 científica em pesquisar a etiologia da doença, mobilizando grandes valores
2 econômicos advindos do governo e de empresas privadas para financiar os estudos
3 (Bresalier e Worboys, 2014). O envolvimento de pesquisadores veterinários e da
4 comunidade científica em busca do entendimento da cinomose marcou uma
5 importante transição profissional na realidade dos médicos veterinários, visto que até
6 então, a prática veterinária economicamente importante se concentrava na área de
7 grandes animais (Bresalier e Worboys, 2014). Por volta de 1890, diversos
8 pesquisadores britânicos, entre eles Everett Millais e Sidney Monckton Copeman (um
9 dos principais pesquisadores da vacina contra varíola), tentavam desenvolver vacinas
10 contra agentes bacterianos diversos que pensavam ser a causa da cinomose
11 (Bresalier e Worboys, 2014).

12 Embora sem sucesso profilático, essas tentativas fomentavam a
13 continuidade das pesquisas e iam esclarecendo, aos poucos, dados sobre as
14 manifestações clínicas e possíveis formas de infecção da cinomose (Bresalier e
15 Worboys, 2014). Em 1905, um patologista francês, Henri Carré, conseguiu transmitir
16 a cinomose experimentalmente para cães, porém não conseguiu isolar o agente
17 infeccioso (Blancou, 2004; Bresalier e Worboys, 2014). A primeira descrição dos sinais
18 clínicos clássicos foi atribuída a Edward Jenner em 1908 (Maclachlan *et al.*, 2011).
19 Pesquisadores americanos e britânicos contestaram a teoria de Carré, pois
20 acreditavam que o agente etiológico da cinomose era uma bactéria, chamada na
21 época de *Bacillus bronchisepticus* (atualmente conhecida como *Bordetella*
22 *bronchiseptica*), por ser observada com frequência no trato respiratório de cães com
23 as manifestações clínicas da cinomose (Bresalier e Worboys, 2014).

24 Por volta de 1925, Laidlaw e Dunkin confirmaram a teoria do agente
25 viral proposta por Carré, fazendo infecção experimental em cães e furões e
26 desenvolvendo uma vacina comercial para cinomose em 1931 (Gledhill, 1953;
27 Bresalier e Worboys, 2014). Adicionalmente, Laidlaw e Dunkin descreveram as
28 manifestações clínicas da doença, caracterizando-a como aguda, com período de
29 incubação de quatro dias, com febre, coriza, conjuntivite, alterações intestinais
30 acentuadas e discretas alterações respiratórias e neurológicas (Gledhill, 1953;
31 Headley *et al.*, 2012).

32 Quatro novos morbilivírus foram descobertos e classificados: o vírus
33 da peste dos pequenos ruminantes em 1942 (Banyard *et al.*, 2010); do vírus da
34 cinomose das focas em 1988 (Duignan *et al.*, 2014); morbilivírus dos cetáceos em

1 1991 (Van Bresse *et al.*, 2014), e recentemente, o morbilivírus felino em 2012 (Woo
2 *et al.*, 2012).

3 2.2 MORBILIVIRUS CANINO / VÍRUS DA CINMOSE – CDV

4 2.2.1 Epidemiologia

5 O gênero *Morbilivirus* inclui vírus de importância para a saúde
6 humana e animal, entre eles, o vírus da peste bovina, vírus do sarampo, morbilivírus
7 canino (CDV), vírus da peste dos pequenos ruminantes, vírus da cinomose das focas,
8 morbilivírus dos cetáceos e morbilivírus felino (Woo *et al.*, 2012; Martinez-Gutierrez e
9 Ruiz-Saenz, 2016).

10 Descoberto inicialmente nos cães, o CDV é o morbilivírus mais
11 promíscuo dentre todos os outros do gênero, pois infecta diversas espécies de
12 diferentes ordens como Carnivora, Cetacea, Artiodactyla, Proboscidea e Primates
13 (Sun *et al.*, 2010; Sakai *et al.*, 2013a; Ludlow *et al.*, 2014). É considerado um vírus
14 emergente para espécies selvagens, domésticas e um risco a ser considerado para
15 humanos que não forem vacinados contra o sarampo (Martinez-Gutierrez e Ruiz-
16 Saenz, 2016).

17 Os anticorpos monoclonais desenvolvidos utilizando as proteínas
18 específicas do vírus do sarampo, reconhecem as proteínas correspondentes do CDV
19 e essa reação cruzada permite que a vacina contra o sarampo seja eficiente para
20 proteger contra a cinomose (Sheshberadaran *et al.*, 1986; Uhl *et al.*, 2019). Os
21 morbilivírus têm alta capacidade de infecção cruzada entre espécies e sua
22 adaptabilidade foi demonstrada em estudos com infecções naturais e experimentais
23 (Cosby, 2012). Em 1985, a última população de furões de pata negra (*Mustela*
24 *nigripes*) foi exterminada depois de uma infecção natural por CDV, posteriormente
25 inseridas na natureza através de exemplares de cativeiro (Williams *et al.*, 1996). Em
26 1987, o CDV causou a morte de milhares de focas (*Phoca sibirica*) no lago Baikal,
27 onde o vírus isolado continuou circulando até 1992 resultando da morte de diversas
28 outras focas da mesma espécie (Mamaev *et al.*, 1996). Raposas vermelhas (*Vulpes*
29 *vulpes*) e lobos (*Canis lupus*) da Escandinávia e as raposas árticas (*Vulpes lagopus*)
30 de Svalbard foram soropositivas para CDV (Akerstedt *et al.*, 2010). No Brasil, o CDV

1 foi diagnosticado em um cachorro do mato, *Cerdocyon thous* (Megid *et al.*, 2009),
2 numa raposa do campo, *Lycalopex vetulus* (Megid *et al.*, 2010) e num furão-pequeno,
3 *Galictis cuja* (Megid *et al.*, 2013).

4 O fato do CDV ter sido identificado como causador da morte de
5 primatas não humanos aumenta muito a preocupação em relação a transmissão para
6 humanos (Sakai *et al.*, 2013b), visto que existe uma parcela da população humana
7 não vacinada para sarampo (Sun *et al.*, 2010; Cosby, 2012). Existem evidências que
8 as células imunes e as células epiteliais possuem receptores de membrana (*Signaling*
9 *Lymphocytic Activation Molecule - SLAM* e *Adherens Junction Protein Nectin-4 -*
10 *PVRL4*, respectivamente) que são reconhecíveis pelos morbilivírus, possibilitando a
11 infecção cruzada (Cosby, 2012; Noyce *et al.*, 2013). Consequentemente, os
12 receptores de membrana das células neurais estão sendo investigados para entender
13 melhor sobre a neuro-invasão (Cosby, 2012).

14 2.2.2 Transmissão, Patogenia e Sinais Clínicos

15 Em condições naturais, o CDV infecta os animais por aerossóis que
16 infectam as células epiteliais do trato respiratório superior (Carvalho *et al.*, 2012; Loots
17 *et al.*, 2017). Nas primeiras 24 horas, o vírus se replica em macrófagos, linfócitos T e
18 B, que distribuem o vírus para os tecidos linfoides (Vandeveldel *et al.*, 1985; Carvalho
19 *et al.*, 2012), onde continuam a replicação, induzindo imunossupressão severa pela
20 destruição das células linfoides (Beineke *et al.*, 2009). Durante a fase aguda da
21 doença, o vírus também pode ser transmitido pelas excreções e secreções corpóreas
22 como urina (Silva *et al.*, 2014), fezes e pele (Greene e Vandeveldel, 2012; Loots *et al.*,
23 2017). A partir da via hematogena, o vírus se distribui pelos tecidos epiteliais (Iwatsuki
24 *et al.*, 1995) e através do líquido cérebro-espinhal, para o sistema nervoso central
25 (Vandeveldel e Zurbriggen, 2005). O animal com cinomose pode apresentar
26 manifestações clínicas sistêmicas que incluem anorexia, apatia, conjuntivite,
27 hiperqueratose dos coxins e plano nasal, bronquite catarral, vômito, diarreia e pústulas
28 no abdômen e coxas (Beineke *et al.*, 2009; Loots *et al.*, 2017). Quando o sistema
29 nervoso é afetado, pode-se observar ataxia, paraplegia, quadriplegia, atrofia
30 muscular, mioclonias, vocalização, tremor, incontinência fecal e urinária, convulsões
31 noturnas, secura de córnea, cegueira, choro constante e coma (Martella *et al.*, 2008).
32 O método de invasão do CDV ao SNC ainda não está totalmente elucidada, no entanto

1 já foram descritas algumas rotas, observadas principalmente em estudos
2 experimentais, como a via hematogena (Krakowka, 1989), através do fluido cérebro-
3 espinhal (Vandeveldel *et al.*, 1985; Greene e Vandeveldel, 2012) e através do nervo
4 olfatório em furões (Rudd *et al.*, 2006).

5 A capacidade de infecção do vírus está relacionada aos meios pelos
6 quais esses vírus conseguem adentrar as células do hospedeiro, assim como a
7 capacidade imunológica desse hospedeiro e a virulência da estirpe (Summers *et al.*,
8 1984; Takeda e Akira, 2005). Existem dois receptores de membrana que participam
9 da patogênese do CDV, o SLAM, CD150 (Tatsuo *et al.*, 2001) e a nectina-4, PVRL-4
10 (Mühlebach *et al.*, 2011; Pratakpiriya *et al.*, 2012). O SLAM é expresso na superfície
11 de membrana dos linfócitos T e B ativados, das células dendríticas e dos macrófagos
12 (Tatsuo *et al.*, 2001). A nectina-4 é uma proteína de adesão das células epiteliais e
13 endoteliais, acredita-se que esteja envolvida na captação e na liberação dos vírus
14 depois da amplificação (Noyce *et al.*, 2013). Adicionalmente, há estudos que sugerem
15 que a nectina-4 desempenhe um papel na entrada do CDV nas células nervosas
16 (Pratakpiriya *et al.*, 2012), assim como outros dois segmentos proteicos da nectina-4
17 foram identificadas atuando na disseminação célula a célula (Noyce *et al.*, 2013;
18 Delpeut *et al.*, 2014). O morbilivírus canino é muito sensível à radiação UV, ao calor,
19 dessecação, agentes oxidantes e solventes lipídicos, mostrando resistência quando
20 protegido por material orgânico em baixas temperaturas (Greene e Vandeveldel,
21 2012).

22 Os cães domésticos (*Canis familiares*) são considerados os principais
23 reservatórios e vetores do CDV (Cleaveland *et al.*, 2000; Alexander *et al.*, 2010). Tanto
24 em áreas urbanas (Headley *et al.*, 2012) quanto nas áreas rurais, existe alta densidade
25 de cães errantes não-vacinados e não-castrados que contribuem para a manutenção
26 da circulação do vírus e frequentemente interagem com a fauna silvestre devido ao
27 comportamento de caça (Butler *et al.*, 2004; Acosta-Jamett *et al.*, 2011). Os sinais
28 clínicos da infecção por CDV em espécies silvestres/selvagens são muito
29 semelhantes às descritas nos cães domésticos, variando de acordo com a virulência
30 da estirpe, idade e estado imunológico do hospedeiro (Williams e Barker, 2008).

31 Em países desenvolvidos da Europa e na América do Norte, a
32 infecção pelo CDV em cães domésticos está controlada devido a vacinação eficiente
33 e baixa população de cães errantes (Headley e Graça, 2000). O mesmo não acontece
34 no Brasil e em outros países subdesenvolvidos, visto que não há vacinação efetiva e

1 a população de cães errantes é grande e descontrolada (Headley e Graça, 2000).
2 Headley e colaboradores, em 2012, demonstraram uma estimativa sobre o impacto
3 econômico causado pelo CDV, tomando como base a prevalência de 12% de óbitos
4 relacionados ao CDV na rotina do Hospital Veterinário da Universidade de Santa
5 Maria-RS (Headley e Graça, 2000; Headley *et al.*, 2012). Os autores estimaram que o
6 custo referente ao atendimento ambulatorial para tratar as manifestações clínicas
7 básicas da cinomose (sem internação), usando como exemplo um cão com 10kg e
8 obtiveram um custo estimado em R\$258,30 milhões por ano (Headley *et al.*, 2012).

1 2.2.3 CDV nos hospedeiros silvestres/selvagens

2 Tabela 1 - Espécies selvagens infectadas por CDV

Família	Espécie	Tipo de Infecção	Método de diagnóstico	Origem do animal	Região Geográfica	Bibliografia
<i>Procyonidae</i>	Guaxinin (<i>Procyon lotor</i>)	Natural	Sorologia e histopatologia	vida livre	EUA, América do Norte	(Hoff <i>et al.</i> , 1974)
			Sorologia			(Roscoe, 1993)
	Quati (<i>Nasua nasua</i>)		Histopatologia e imunohistoquímica	vida livre e cativo	Brasil, América do Sul	(Michelazzo <i>et al.</i> 2020)
<i>Canidae</i>	Cães selvagens africanos (<i>Lycaon pictus</i>)	Natural	Sorologia	vida livre	Quênia, África	(Alexander e Appel, 1994)
		Vacinal	Histopatologia e imunohistoquímica	cativo	Alemanha, Europa	(Durchfeld <i>et al.</i> , 1990)
			Isolamento viral e sequenciamento		Tanzânia, África	(Van De Bildt <i>et al.</i> , 2002)
	Cães guaxinins (<i>Nyctereutes procyonoides</i>)	Natural	Histopatologia e imunohistoquímica	vida livre	Japão, Ásia	(Machida <i>et al.</i> , 1993)
	Cachorro vinagre (<i>Speothos venaticus</i>)	Vacinal	Histopatologia e Microscopia eletrônica	cativo	Pretoria, África	(McInnes <i>et al.</i> , 1992)
	Lobo-guará (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	Natural	Histopatologia		vida livre	Brasil, América do Sul
			Sorologia	Bolívia, América do Sul		(Deem e Emmons, 2005)
			Sorologia	Brasil, América do Sul		(Megid <i>et al.</i> , 2009)
	Cachorro do mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	Isolamento viral e sequenciamento	Brasil, América do Sul		(Furtado <i>et al.</i> , 2016)	
Raposa do campo (<i>Lycalopex vetulus</i>)		Sorologia				(Furtado <i>et al.</i> , 2016)
			Isolamento viral e sequenciamento			(Megid <i>et al.</i> , 2010)
<i>Felidae</i>	Leopardos negros (<i>Panthera pardus melas</i>)	Natural	Imunohistoquímica e isolamento viral	cativo	EUA, América do Norte	(Appel <i>et al.</i> , 1994)
	Onça-pintada (<i>Panthera onca</i>)					
	Tigre (<i>Panthera tigris</i>)					
	Leão africano (<i>Panthera leo krugeri</i>)					
	Tigre siberiano (<i>Panthera tigris altaica</i>)					
	Tigre de bengala (<i>Panthera tigris tigris</i>)					
	Tigre híbrido sib/beng					
	Leopardo (<i>Panthera pardus</i>)					

	Leopardo chinês (<i>Panthera pardus japonensis</i>)					
	Leão africano (<i>Panthera leo krugeri</i>)		Histopatologia e imunohistoquímica	vida livre	Quênia, África	(Roelke-Parker <i>et al.</i> , 1996)
				cativo	Suíça, Europa	(Myers <i>et al.</i> , 1997)
	Trigre (<i>Panthera tigris</i>)		Histopatologia e imunohistoquímica	cativo		
			Isolamento viral e sequenciamento	cativo	Japão, Ásia	(Nagao <i>et al.</i> , 2011)
	Tigre siberiano (<i>Panthera tigris altaica</i>)		Imunohistoquímica e sequenciamento		Rússia, Eurásia	(Seimon <i>et al.</i> , 2013)
	Leopardo de amur (<i>Panthera pardus orientalis</i>)		Isolamento viral e sequenciamento			(Sulikhan <i>et al.</i> , 2018)
	Onça-pintada (<i>Panthera onca</i>)		Sorologia			(Nava <i>et al.</i> , 2008); (Furtado <i>et al.</i> , 2013)
	Onça-parda (<i>Puma concolor</i>)			vida livre		(Furtado <i>et al.</i> , 2013)
			Histopatologia e imunohistoquímica		Brasil, América do Sul	(Nava <i>et al.</i> , 2008); (Viana <i>et al.</i> , 2020)
	Gato-maracajá (<i>Leopardus wiedii</i>)		Histopatologia e imunohistoquímica			(Viana <i>et al.</i> , 2020)
	Jaguarundi (<i>Puma yagouaroundi</i>)		Histopatologia e imunohistoquímica			(Viana <i>et al.</i> , 2020)
<i>Hyaenidae</i>	Hienas pintadas (<i>Crocuta crocuta</i>)	Natural	Imunohistoquímica e isolamento viral	vida livre	Quênia, África	(Haas <i>et al.</i> , 1996)
<i>Mustelidae</i>	Furão de pata negra (<i>Mustela nigripes</i>)	Natural	Histopatologia e isolamento viral	vida livre	EUA, América do Norte	(Williams <i>et al.</i> , 1988; Williams <i>et al.</i> , 1996)
	Furão grande (<i>Galictis vittata</i>)		Histopatologia	cativo	Brasil, América do Sul	(Rego <i>et al.</i> , 1997)
	Furão pequeno (<i>Galictis cuja</i>)		Isolamento viral e sequenciamento	vida livre		(Megid <i>et al.</i> , 2013)

1 2.2.3.1 Procionídeos

2 A família *Procyonidae* pertence à ordem Carnivora e são endêmicos
3 nas Américas (Koepfli *et al.*, 2007). São seis gêneros que compõe os procionídeos, o
4 gênero *Procyon* (mão-pelada; guaxinim; guaxinim-pigmeu), o gênero *Nasua* (quati de
5 cauda anelada, quati de nariz branco e quati da ilha), o gênero *Nasuella* (cuchucho-
6 andino), gênero *Bassariscus* (bassarisco e cacomistle), gênero *Potos* (jupará), gênero
7 *Bassaricyon* (gogó de sola, olingo de allen, olingo da guiana, olingo da costa rica,
8 olingo ruivo e olinguito) (Koepfli *et al.*, 2007). Os procionídeos, embora sejam
9 carnívoros, apresentam hábitos alimentares onívoros e com alta adaptação ao local
10 em que vivem (Beisiegel e Mantovani, 2006). Estudos comportamentais sobre quatis,
11 descrevem a ampla distribuição dessa espécie na América do Sul e sua capacidade
12 adaptativa ao meio que estão inseridos, assim como sua ousadia de proximidade a
13 humanos e animais domésticos nas áreas antrópicas (Beisiegel, 2001; Beisiegel e
14 Mantovani, 2006; Acosta-Jamett *et al.*, 2011).

15 Em 1972, houve uma epizootia de CDV no Condado de Sarasota
16 (EUA), envolvendo 114 guaxinins e 8 raposas, onde os infectados apresentavam
17 sinais clínicos de doença sistêmica e neurológica, não sendo confirmada a origem da
18 infecção (Hoff *et al.*, 1974). Análises sorológicas concluíram que o CDV é endêmico
19 em guaxinins na região de New Jersey relatando a ocorrência de 17 epizootias de
20 CDV envolvendo 615 guaxinins de 1977 a 1991, ressaltando ainda a importância de
21 diferenciar os casos neurológicos de CDV dos casos de raiva (Roscoe, 1993). Em
22 Illinois, EUA, pesquisadores investigaram sorologicamente guaxinins de vida livre de
23 um parque e de uma fazenda com reservas naturais, encontrando positividade para
24 CDV em 23% dos 368 guaxinins investigados (Mitchell *et al.*, 1999).

25 No Brasil, houve investigação sorológica em quatis, não obtendo
26 positividade para CDV, entre outros agentes infecciosos (Furtado *et al.*, 2016; Taques
27 *et al.*, 2018). Existem estudos demonstrando a presença de *Trypanosoma cruzi*
28 (Herrera *et al.*, 2008; Olifiers *et al.*, 2015), *Leptospira* spp. (Langoni *et al.*, 2009),
29 *Toxoplasma gondii* (Maia *et al.*, 2016), *Neorickettsia helminthoeca* (Headley *et al.*,
30 2018a) e vaccínia vírus (Costa *et al.*, 2018). Em comum a todas as pesquisas sobre
31 agentes infecciosos em quatis, está o fato de a pressão antrópica ser um fator
32 importante na transmissão desses agentes infecciosos tanto dos animais domésticos

1 para os quatis, quanto dos quatis para os domésticos e para humanos no caso de
2 doenças zoonóticas.

3 2.2.3.2 Canídeos

4 Todos os canídeos são susceptíveis a infecção por CDV e manifestam
5 sinais clínicos muito semelhantes aos cães domésticos (Deem *et al.*, 2000). Tanto
6 infecções naturais quanto induzidas por vacinas foram documentadas em cães
7 selvagens da África, *Lycaon pictus* (Durchfeld *et al.*, 1990; Alexander e Appel, 1994).
8 A população de cães selvagens da África vem declinando devido a causas associadas
9 à perda de habitat, morte por seres humanos, escassez de presas e doenças
10 infecciosas como raiva e cinomose (Van De Bildt *et al.*, 2002). Na Tanzânia, o governo
11 financia a manutenção de um cativeiro para reprodução do *Lycaon pictus*, onde os
12 filhotes são vacinados com vacina de vírus mortos, utilizada com sucesso em focas
13 (Van De Bildt *et al.*, 2002). Porém, na população de cativeiro vacinada, houve infecção
14 por CDV e 49 dos 52 cães selvagens morreram, sendo a origem da infecção
15 relacionada à população de cães domésticos das redondezas (Van De Bildt *et al.*,
16 2002). No Japão, há registros de surtos de CDV em cães guaxinins (*Nyctereutes*
17 *procyonoides*) com manifestação sistêmica e neurológica da doença (Machida *et al.*,
18 1993). Na África do Sul, há relatos em cachorro-vinagre, *Speothos venaticus* (McInnes
19 *et al.*, 1992). Na América do Sul, em lobos-guará, *Chrysocyon brachyurus* (Thomas-
20 Baker, 1985; Deem e Emmons, 2005; Furtado *et al.*, 2016), em cachorro do mato,
21 *Cerdocyon thous* (Megid *et al.*, 2009; Furtado *et al.*, 2016) e numa raposa do campo,
22 *Lycalopex vetulus* (Megid *et al.*, 2010). Uma revisão sistemática e documental sobre
23 o CDV em hospedeiros selvagens, mostrou que a ordem Carnivora representa 87,5%
24 dos registros encontrados, da qual, os canídeos são 30% desse total (Martinez-
25 Gutierrez e Ruiz-Saenz, 2016).

26 2.2.3.3 Felídeos

27 Duas grandes epidemias de CDV em felinos selvagens são
28 mundialmente conhecidas, uma na Califórnia, com índice de mortalidade de 23%, que
29 isolou o CDV e mostrou que eram idênticos ao CDV isolado anteriormente de cães e
30 guaxinins (Appel *et al.*, 1994) e a outra no Serengeti, com mortalidade de 30%

1 (75/250), que também atribuiu a infecção aos cães errantes (Roelke-Parker *et al.*,
2 1996). Um estudo retrospectivo demonstrou que o CDV infecta felinos de grande
3 porte, como leões e tigres há muito mais tempo do que se tinha conhecimento (desde
4 1972 pelo menos) (Myers *et al.*, 1997). Este trabalho investigou todos os tecidos de
5 grandes felinos formalizados e armazenados na rotina do Laboratório de Patologia da
6 Universidade de Zurique de 1972 a 1992, totalizando 42 felinos, dos quais 19 foram
7 positivos para CDV por imuno-histoquímica com anticorpo policlonal (Myers *et al.*,
8 1997).

9 Em 2010, houve relato de uma epidemia de CDV que matou tigres no
10 zoológico do Japão, onde o isolamento viral permitiu verificar alta homologia com o
11 CDV isolado de cães-guaxinins (*Nyctereutes procyonoides*) que morreram nos
12 arredores deste zoológico (Nagao *et al.*, 2011). No extremo oriente russo, o CDV foi
13 identificado como causador de encefalite não supurativa em tigres de Amur (*Panthera*
14 *tigres altaica*), um felino selvagem ameaçado de extinção (Seimon *et al.*, 2013). Esse
15 estudo investigou tecidos formalizados de cinco tigres que morreram em 2001, 2004
16 e 2010, onde dois deles apresentavam desmielinização, manguitos mononucleares
17 perivasculares e inclusões virais (Seimon *et al.*, 2013). Adicionalmente, a filogenia do
18 CDV encontrado nos tigres de Amur corresponde com o CDV encontrado nas focas
19 do Baikal, *Phoca siberica* (Seimon *et al.*, 2013). Também em território russo, em 2015
20 o CDV foi diagnosticado como agente causador da encefalite desmielinizante em um
21 leopardo selvagem (*Panthera pardus orientalis*), espécie criticamente ameaçada de
22 extinção (Sulikhan *et al.*, 2018). Essa equipe de pesquisadores também investigou
23 amostras de sangue armazenadas e observou a presença de anticorpos
24 neutralizantes contra CDV em dois leopardos selvagens a partir de amostras
25 coletadas em 1993 e 1994, concluindo que já havia exposição anterior ao vírus
26 (Sulikhan *et al.*, 2018).

27 No Brasil, em 2008, pesquisadores do Instituto de Pesquisas
28 Ecológicas, relataram a evidência sorológica de CDV em felinos silvestres de vida livre
29 em duas reservas pertencentes a Floresta Atlântica, Morro do Diabo e Ivinhema,
30 respectivamente (Nava *et al.*, 2008). Demonstraram que, em ambas reservas, haviam
31 onças-pintadas, 47,4%; 9/19 (*Panthera onca*) e onças-pardas, 0,1%; 1/9 (*Puma*
32 *concolor*) soropositivas para CDV, demonstrando também que as amostras colhidas
33 dos cães domésticos dos arredores de cada reserva foram 35% (45/101) soropositivas
34 em uma reserva e 100% (10/10) na outra (Nava *et al.*, 2008). Uma pesquisa do

1 Instituto Onça-pintada, avaliou a exposição de onças-pintadas (*Panthera onca*), cães
2 e gatos domésticos a agentes virais, nos biomas Cerrado, Amazônia e Pantanal,
3 verificando que as onças do Pantanal e os cães dos três biomas haviam sido expostos
4 ao CDV (Furtado *et al.*, 2013). Um estudo recente realizado por nosso grupo de
5 pesquisa (Viana *et al.*, 2020) avaliou tecidos formalizados de três felinos silvestres,
6 uma onça-parda (*Puma concolor*), um gato maracajá (*Leopardus wiedii*) e um
7 jaguarundi (*Herpailurus yagouaroundi*) derivados do Refúgio Biológico Bela Vista de
8 Itaipu e confirmou por imuno-histoquímica a presença de antígenos de CDV
9 intralésionais nos pulmões.

10 2.2.3.4 Hyaenidae

11 No Parque Nacional do Serengeti, Tanzânia, o CDV também causou
12 a morte de hienas pintadas (*Crocuta crocuta*) e o vírus identificado, estava relacionado
13 ao CDV descrito no surto que dizimou 30% da população de leões da mesma reserva
14 (Haas *et al.*, 1996). Entretanto, um estudo retrospectivo investigou a prevalência de
15 anticorpos para CDV nas hienas de um clã da Reserva de Masai Mara, Quênia
16 (Alexander *et al.*, 1995), observando que em 1972 as hienas avaliadas não tinham
17 anticorpos contra CDV e, a partir de 1980, o título de anticorpos subiu,
18 consequentemente, a epizootia de CDV em cães domésticos que ocorreu em 1990 e
19 1991, não afetou a população de hienas e causou a morte de cães selvagens da África
20 (*Lycaon pictus*) e chacais, *Canis* spp. (Alexander e Appel, 1994; Alexander *et al.*,
21 1995).

22 2.2.3.5 Mustelídeos

23 Os animais dessa família são muito susceptíveis ao morbilivírus
24 canino, sendo utilizados desde 1925, por Laidlaw e Dunkin em experimentos para
25 análise das manifestações da doença (Gledhill, 1953; Bresalier e Worboys, 2014).
26 Esses animais quando infectados por CDV, apresentam sinais clínicos sistêmicos e
27 neurológicos muito semelhantes aos cães domésticos, assim como os padrões
28 histopatológico das lesões, tendo taxa de mortalidade próxima de 100% (Fox e Marini,
29 2014).

30 Uma das epizootias de CDV nos EUA, dizimou a última população

1 selvagem de furões de pata negra (*Mustela nigripes*) em 1985 e a espécie voltou a
2 ser reintroduzida na natureza após 1991, através da reprodução em cativeiro (Williams
3 *et al.*, 1988; Williams *et al.*, 1996). Associada à infecção por CDV nos furões, está a
4 infecção em texugos americanos (*Taxidea taxus*), devido à interação próxima entre
5 essas duas espécies no ambiente natural, promovendo a fácil transmissão do vírus
6 (Goodrich *et al.*, 1994). No Brasil, foi relatado infecção por CDV em furão grande,
7 *Galictis vittata* (Rego *et al.*, 1997) e em furão pequeno, *Galictis cuja* (Megid *et al.*,
8 2013).

1 **3 CONCLUSÃO SOBRE O REFERENCIAL TEÓRICO**

2 É fato que o morbillivirus canino infecta diversas espécies selvagens
3 de diferentes ordens animal em todos os continentes, onde o cão doméstico está
4 frequentemente envolvido na disseminação e manutenção do CDV e de outros
5 patógenos. Dessa forma, é necessário que haja maior engajamento em investigar a
6 distribuição dos agentes virais, comuns aos cães domésticos, nas espécies selvagens
7 dos diferentes biomas brasileiros. Isso agregaria conhecimentos sobre o impacto que
8 a pressão antrópica vem causando sobre as áreas de reserva natural do país ao longo
9 dos anos, sobre os prejuízos que a fauna selvagem sofre com as doenças infecciosas
10 caninas e os possíveis riscos à saúde pública.

11

1 **4 REFERÊNCIAS**

- 2 ACOSTA-JAMETT, G.; CHALMERS, W. S.; CUNNINGHAM, A. A.; CLEAVELAND, S.;
3 HANDEL, I. G.; BRONSVOORT, B. M. Urban domestic dog populations as a source
4 of canine distemper virus for wild carnivores in the coquimbo region of Chile.
5 **Veterinary Microbiology**, v. 152, n. 3-4, p. 247-57, Sep 28 2011. ISSN 0378-1135.
6
- 7 AKERSTEDT, J.; LILLEHAUG, A.; LARSEN, I. L.; EIDE, N. E.; ARNEMO, J. M.;
8 HANDELAND, K. Serosurvey for canine distemper virus, canine adenovirus,
9 *Leptospira interrogans*, and *Toxoplasma gondii* in free-ranging canids in Scandinavia
10 and Svalbard. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 46, n. 2, p. 474-80, Apr 2010. ISSN
11 0090-3558.
12
- 13 ALEXANDER, K. A.; APPEL, M. J. African wild dogs (*Lycaon pictus*) endangered by a
14 canine distemper epizootic among domestic dogs near the Masai Mara National
15 Reserve, Kenya. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 30, n. 4, p. 481-485, 1994. ISSN
16 0090-3558.
17
- 18 ALEXANDER, K. A.; KAT, P. W.; FRANK, L. G.; HOLEKAMP, K. E.; SMALE, L.;
19 HOUSE, C.; APPEL, M. J. Evidence of canine distemper virus infection among free-
20 ranging spotted hyenas (*Crocuta crocuta*) in the Masai Mara, Kenya. **Journal of Zoo**
21 **and Wildlife Medicine**, p. 201-206, 1995. ISSN 1042-7260.
22
- 23 ALEXANDER, K. A.; MCNUTT, J.; BRIGGS, M.; STANDERS, P.; FUNSTON, P.;
24 HEMSON, G.; KEET, D.; VAN VUUREN, M. Multi-host pathogens and carnivore
25 management in southern Africa. **Comparative Immunology, Microbiology and**
26 **Infectious Diseases**, v. 33, n. 3, p. 249-265, 2010. ISSN 0147-9571.
27
- 28 AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Clinicopathological findings in dogs with
29 distemper encephalomyelitis presented without characteristic signs of the disease.
30 **Research in Veterinary Science**, v. 82, n. 3, p. 416-22, Jun 2007. ISSN 0034-5288
31 (Print)
32 0034-5288.
33
- 34 APPEL, M. J.; YATES, R. A.; FOLEY, G. L.; BERNSTEIN, J. J.; SANTINELLI, S.;
35 SPELMAN, L. H.; MILLER, L. D.; ARP, L. H.; ANDERSON, M.; BARR, M. Canine
36 distemper epizootic in lions, tigers, and leopards in North America. **Journal of**
37 **Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, n. 3, p. 277-288, 1994. ISSN 1040-6387.
38
- 39 BALBONI, A.; VERIN, R.; MORANDI, F.; POLI, A.; PROSPERI, S.; BATTILANI, M.
40 Molecular epidemiology of canine adenovirus type 1 and type 2 in free-ranging red
41 foxes (*Vulpes vulpes*) in Italy. **Veterinary Microbiology**, v. 162, n. 2, p. 551-557,
42 2013/03/23/ 2013. ISSN 0378-1135. Disponível em: <
43 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113512006062> >.
44
- 45 BANYARD, A. C.; PARIDA, S.; BATTEN, C.; OURA, C.; KWIA TEK, O.; LIBEAU, G.
46 Global distribution of peste des petits ruminants virus and prospects for improved
47 diagnosis and control. **Journal of General Virology**, v. 91, n. 12, p. 2885-2897, 2010.
48 ISSN 1465-2099.

- 1
2 BARRETT, T.; ROSSITER, P. Rinderpest: the disease and its impact on humans and
3 animals. In: (Ed.). **Advances in Virus Research**: Elsevier, v.53, 1999. p.89-110.
4 ISBN 0065-3527.
- 5
6 BEINEKE, A.; PUFF, C.; SEEHUSEN, F.; BAUMGARTNER, W. Pathogenesis and
7 immunopathology of systemic and nervous canine distemper. **Veterinary**
8 **Immunology and Immunopathology**, v. 127, n. 1-2, p. 1-18, Jan 15 2009. ISSN
9 0165-2427 (Print)
10 0165-2427.
- 11
12 BEISIEGEL, B. M. Notes on the coati, *Nasua nasua* (Carnivora: Procyonidae) in an
13 Atlantic Forest area. **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, p. 689-692, 2001. ISSN
14 1519-6984. Disponível em: <
15 [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842001000400020&nrm=iso)
16 [69842001000400020&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842001000400020&nrm=iso) >.
- 17
18 BEISIEGEL, B. M.; MANTOVANI, W. Habitat use, home range and foraging
19 preferences of the coati *Nasua nasua* in a pluvial tropical Atlantic forest area. **Journal**
20 **of Zoology**, v. 269, n. 1, p. 77-87, 2006. ISSN 1469-7998.
- 21
22 BLANCOU, J. Dog distemper: imported into Europe from South America? **Historia**
23 **Medicinae Veterinariae**, v. 29, n. 2, p. 35-41, 2004. ISSN 0105-1423 (Print)
24 0105-1423.
- 25
26 BRESALIER, M.; WORBOYS, M. 'Saving the lives of our dogs': the development of
27 canine distemper vaccine in interwar Britain. **British Journal for the History of**
28 **Science**, v. 47, n. 2, p. 305-334, 07/05 2014. ISSN 0007-0874
29 1474-001X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4014013/>
30 >.
- 31
32 BUTLER, J. R. A.; DU TOIT, J. T.; BINGHAM, J. Free-ranging domestic dogs (*Canis*
33 *familiaris*) as predators and prey in rural Zimbabwe: threats of competition and disease
34 to large wild carnivores. **Biological Conservation**, v. 115, n. 3, p. 369-378,
35 2004/02/01/ 2004. ISSN 0006-3207. Disponível em: <
36 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006320703001526> >.
- 37
38 CARVALHO, O. V.; BOTELHO, C. V.; FERREIRA, C. G. T.; SCHERER, P. O.;
39 SOARES-MARTINS, J. A. P.; ALMEIDA, M. R.; SILVA JÚNIOR, A. Immunopathogenic
40 and neurological mechanisms of canine distemper virus. **Advances in Virology**, v.
41 2012, 2012. ISSN 1687-8639.
- 42
43 CLEAVELAND, S.; APPEL, M.; CHALMERS, W.; CHILLINGWORTH, C.; KAARE, M.;
44 DYE, C. Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of
45 canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. **Veterinary Microbiology**, v. 72,
46 n. 3-4, p. 217-227, 2000. ISSN 0378-1135.
- 47
48 COSBY, S. L. Morbillivirus cross-species infection: is there a risk for humans? **Future**
49 **Virology**, v. 7, n. 11, p. 1103-1113, 2012. ISSN 1746-0794.
50

- 1 COSTA, G. B.; DE ALMEIDA, L. R.; CERQUEIRA, A. G. R.; MESQUITA, W. U.; DE
2 OLIVEIRA, J. S.; MIRANDA, J. B.; SARAIVA-SILVA, A. T.; ABRAHAO, J. S.;
3 DRUMOND, B. P.; KROON, E. G. Vaccinia Virus among Domestic Dogs and Wild
4 Coatis, Brazil, 2013–2015. **Emerging infectious diseases**, v. 24, n. 12, p. 2338,
5 2018.
6
- 7 CURI, N. H. A.; MASSARA, R. L.; PASCHOAL, A. M. O.; SORIANO-ARAÚJO, A.;
8 LOBATO, Z. I. P.; DEMÉTRIO, G. R.; CHIARELLO, A. G.; PASSAMANI, M.
9 Prevalence and risk factors for viral exposure in rural dogs around protected areas of
10 the atlantic forest. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 21, 01/28
11 03/30/received
12 01/25/accepted 2016. ISSN 1746-6148. Disponível em: <
13 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4730773/>>.
14
- 15 DE VRIES, R. D.; LUDLOW, M.; VERBURGH, R. J.; VAN AMERONGEN, G.;
16 YUKSEL, S.; NGUYEN, D. T.; MCQUAID, S.; OSTERHAUS, A. D.; DUPREX, W. P.;
17 DE SWART, R. L. Measles vaccination of nonhuman primates provides partial
18 protection against infection with canine distemper virus. **Journal of Virology**, v. 88, n.
19 8, p. 4423-33, Apr 2014. ISSN 0022-538x.
20
- 21 DEEM, S. L.; EMMONS, L. H. Exposure of free-ranging maned wolves (*Chrysocyon*
22 *brachyurus*) to infectious and parasitic disease agents in the Noel Kempff Mercado
23 National Park, Bolivia. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n. 2, p. 192-7,
24 Jun 2005. ISSN 1042-7260 (Print)
25 1042-7260.
26
- 27 DEEM, S. L.; SPELMAN, L. H.; YATES, R. A.; MONTALI, R. J. Canine distemper in
28 terrestrial carnivores: a review. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 31, n. 4, p.
29 441-452, 2000. ISSN 1042-7260.
30
- 31 DELPEUT, S.; NOYCE, R. S.; RICHARDSON, C. D. The V domain of dog PVRL4
32 (nectin-4) mediates canine distemper virus entry and virus cell-to-cell spread.
33 **Virology**, v. 454, p. 109-117, 2014. ISSN 0042-6822.
34
- 35 DUIGNAN, P. J.; VAN BRESSEM, M.-F.; BAKER, J. D.; BARBIERI, M.; COLEGROVE,
36 K. M.; DE GUISE, S.; DE SWART, R. L.; DI GUARDO, G.; DOBSON, A.; DUPREX,
37 W. P. Phocine distemper virus: Current knowledge and future directions. **Viruses**, v.
38 6, n. 12, p. 5093-5134, 2014.
39
- 40 DURCHFELD, B.; BAUMGÄRTNER, W.; HERBST, W.; BRAHM, R. Vaccine-
41 associated canine distemper infection in a litter of African hunting dogs (*Lycaon pictus*).
42 **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 37, n. 1-10, p. 203-212, 1990. ISSN
43 0931-1793.
44
- 45 FLEMING, G. **Animal plagues: their history, nature, and prevention**. London,
46 Chapman and Hall, 1871. 470.
47
- 48 FOX, J. G.; MARINI, R. P. **Biology and Diseases of the Ferret**. John Wiley & Sons,
49 2014. ISBN 1118782739.
50

- 1 FURTADO, M. M.; DE RAMOS FILHO, J. D.; SCHEFFER, K. C.; COELHO, C. J.;
2 CRUZ, P. S.; IKUTA, C. Y.; DE ALMEIDA JÁCOMO, A. T.; DE OLIVEIRA PORFÍRIO,
3 G. E.; SILVEIRA, L.; SOLLMANN, R. Serosurvey for selected viral infections in free-
4 ranging jaguars (*Panthera onca*) and domestic carnivores in Brazilian Cerrado,
5 Pantanal, and Amazon. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 49, n. 3, p. 510-521, 2013.
6 ISSN 0090-3558.
7
- 8 FURTADO, M. M.; HAYASHI, E. M.; ALLENDORF, S. D.; COELHO, C. J.; DE
9 ALMEIDA JACOMO, A. T.; MEGID, J.; RAMOS FILHO, J. D.; SILVEIRA, L.; TORRES,
10 N. M.; FERREIRA NETO, J. S. Exposure of Free-Ranging Wild Carnivores and
11 Domestic Dogs to Canine Distemper Virus and Parvovirus in the Cerrado of Central
12 Brazil. **EcoHealth**, v. 13, n. 3, p. 549-557, Sep 2016. ISSN 1612-9202.
13
- 14 FURUSE, Y.; SUZUKI, A.; OSHITANI, H. Origin of measles virus: divergence from
15 rinderpest virus between the 11 th and 12 th centuries. **Virology journal**, v. 7, n. 1, p.
16 52, 2010. ISSN 1743-422X.
17
- 18 GLEDHILL, A. W. Some veterinary diseases of medical interest. **British Medical**
19 **Bulletin**, v. 9, n. 3, p. 237-241, 1953. ISSN 0007-1420. Disponível em: <
20 <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a074365> >.
21
- 22 GOODRICH, J.; WILLIAMS, E.; BUSKIRK, S. Effects of a modified-live virus canine
23 distemper vaccine on captive badgers (*Taxidea taxus*). **Journal of Wildlife Diseases**,
24 v. 30, n. 4, p. 492-496, 1994. ISSN 0090-3558.
25
- 26 GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. WB Saunders Philadelphia,
27 1998.
28
- 29 GREENE, C. E. Infectious canine hepatitis and canine acidophil cell hepatitis. In:
30 GREENE, C. E. (Ed.). **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4. St. Louis, Missouri:
31 Elsevier, 2012. cap. 4, p.42-47.
32
- 33 GREENE, C. E.; VANDEVELDE, M. Canine distemper. In: GREENE, C. E. (Ed.).
34 **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2012. cap.
35 3, p.25-42.
36
- 37 HAAS, L.; HOFER, H.; EAST, M.; WOHLSEIN, P.; LIESS, B.; BARRETT, T. Canine
38 distemper virus infection in Serengeti spotted hyaenas. **Veterinary Microbiology**, v.
39 49, n. 1-2, p. 147-152, 1996. ISSN 0378-1135.
40
- 41 HEADLEY, S. A.; AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. F.; BRACARENSE, A. P. F.; ALFIERI,
42 A. A. Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine
43 distemper virus-induced infections in Brazil: a review. **Semina: Ciências Agrárias**, v.
44 33, n. 5, p. 1945-1978, 2012. ISSN 1676-546X.
45
- 46 HEADLEY, S. A.; AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. F.; BRACARENSE, A. P. F.; ALFIERI,
47 A. A.; SUMMERS, B. A. Molecular detection of canine distemper virus and the
48 immunohistochemical characterization of the neurologic lesions in naturally occurring
49 old dog encephalitis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 21, n. 5, p.
50 588-597, 2009. ISSN 1040-6387.

- 1
2 HEADLEY, S. A.; DE OLIVEIRA, T. E. S.; DE MELLO ZANIM MICHELAZZO, M.;
3 FRITZEN, J. T. T.; CUBAS, Z. S.; DE MORAES, W.; ALFIERI, A. A.; VIDOTTO, O.
4 Immunohistochemical and molecular evidence of putative Neorickettsia infection in
5 coatis (*Nasua nasua*) from Southern Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.
6 49, n. 3, p. 535-541, 2018a. ISSN 1042-7260.
- 7
8 HEADLEY, S. A.; GRAÇA, D. L. Canine distemper: epidemiological findings of 250
9 cases. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 2,
10 p. 136-140, 2000. ISSN 1413-9596. Disponível em: <
11 [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962000000200009&nrm=iso)
12 [95962000000200009&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962000000200009&nrm=iso) >.
- 13
14 HEADLEY, S. A.; OLIVEIRA, T. E. S.; PEREIRA, A. H. T.; MOREIRA, J. R.;
15 MICHELAZZO, M. M. Z.; PIRES, B. G.; MARUTANI, V. H. B.; XAVIER, A. A. C.; DI
16 SANTIS, G. W.; GARCIA, J. L.; ALFIERI, A. A. Canine morbillivirus (canine distemper
17 virus) with concomitant canine adenovirus, canine parvovirus-2, and *Neospora*
18 *caninum* in puppies: a retrospective immunohistochemical study. **Scientific Reports**,
19 v. 8, n. 1, p. 13477, Sep 7 2018b. ISSN 2045-2322.
- 20
21 HERRERA, H. M.; LISBOA, C. V.; PINHO, A. P.; OLIFIERS, N.; BIANCHI, R. C.;
22 ROCHA, F. L.; MOURÃO, G. M.; JANSEN, A. M. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora,
23 Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma cruzi* in the
24 Pantanal region, Brazil. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine**
25 **and Hygiene**, v. 102, n. 11, p. 1133-1139, 2008. ISSN 0035-9203. Disponível em: <
26 <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.04.041> >. Acesso em: 12/5/2019.
- 27
28 HOFF, G. L.; BIGLER, W. J.; PROCTOR, S. J.; STALLINGS, L. P. Epizootic of canine
29 distemper virus infection among urban raccoons and gray foxes. **Journal of Wildlife**
30 **Diseases**, v. 10, n. 4, p. 423-428, 1974. ISSN 0090-3558.
- 31
32 HORZINEK, M. C. Rinderpest: the second viral disease eradicated. **Veterinary**
33 **Microbiology**, v. 149, n. 3-4, p. 295-7, May 5 2011. ISSN 0378-1135.
- 34
35 IWATSUKI, K.; OKITA, M.; OCHIKUBO, F.; GEMMA, T.; SHIN, Y. S.; MIYASHITA, N.;
36 MIKAMI, T.; KAI, C. Immunohistochemical analysis of the lymphoid organs of dogs
37 naturally infected with canine distemper virus. **Journal of Comparative Pathology**, v.
38 113, n. 2, p. 185-90, Aug 1995. ISSN 0021-9975 (Print)
39 0021-9975.
- 40
41 KEELING, M. J.; GRENFELL, B. T. Disease extinction and community size: modeling
42 the persistence of measles. **Science**, v. 275, n. 5296, p. 65-67, 1997. ISSN 0036-
43 8075.
- 44
45 KOEPFLI, K.-P.; GOMPPER, M. E.; EIZIRIK, E.; HO, C.-C.; LINDEN, L.;
46 MALDONADO, J. E.; WAYNE, R. K. Phylogeny of the Procyonidae (Mammalia:
47 Carnivora): Molecules, morphology and the Great American Interchange. **Molecular**
48 **Phylogenetics and Evolution**, v. 43, n. 3, p. 1076-1095, 2007/06/01/ 2007. ISSN
49 1055-7903. Disponível em: <
50 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790306003848> >.

- 1
2 KRAKOWKA, S. Canine distemper virus infectivity of various blood fractions for central
3 nervous system vasculature. **Journal of Neuroimmunology**, v. 21, n. 1, p. 75-80, Jan
4 1989. ISSN 0165-5728 (Print)
5 0165-5728.
6
- 7 LANGONI, H.; KAWAGUCHI, M.; OSHIKA, J.; DA SILVA, R.; TEIXEIRA, C. R.
8 *Leptospira* spp. antibodies in captive coatis (*Nasua nasua* Storr, 1780)(Carnivora:
9 Procyonidae). **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical**
10 **Diseases**, v. 15, n. 4, p. 762-767, 2009. ISSN 1678-9199.
11
- 12 LOOTS, A. K.; MITCHELL, E.; DALTON, D. L.; KOTZÉ, A.; VENTER, E. H. Advances
13 in canine distemper virus pathogenesis research: a wildlife perspective. **Journal of**
14 **General Virology**, v. 98, n. 3, p. 311-321, 2017. ISSN 0022-1317. Disponível em: <
15 <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000666> >.
16
- 17 LUDLOW, M.; RENNICK, L. J.; NAMBULLI, S.; DE SWART, R. L.; DUPREX, W. P.
18 Using the ferret model to study morbillivirus entry, spread, transmission and cross-
19 species infection. **Current Opinion in Virology**, v. 4, p. 15-23, 2014. ISSN 1879-
20 6257.
21
- 22 LUNARDI, M.; DAROLD, G. M.; AMUDE, A. M.; HEADLEY, S. A.; SONNE, L.;
23 YAMAUCHI, K. C. I.; BOABAID, F. M.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Canine
24 distemper virus active infection in order Pilosa, family Myrmecophagidae, species
25 *Tamandua tetradactyla*. **Veterinary Microbiology**, v. 220, p. 7-11, 2018. ISSN 0378-
26 1135.
27
- 28 MACHIDA, N.; KIRYU, K.; OH-ISHI, K.; KANDA, E.; IZUMISAWA, N.; NAKAMURA, T.
29 Pathology and epidemiology of canine distemper in raccoon dogs (*Nyctereutes*
30 *procyonoides*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 108, n. 4, p. 383-392, 1993.
31 ISSN 0021-9975.
32
- 33 MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J.; FENNER, F. **Fenner's veterinary virology**.
34 Fourth Edition. London: Elsevier, 2011. 534 ISBN 0123751594, 9780123751591.
35
- 36 MAIA, J. F.; GENNARI, S. M.; MILANELO, L.; FURUYA, H. R.; SOUZA, V. A. F.;
37 VITALIANO, S. N. Serological survey of Toxoplasmosis in South American coatis
38 (*Nasua nasua*) in Tietê Ecological Park, São Paulo, SP, Brazil. **Brazilian Journal of**
39 **Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n. 3, p. 1-6, 2016. ISSN 1678-
40 4456.
41
- 42 MAMAIEV, L.; VISSER, I.; BELIKOV, S.; DENIKINA, N.; HARDER, T.; GOATLEY, L.;
43 RIMA, B.; EDGINTON, B.; OSTERHAUS, A.; BARRETT, T. Canine distemper virus in
44 Lake Baikal seals (*Phoca sibirica*). **Veterinary Record**, v. 138, n. 18, p. 437-439,
45 1996. ISSN 0042-4900.
46
- 47 MARTELLA, V.; ELIA, G.; BUONAVOGLIA, C. Canine distemper virus. **Veterinary**
48 **Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 4, p. 787-97, vii-viii, Jul
49 2008. ISSN 0195-5616 (Print)
50 0195-5616.

- 1
2 MARTINEZ-GUTIERREZ, M.; RUIZ-SAENZ, J. Diversity of susceptible hosts in canine
3 distemper virus infection: a systematic review and data synthesis. **BMC Veterinary**
4 **Research**, v. 12, p. 78, May 12 2016. ISSN 1746-6148.
5
6 MCLNNES, E. F.; BURROUGHS, R.; DUNCAN, N. Possible vaccine-induced canine
7 distemper in a South American bush dog (*Speothos venaticus*). **Journal of Wildlife**
8 **Diseases**, v. 28, n. 4, p. 614-617, 1992. ISSN 0090-3558.
9
10 MEGID, J.; DE SOUZA, V. A.; TEIXEIRA, C. R.; CORTEZ, A.; AMORIN, R. L.;
11 HEINEMMAN, M. B.; CAGNINI, D. Q.; RICHTZENHAIN, L. J. Canine distemper virus
12 in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Brazil: case report and phylogenetic
13 analyses. **Journal Wildlife Diseases**, v. 45, n. 2, p. 527-30, Apr 2009. ISSN 0090-
14 3558 (Print)
15 0090-3558.
16
17 MEGID, J.; TEIXEIRA, C. R.; AMORIN, R. L.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; DE
18 PAULA ANTUNES, J. M. A.; COSTA, L. F.; FORNAZARI, F.; CIPRIANO, J. R. B.;
19 CREMASCO, A. First identification of canine distemper virus in hoary fox (*Lycalopex*
20 *vetulus*): pathologic aspects and virus phylogeny. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 46,
21 n. 1, p. 303-305, 2010. ISSN 0090-3558.
22
23 MEGID, J.; TEIXEIRA, C. R.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; ANTUNES, J. M. A.
24 P.; FORNAZARI, F.; RASSY, F. B.; RICHTZENHAIN, L. J. Canine distemper virus
25 infection in a lesser grison (*Galictis cuja*): first report and virus phylogeny. **Pesquisa**
26 **Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 247-250, 2013. ISSN 0100-736X.
27
28 MITCHELL, M.; HUNGERFORD, L.; NIXON, C.; ESKER, T.; SULLIVAN, J.;
29 KOERKENMEIER, R.; DUBEY, J. Serologic survey for selected infectious disease
30 agents in raccoons from Illinois. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 2, p. 347-355,
31 1999. ISSN 0090-3558.
32
33 MÜHLEBACH, M. D.; MATEO, M.; SINN, P. L.; PRÜFER, S.; UHLIG, K. M.;
34 LEONARD, V. H.; NAVARATNARAJAH, C. K.; FRENZKE, M.; WONG, X. X.;
35 SAWATSKY, B. Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for
36 measles virus. **Nature**, v. 480, n. 7378, p. 530, 2011. ISSN 1476-4687.
37
38 MYERS, D. L.; ZURBRIGGEN, A.; LUTZ, H.; POSPISCHIL, A. Distemper: not a new
39 disease in lions and tigers. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 4, n. 2, p. 180-184, 1997.
40 ISSN 1071-412X.
41
42 NAGAO, Y.; NISHIO, Y.; SHIOMODA, H.; TAMARU, S.; SHIMOJIMA, M.; GOTO, M.;
43 UNE, Y.; SATO, A.; IKEBE, Y.; MAEDA, K. An outbreak of canine distemper virus in
44 tigers (*Panthera tigris*): possible transmission from wild animals to zoo animals.
45 **Journal of Veterinary Medical Science**, p. 1112250745-1112250745, 2011. ISSN
46 0916-7250.
47
48 NAMBULLI, S.; SHARP, C. R.; ACCIARDO, A. S.; DREXLER, J. F.; DUPREX, W. P.
49 Mapping the evolutionary trajectories of morbilliviruses: what, where and whither.
50 **Current Opinion in Virology**, v. 16, p. 95-105, 2016/02/01/ 2016. ISSN 1879-6257.

- 1 Disponível em: <
2 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625716300013> >.
3
- 4 NAVA, A. F. D.; CULLEN JR, L.; SANA, D. A.; NARDI, M. S.; RAMOS FILHO, J. D.;
5 LIMA, T. F.; ABREU, K. C.; FERREIRA, F. First evidence of canine distemper in
6 Brazilian free-ranging felids. **EcoHealth**, v. 5, n. 4, p. 513-518, 2008. ISSN 1612-9202.
7
- 8 NOYCE, R. S.; DELPEUT, S.; RICHARDSON, C. D. Dog nectin-4 is an epithelial cell
9 receptor for canine distemper virus that facilitates virus entry and syncytia formation.
10 **Virology**, v. 436, n. 1, p. 210-220, 2013. ISSN 0042-6822.
11
- 12 OLIFIERS, N.; JANSEN, A. M.; HERRERA, H. M.; DE CASSIA BIANCHI, R.;
13 D'ANDREA, P. S.; DE MIRANDA MOURÃO, G.; GOMPPER, M. E. Co-infection and
14 wild animal health: effects of trypanosomatids and gastrointestinal parasites on coatis
15 of the Brazilian Pantanal. **Plos One**, v. 10, n. 12, p. e0143997, 2015. ISSN 1932-
16 6203.
17
- 18 PRATAKPIRIYA, W.; SEKI, F.; OTSUKI, N.; SAKAI, K.; FUKUHARA, H.; KATAMOTO,
19 H.; HIRAI, T.; MAENAKA, K.; TECHANGAMSUWAN, S.; LAN, N. T. Nectin4 is an
20 epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in neurovirulence.
21 **Journal of Virology**, v. 86, n. 18, p. 10207-10210, 2012. ISSN 0022-538X.
22
- 23 REGO, A. A. M. S.; MATUSHIMA, E. R.; PINTO, C. M.; BIASIA, I. Cinomose em
24 canídeos e mustelídeos silvestres brasileiros: relato de caso. **Brazilian Journal of**
25 **Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n. 3, p. 156-158, 1997. ISSN 1678-
26 4456.
27
- 28 RIMA, B. K.; DUPREX, W. P. Morbilliviruses and human disease. **The Journal of**
29 **Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v.
30 208, n. 2, p. 199-214, 2006. ISSN 0022-3417.
31
- 32 ROELKE-PARKER, M. E.; MUNSON, L.; PACKER, C.; KOCK, R.; CLEVELAND, S.;
33 CARPENTER, M.; O'BRIEN, S. J.; POSPISCHIL, A.; HOFMANN-LEHMANN, R.;
34 LUTZ, H.; MWAMENGELE, G. L.; MGASA, M. N.; MACHANGE, G. A.; SUMMERS, B.
35 A.; APPEL, M. J. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*).
36 **Nature**, v. 379, n. 6564, p. 441-5, Feb 1 1996. ISSN 0028-0836 (Print)
37 0028-0836.
38
- 39 ROSCOE, D. E. Epizootiology of canine distemper in New Jersey raccoons. **Journal**
40 **of Wildlife Diseases**, v. 29, n. 3, p. 390-395, 1993. ISSN 0090-3558.
41
- 42 RUDD, P. A.; CATTANEO, R.; VON MESSLING, V. Canine distemper virus uses both
43 the anterograde and the hematogenous pathway for neuroinvasion. **Journal of**
44 **Virology**, v. 80, n. 19, p. 9361-70, Oct 2006. ISSN 0022-538X (Print)
45 0022-538x.
46
- 47 SAKAI, K.; NAGATA, N.; AMI, Y.; SEKI, F.; SUZAKI, Y.; IWATA-YOSHIKAWA, N.;
48 SUZUKI, T.; FUKUSHI, S.; MIZUTANI, T.; YOSHIKAWA, T. Lethal canine distemper
49 virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. **Journal of Virology**, v. 87,
50 n. 2, p. 1105-1114, 2013a. ISSN 0022-538X.

- 1
2 SAKAI, K.; YOSHIKAWA, T.; SEKI, F.; FUKUSHI, S.; TAHARA, M.; NAGATA, N.; AMI,
3 Y.; MIZUTANI, T.; KURANE, I.; YAMAGUCHI, R. Canine distemper virus associated
4 with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt to use human receptors. **Journal**
5 **of Virology**, v. 87, n. 12, p. 7170-7175, 2013b. ISSN 0022-538X.
6
- 7 SEIMON, T. A.; MIQUELLE, D. G.; CHANG, T. Y.; NEWTON, A. L.; KOROTKOVA, I.;
8 IVANCHUK, G.; LYUBCHENKO, E.; TUPIKOV, A.; SLABE, E.; MCALOOSE, D.
9 Canine distemper virus: an emerging disease in wild endangered Amur tigers
10 (Panthera tigris altaica). **MBio**, v. 4, n. 4, p. e00410-13, 2013. ISSN 2150-7511.
11
- 12 SEPÚLVEDA, M. A.; SINGER, R. S.; SILVA-RODRÍGUEZ, E.; STOWHAS, P.;
13 PELICAN, K. Domestic dogs in rural communities around protected areas:
14 conservation problem or conflict solution? **Plos One**, v. 9, n. 1, p. e86152, 2014.
15 Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086152> >.
16
- 17 SHESHBERADARAN, H.; NORRBY, E.; MCCULLOUGH, K. C.; CARPENTER, W. C.;
18 ÖRVELL, C. The antigenic relationship between measles, canine distemper and
19 rinderpest viruses studied with monoclonal antibodies. **Journal of General Virology**,
20 v. 67, n. 7, p. 1381-1392, 1986. ISSN 0022-1317.
21
- 22 SILVA, A. P.; BODNAR, L.; HEADLEY, S. A.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Molecular
23 detection of canine distemper virus (CDV), canine adenovirus A types 1 and 2 (CAdV-
24 1 and CAdV-2), and canine parvovirus type 2 (CPV-2) in the urine of naturally infected
25 dogs. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 6, 2014. ISSN 1676-546X.
26
- 27 SILVA, M. C.; FIGHERA, R. A.; MAZZANTI, A.; BRUM, J. S.; PIEREZAN, F.;
28 BARROS, C. S. Neuropatologia da cinomose canina: 70 casos (2005-2008). **Pesquisa**
29 **Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 8, p. 643-652, 2009. ISSN 0100-736X.
30
- 31 SULIKHAN, N. S.; GILBERT, M.; BLIDCHENKO, E. Y.; NAIDENKO, S. V.; IVANCHUK,
32 G. V.; GORPENCHENKO, T. Y.; ALSHINETSKIY, M. V.; SHEVTSOVA, E. I.;
33 GOODRICH, J. M.; LEWIS, J. C. Canine distemper virus in a wild far eastern leopard
34 (Panthera pardus orientalis). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 54, n. 1, p. 170-174,
35 2018. ISSN 0090-3558.
36
- 37 SUMMERS, B. A.; APPEL, M. Aspects of canine distemper virus and measles virus
38 encephalomyelitis. **Neuropathology and applied neurobiology**, v. 20, n. 6, p. 525-
39 534, 1994. ISSN 0305-1846.
40
- 41 SUMMERS, B. A.; GREISEN, H. A.; APPEL, M. J. Canine distemper
42 encephalomyelitis: variation with virus strain. **Journal of Comparative Pathology**, v.
43 94, n. 1, p. 65-75, Jan 1984. ISSN 0021-9975 (Print)
44 0021-9975.
45
- 46 SUN, Z.; LI, A.; YE, H.; SHI, Y.; HU, Z.; ZENG, L. Natural infection with canine
47 distemper virus in hand-feeding Rhesus monkeys in China. **Veterinary Microbiology**,
48 v. 141, n. 3-4, p. 374-378, 2010. ISSN 0378-1135.
49
- 50 TAKEDA, K.; AKIRA, S. Toll-like receptors in innate immunity. **International**

- 1 **immunology**, v. 17, n. 1, p. 1-14, 2005. ISSN 1460-2377.
- 2
- 3 TAQUES, I. I.; MORGADO, T. O.; BRAGA, Í. A.; PAZ, R. C.; CORRÊA, S. H.;
4 FRITZEN, J. T.; ALFIERI, A. A.; AGUIAR, D. M. Antibodies against canine distemper
5 virus, parvovirus and Ehrlichia spp. in wild captive carnivores in midwestern Brazil.
6 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 1681-1684, 2018. ISSN 0100-736X.
- 7
- 8 TATSUO, H.; ONO, N.; YANAGI, Y. Morbilliviruses use signaling lymphocyte activation
9 molecules (CD150) as cellular receptors. **Journal of Virology**, v. 75, n. 13, p. 5842-
10 5850, 2001. ISSN 0022-538X.
- 11
- 12 THOMAS-BAKER, B. Vaccination-induced distemper in maned wolves, vaccination-
13 induced corneal opacity in a maned wolf. *Proc. Am. Assoc. Zoo Vet*, 1985. p.192-197.
- 14
- 15 UHL, E. W.; KELDERHOUSE, C.; BUIKSTRA, J.; BLICK, J. P.; BOLON, B.; HOGAN,
16 R. J. New world origin of canine distemper: Interdisciplinary insights. **International**
17 **Journal of Paleopathology**, v. 24, p. 266-278, 2019/03/01/ 2019. ISSN 1879-9817.
18 Disponível em: <
19 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879981718300378> >.
- 20
- 21 VAN BRESSEM, M.-F.; DUIGNAN, P. J.; BANYARD, A.; BARBIERI, M.;
22 COLEGROVE, K. M.; DE GUISE, S.; DI GUARDO, G.; DOBSON, A.; DOMINGO, M.;
23 FAUQUIER, D. Cetacean morbillivirus: current knowledge and future directions.
24 **Viruses**, v. 6, n. 12, p. 5145-5181, 2014.
- 25
- 26 VAN DE BILDT, M. W.; KUIKEN, T.; VISEE, A. M.; LEMA, S.; FITZJOHN, T. R.;
27 OSTERHAUS, A. D. Distemper outbreak and its effect on African wild dog
28 conservation. **Emerging infectious diseases**, v. 8, n. 2, p. 212, 2002.
- 29
- 30 VANDEVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A. The neurobiology of canine distemper virus
31 infection. **Veterinary Microbiology**, v. 44, n. 2-4, p. 271-80, May 1995. ISSN 0378-
32 1135 (Print)
33 0378-1135.
- 34
- 35 _____. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. **Acta**
36 **Neuropathologica**, v. 109, n. 1, p. 56-68, Jan 2005. ISSN 0001-6322 (Print)
37 0001-6322.
- 38
- 39 VANDEVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A.; HIGGINS, R. J.; PALMER, D. Spread and
40 distribution of viral antigen in nervous canine distemper. **Acta Neuropathologica**, v.
41 67, n. 3-4, p. 211-8, 1985. ISSN 0001-6322 (Print)
42 0001-6322.
- 43
- 44 VARNER, J. G.; VARNER, J. J. **Dogs of the Conquest**. University of Oklahoma
45 Press, 1983.
- 46
- 47 VIANA, M.; CLEAVELAND, S.; MATTHIOPOULOS, J.; HALLIDAY, J.; PACKER, C.;
48 CRAFT, M. E.; HAMPSON, K.; CZUPRYNA, A.; DOBSON, A. P.; DUBOVI, E. J.
49 Dynamics of a morbillivirus at the domestic-wildlife interface: canine distemper virus in
50 domestic dogs and lions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the**

- 1 **United States of America**, v. 112, n. 5, p. 1464-9, Feb 03 2015. ISSN 0027-8424.
2
- 3 VIANA, N. E.; DE MELLO ZANIM MICHELAZZO, M.; OLIVEIRA, T. E. S.; CUBAS, Z.
4 S.; DE MORAES, W.; HEADLEY, S. A. Immunohistochemical identification of antigens
5 of canine distemper virus in neotropical felids from Southern Brazil. **Transboundary**
6 **and Emerging Diseases**, 2020. ISSN 1865-1674.
7
- 8 WHITEMAN, C. W.; MATUSHIMA, E. R.; CAVALCANTI CONFALONIERI, U. E.;
9 PALHA, M. D. C.; DA SILVA, A. S. L.; MONTEIRO, V. C. Human and domestic animal
10 populations as a potential threat to wild carnivore conservation in a fragmented
11 landscape from the Eastern Brazilian Amazon. **Biological Conservation**, v. 138, n. 1,
12 p. 290-296, 2007/08/01/ 2007. ISSN 0006-3207. Disponível em: <
13 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000632070700167X> >.
14
- 15 WILLIAMS, E.; ANDERSON, S.; CAVENDER, J.; LYNN, C.; LIST, K.; HEARN, C.;
16 APPEL, M. Vaccination of black-footed ferret (*Mustela nigripes*)× Siberian polecat (*M.*
17 *eversmanni*) hybrids and domestic ferrets (*M. putorius furo*) against canine distemper.
18 **Journal of Wildlife Diseases**, v. 32, n. 3, p. 417-423, 1996. ISSN 0090-3558.
19
- 20 WILLIAMS, E. S.; BARKER, I. K. **Infectious diseases of wild mammals**. John Wiley
21 & Sons, 2008. ISBN 0470344814.
22
- 23 WILLIAMS, E. S.; THOME, E.; APPEL, M. J.; BELITSKY, D. W. Canine distemper in
24 black-footed ferrets (*Mustela nigripes*) from Wyoming. **Journal of Wildlife Diseases**,
25 v. 24, n. 3, p. 385-398, 1988. ISSN 0090-3558.
26
- 27 WOO, P. C.; LAU, S. K.; WONG, B. H.; FAN, R. Y.; WONG, A. Y.; ZHANG, A. J.; WU,
28 Y.; CHOI, G. K.; LI, K. S.; HUI, J. Feline morbillivirus, a previously undescribed
29 paramyxovirus associated with tubulointerstitial nephritis in domestic cats.
30 **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 14, p. 5435-5440,
31 2012. ISSN 0027-8424.
32
- 33 WOODROFFE, R.; PRAGER, K. C.; MUNSON, L.; CONRAD, P. A.; DUBOVI, E. J.;
34 MAZET, J. A. K. Contact with domestic dogs increases pathogen exposure in
35 endangered african wild dogs (*Lycaon pictus*). **Plos One**, v. 7, n. 1, p. e30099, 2012.
36 Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030099> >.
37
38
39

1 5 HIPÓTESE

- 2 Os quatis (*Nasua nasua*) infectados pelo morbilivírus canino
- 3 apresentam lesões microscópicas semelhantes às observadas em cães domésticos.

1 5 OBJETIVOS

2 5.1 OBJETIVO GERAL

3 Avaliar amostras de órgãos de 13 quatis (*Nasua nasua*) autopsiados
4 entre 1993 a 2012, fixadas em solução formalina, para investigar a presença de
5 morbilivirus canino, adenovírus canino tipo 1 e 2, parvovírus canino tipo 2, agentes
6 bacterianos e fúngicos.

7 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 8 • Caracterizar achados histopatológicos em quatis do Refúgio Biológico Bela
9 Vista de Itaipu;
- 10 • Verificar se os achados são semelhantes aos padrões descritos nos cães
11 domésticos;
- 12 • Associar os padrões encontrados com possíveis agentes infecciosos, como:
13 morbilivirus canino, adenovírus canino tipo 1 e 2, parvovírus canino tipo 2,
14 agentes bacterianos e fúngicos;
- 15 • Usar técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas para identificar os agentes
16 infecciosos intralesionais.

Received: 27 October 2018 | Revised: 25 November 2019 | Accepted: 13 December 2019

DOI: 10.1111/tbed.13456

SUPPLEMENT ARTICLE

Transboundary and Emerging Diseases | WILEY

Immunohistochemical evidence of canine morbillivirus (canine distemper) infection in coatis (*Nasua nasua*) from Southern Brazil

Mariana de Mello Zanim Michelazzo^{1*}  | Thalita Evani Silva de Oliveira¹  |
 Nayara Emily Viana¹  | Wanderlei de Moraes² | Zalmir Silvino Cubas² |
 Selwyn Arlington Headley¹ 

¹Laboratory of Animal Pathology, Department of Veterinary Preventive Medicine, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brazil

²Bela Vista Sanctuary, Itaipu Binacional, Foz do Iguaçu, Brazil

Correspondence

Selwyn Arlington Headley, Laboratory of Animal Pathology, Department of Veterinary Preventive Medicine, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, PO Box 10.011, 86057-970, Londrina, Paraná, Brazil. Email: selwyn.headley@uel.br

Funding information

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Abstract

The pathological and immunohistochemical (IHC) findings associated with infection due to canine morbillivirus (canine distemper virus, CDV) are described in coatis (*Nasua nasua*). Tissue fragments of coatis ($n = 13$) that died at the Bela Vista Sanctuary, Paraná, Southern Brazil, were routinely processed for histopathology to identify the main histopathologic patterns as compared to that of the domestic dog. Selected formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue fragments of the lungs, liver, urinary bladder and small intestine were used in IHC assays designed to identify the antigens of CDV, canine adenovirus (CAV-1 and CAV-2) and canine parvovirus type 2 (CPV-2). The main histopathologic patterns identified were interstitial pneumonia ($n = 9$), interstitial nephritis ($n = 6$), atrophic enteritis ($n = 4$) and ballooning degeneration of the uroepithelium ($n = 3$). Positive immunolabelling for intralosomal antigens of CDV was identified in the lung with interstitial pneumonia ($n = 3$), in the intestine ($n = 2$) and in the degenerated epithelium of the urinary bladder ($n = 2$). Antigens of CPV-2, CAV-1 and CAV-2 were not identified in any FFPE tissue sections evaluated. These findings indicate that these wild carnivores were infected by a viral disease pathogen common to the domestic dog and develop similar histopathologic findings. Collectively, these findings suggest that these coatis were infected by CDV and can serve as a potential host for this infectious disease pathogen.

KEYWORDS

canine distemper virus, comparative pathology, emerging diseases, wild carnivores

1 | INTRODUCTION

The ring-tailed coati (*Nasua nasua*) is found throughout South America and predominantly inhabits the Atlantic Forest, the Amazon Rainforest and Pantanal regions of Brazil (Trovati et al., 2010). Coatis occupy areas that are in close proximity to humans, frequently invading houses in search of food (Beisiegel & Mantovani, 2006). The proximity of coatis

and other wildlife species to humans and consequently to domestic dogs may pose a potential health risk to other animals (Whiteman et al., 2007), since contact between domestic and wildlife species may result in infectious disease transmission (Sepúlveda et al., 2014).

The risk of disease transmission between populations of domestic and wild carnivores is directly proportional to the frequency of interaction and the proximity of these populations (Acosta-Jamett et al., 2011; Whiteman et al., 2007; Woodroffe et al., 2012). The domestic dog is considered a source of infection for three viral infectious diseases that have significant impact on populations of

*Part of the MSc dissertation of the first author (MMZM).

wild carnivores worldwide. These include rabies, distemper and parvovirus, referred to as The Big Three (Viana et al., 2015). These infectious diseases frequently result in elevated morbidity and mortality among wild carnivores, increasing the risk of extinction for several species (Curi et al., 2016; Viana et al., 2015).

Canine distemper (CD) is an infectious disease that has been known to occur since 1735 (Uhl et al., 2019) and is caused by a morbillivirus that is antigenically similar to human measles virus and rinderpest virus of cattle. In Brazil, the occurrence of CD in domestic dogs is associated with inadequate vaccination (Amude, Alfieri, & Alfieri, 2007; Silva et al., 2009), and the number of stray dogs in urban areas (Silva et al., 2009). The infection has been described in the domestic dog (Figuera et al., 2008; Headley & Graça, 2000) and other wild carnivores (Megid et al., 2010, 2013). Moreover, a new genotype of CDV was identified in raccoons (*Procyon lotor*) and grey foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) after an outbreak of CDV in domestic dogs that resulted in virus mutation and infection of wild animals within the same geographical region (Pope et al., 2016). The wide dissemination of infections and the resultant mortality in several mammalian hosts has made CDV one of the currently known most infectious viruses (Uhl et al., 2019).

Serological investigations have demonstrated the magnitude of the CDV problem in wildlife. In the Serengeti, Tanzania, the domestic dog was considered responsible for the dissemination of CDV to lions, *Panthera leo* (Roelke-Parker et al., 1996), while other infected wild carnivores have remained as subclinical hosts and potential sources of infection within that ecosystem (Viana et al., 2015). In addition, free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and wolves (*Canis lupus*) from Scandinavia and arctic foxes (*Vulpes lagopus*) from Svalbard were seropositive to canine adenovirus type 1 (CAV-1) and CDV (Akerstedt et al., 2010).

When compared to Europe and North America, few studies have investigated the occurrence of infectious disease pathogens in wildlife in Brazil. However, there are published reports confirming the

presence of CDV in wildlife including the crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Megid et al., 2013), the lesser grison, *Galictis cuja* (Megid et al., 2013), and the hoary fox, *Lycalopex vetulus* (Megid et al., 2010). Molecular analyses have demonstrated that the viral strain of CDV identified in these wild carnivores is similar to that associated with CDV in domestic dogs (Megid et al., 2009, 2010, 2013). Information relative to the occurrence of infections caused by CDV in coatis with immunohistochemical (IHC) evidence was not found when major on-line databases were searched. The IHC identification of intralesional CDV antigens confirms active infection and disease in the host. The objectives of this study were to investigate in coatis the association between the histological patterns and the IHC evidence of common canine viral agents responsible for disease in the domestic dog.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study location and sample collection

This study analysed tissues of coatis originating from the Bela Vista Biological Sanctuary (BVS), located at the banks of the lake Itaipu, Foz do Iguaçu, Paraná, Southern Brazil. The city of Foz do Iguaçu suffered major social, structural and demographic changes due to the construction of the Itaipu Dam in 1980, resulting in an increased population density from 38.69 to 216.38 inhabitants/km² (Conte, 2013). Additionally, residential villages were created in the deforested areas, housing areas were built according to the social status of the workers, and Vila C was designed for workers of reduced economic activity, this residential area (Figure 1).

The samples collected were derived from autopsies done on coatis at the BVS by the local staff without training in diagnostic pathology. The time of the autopsies is given in Table 1 and reflects the moment of the tissue harvesting at the BVS. The age of the coatis

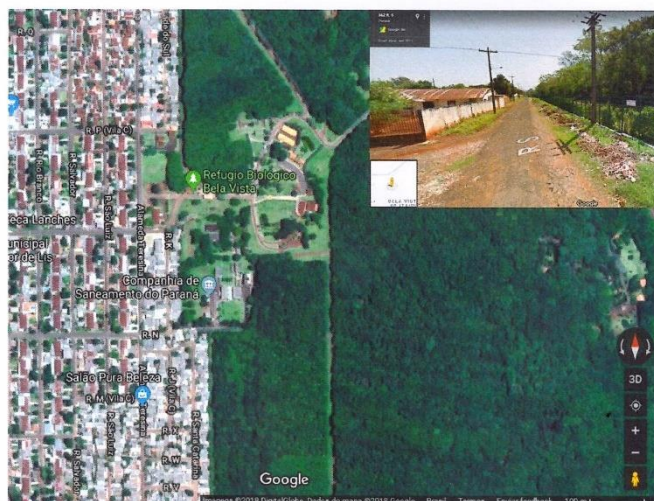


FIGURE 1 Aerial image by Google maps demonstrating the proximity between the urban area and the biological reserve of the Bela Vista Sanctuary (accessed on 22 October 2018)

TABLE 1 Biological data, collection date, origin and outcome of coatis

Coati #	Gender	Age	Autopsy date	Origin	Cause of death
1	Female	Adult	January/1995	BVS	Sepsis
2	Female	Adult	August/2012	BVS	Euthanasia
3	Female	Adult	August/2009	Captured	Vehicular accident
4	Female	Adult	July/1997	Captured	Vehicular accident
5	Female	Adult	June/1993	BVS	Undetermined
6	Male	Adult	August/2007	Captured	Vehicular accident
7	Male	Adult	September/1993	BVS	Euthanasia
8	Female	Adult	June/2010	Captured	Vehicular accident
9	Female	Adult	July/2006	Captured	Vehicular accident
10	Female	Adult	December/1993	BVS	Pneumonia
11	Male	Adult	February/1994	BVS	Euthanasia
12	Female	Adult	June/1993	BVS	Euthanasia
13	Female	Adult	January/2009	Captured	Cardiorespiratory arrest

BVS, Bela Vista Biological Sanctuary.

TABLE 2 Description of the monoclonal antibodies used in the immunohistochemical analyses

Primary Antibody	Dilution	Clone	Tissues	Manufacturer
CDV	1:1,000	CDV-NP	Lungs, urinary bladder, small intestine	VMRD
CAdV-1	1:300	20/11 and 2/6	Lungs, urinary bladder	VMRD
CAdV-2	1:200	20/11 and 2/6	Lungs, urinary bladder	VMRD
CPV-2	1:200	A3B10	Small intestine	VMRD

Abbreviations: CAdV, canine adenovirus; CDV, canine distemper virus; CPV-2, canine parvovirus type 2.

was determined based on visual observation and characterized as juvenile, sub-adult or adult (Beisiegel, 2001). The origins of the coatis (Table 1) were determined as either captured (captured by several sources and sent to the BVS for reintroduction) or BVS (those that were native habitats of the Sanctuary). These data were tabulated based on the information contained in the autopsy report of each animal provided by the BVS.

2.2 | Histopathologic and IHC evaluations

Between 1993 and 2012, coatis from the BVS that died had tissues collected at post-mortem which were fixed by immersion in 10% buffered formalin solution and processed for routine histopathological evaluation (H&E stained). These histological sections were examined to identify possible disease patterns associated with infectious disease agents of the domestic dog. Immunohistochemical detection of pathogen specific antigens was then used to identify the intralosomal antigen.

The Gram, Giemsa, Grocott methenamine silver (GMS) and periodic acid-Schiff (PAS) histochemical stains were used to identify possible intralosomal fungal and bacterial disease agents. Selected formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue sections of the lungs, urinary bladder, liver, salivary gland (only coati #2) and small intestine were used to identify viral antigens known to cause disease in

dogs by IHC as described (Headley et al., 2018, 2017). Pathogens included CDV, canine parvovirus 2 (CPV-2) and canine adenovirus type 1 and type 2 (CAdV-1 and CAdV-2). The list of the antibodies and the organs targeted in each coati is outlined in Table 2. Blocking of unspecific protein was facilitated by exposing the sections to 30 min in a dark chamber flooded with a solution of hydrogen peroxide (6%; 70 ml) and distilled water (80 ml). After washing in distilled water, the histologic sections were covered with protein block (Abcam) for 30 min. Positive controls included FFPE tissue sections known to contain antigens of CDV, CPV-2, and CAV-1 and CAV-2 (Headley et al., 2013, 2018, 2017); negative controls consisted of substituting the primary antibodies with their respective diluents and made use of FFPE tissues with known negative immunoreactivity to CDV, CPV-2, and CAdV-1 and CAdV-2 from the studies cited above. Positive and negative controls were included in each IHC assay.

3 | RESULTS

3.1 | Biological data and outcome of coatis

Based on the size of the coatis evaluated, all ($n = 13$) were considered as adults, and most of these (76.9%; 10/13) were females (Table 1). Most coatis (53.8%; 7/13) were natural habitants of the BVS, but

46.2% (6/13) were free-living animals that were captured and taken to the BVS. Most captured coatis (83.3%; 5/6) were victims of vehicular accidents that died on arrival or during reintroduction at the BVS. In addition, more than half (57.1%; 4/7) of the coatis that were inhabitants of the BVS were euthanized due to advanced age and deteriorating health.

3.2 | Histopathologic patterns

The main histopathologic patterns are graphically presented in Figure 2. The most frequent lesions diagnosed included interstitial pneumonia (69.2%; 9/13), characterized by moderate thickening of the alveolar septa due to a lymphohistiocytic infiltrate and proliferation of type II pneumocytes (Figure 3a). Interstitial nephritis was present in 46.1% (6/13) of cases and was characterized by an accumulation of lymphocytes and plasma cells and a multifocal histiocytic inflammation at the renal cortex. Chronic atrophic enteritis was seen in 30.8% (4/13) of cases and was characterized by the fusion and multifocal blunting of the intestinal villi and an influx of lymphohistiocytic cells at the lamina propria (Figure 3b). Ballooning degeneration of the transitional epithelium of the urinary bladder occurred in 23.1% (3/13; Figure 3c) of cases. Necrotic enteritis characterized by necrosis and dilation of intestinal crypts was observed in two coatis (Figure 3d). Parasitic pneumonia characterized by the accumulation of adult nematodes within the lumen of bronchioles and alveoli admixed with a lymphohistiocytic and eosinophilic inflammatory infiltrate was observed in 15.4% (2/13) of cases. Concomitant granulomatous and interstitial pneumonia were identified in the pulmonary sections of these coatis.

Other less frequently (7.7%; 1/13) diagnosed lesions were mastitis, glomerulonephritis, granulomatous nephritis, cholangitis, cholangiohepatitis, pyogranulomatous splenitis and pancreatitis. Fungal and bacterial microorganisms were not identified in any tissue evaluated by the histochemical stains.

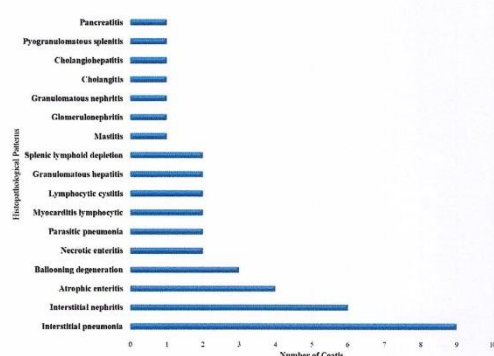


FIGURE 2 Frequency of the principal histopathological findings observed in 13 coatis

3.3 | IHC demonstration of CDV antigens

Immunohistochemical demonstrated intralésional CDV antigens in tissues from the coatis. Positive intracytoplasmic immunoreactivity to CDV antigens was observed in 23.1% (3/13) of the coatis evaluated. There was positive immunoreactivity to CDV antigens in the bronchiolar epithelium of the lungs (coatis #2, 4 and 10; Figure 4a,b). Positive immunoreactivity was also seen in the epithelial cells of the biliary ducts at the portal triad of the liver (coatis #2 and 4; Figure 4c). CDV antigens were also demonstrated within the epithelial cells of necrotic and dilated intestinal crypts (coatis #2 and 4; Figure 4d), the neurons of the myenteric plexus of the muscular layer of the small intestine (coati #2; Figure 4e), the epithelial cells of the salivary gland (coati #2) and within degenerated epithelial cells of the transitional epithelium of the urinary bladder (coatis #2 and 4; Figure 4f).

Positive immunoreactivity to antigens of CPV-2, CAdV-1 and CAdV-2 was not identified in the lungs, intestine, urinary bladder or liver of the coatis evaluated.

4 | DISCUSSION

The results of this study identified CDV infections by means of IHC in multiple tissues of coatis. In addition, H&E-stained sections of these tissues demonstrated lesions typical for CDV infection (Headley et al., 2013, 2018; Kobayashi, Ochiai, & Itakura, 1993). Negative immunoreactivity to the antigens of CPV-2, CAdV-1 and CAdV-2 suggested that these viral disease pathogens were not associated with the development of the lesions observed in these coatis. A serological study designed to investigate the exposure of several species of wild carnivores (including coatis) and domestic dogs to CDV and CPV-2 in Emas National Park, Midwestern Brazil, demonstrated that 10.6% of wild carnivores and 71.4% of domestic dogs were exposed to CDV; however, the coatis did not reveal serological evidence of exposure to CDV (Furtado et al., 2016).

To the best of the authors' knowledge, these findings represent the first documentation of CDV infections and associated lesions in coatis. Previous studies from Brazil have identified CDV in the crab-eating fox, *C. thous* (Megid et al., 2009), the hoary fox, *L. vetulus* (Megid et al., 2010) (both of which showed systemic disease) and in a lesser grison (*G. cuja*) that died suddenly without any manifestation of disease (Megid et al., 2013). Additionally, phylogenetic analyses from these studies (Megid et al., 2009, 2010, 2013) have demonstrated that the strain of CDV affecting wildlife in Brazil was similar to that of the dog. In the study presented herein, molecular characterization to compare virus from coatis and domestic dogs was not done. Prolonged fixation in formalin solution (with some samples having been collected as early as 1993) made this impossible. However, the IHC findings confirmed the relationship between CDV and the associated typical histopathologic patterns of CDV infection despite prolonged fixation.

The domestic dog is considered to be the source of the dissemination of CDV to wild animals in several countries. This has been seen in

FIGURE 3 Histopathological patterns observed in coatis infected by canine distemper virus. There is interstitial pneumonia (a) and atrophic enteritis (b). Observe ballooning degeneration (arrows) of the transitional epithelium of the urinary bladder (c) and necrotic atrophic enteropathy with the accumulation of necrotic debris (arrows) within dilated intestinal crypts (d). HE; bar (a) and (b)—200 μ m; (c)—50 μ m and (d)—100 μ m

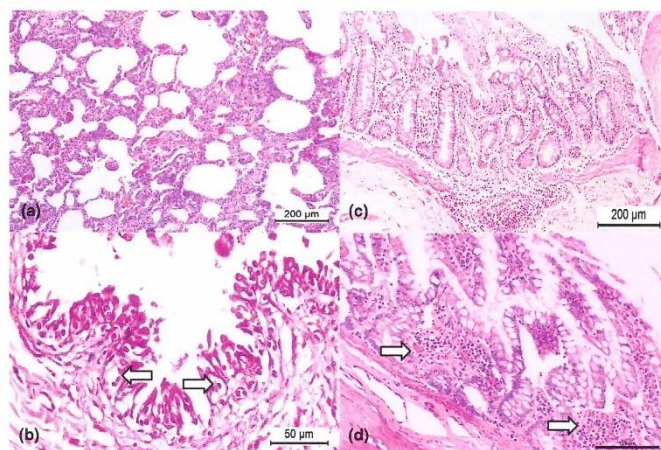
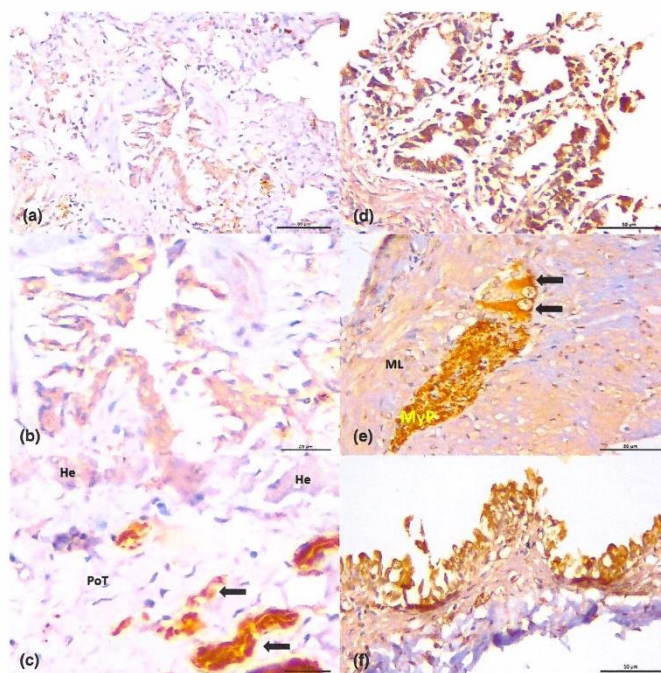


FIGURE 4 Immunohistochemical findings associated with infection by canine distemper virus in coatis. There is positive immunoreactivity to CDV antigens in the epithelium of the bronchi (a); a higher magnification is provided (b). There is positive immunolabelling to CDV antigens at the biliary duct epithelium (arrows) of the portal triad (PoT) adjacent to normal (He) hepatocytes (c), at the enterocytes of the intestinal crypts (d) and within the neurons (arrows) of the myenteric plexus (MyP) of the muscular layer (ML) of the small intestine (e). There is positive immunoreactivity to CDV antigens in the degenerated epithelium of the urinary bladder (f). Immunoperoxidase counterstained with haematoxylin; bar, (a, d, e and f)—50 μ m; (b and c)—20 μ m. CDV, canine distemper virus



lions in the Serengeti outbreak (Roelke-Parker et al., 1996), free-ranging canids from Scandinavia (Akerstedt et al., 2010), wild carnivores from Chile (Acosta-Jamett et al., 2011), and wolves and foxes from Germany (Lempp & Jungwirth, 2017). Although we were unable to effectively establish the relationship between the infection by CDV in these coatis and the domestic dog, the proximity of the neighbouring village to the BVS and the large number of roaming dogs in urban cities of Brazil (Headley & Graça, 2000) may suggest that there was

contact between coatis and infected free roaming dogs. Nearly half (46%, 6/13) of the coatis that demonstrated CDV antigens in our study were not native to the BVS. These may have contracted CDV through contact with free roaming dogs which have foraging habits in their search for food in urban areas (Beisiegel & Mantovani, 2006).

All coatis that were positive for CDV antigens by IHC were females; one was free-living and captured following a vehicular accident, while the other two were native to the BVS. One of these died

of pneumonia, and the other was euthanized due to advanced age. Free-living female coatis tend to cluster in groups with other females and their offspring (Beisiegel & Mantovani, 2006). Separation from the pack may occur due to old age, illness or both (Beisiegel, 2001; Beisiegel & Mantovani, 2006). As has been suggested previously in a case report of CDV in hoary fox, the advanced stage of distemper encephalitis may have contributed to the car accident suffered (Megid et al., 2010). Likewise, we postulate that the free-living female probably had neurological disease, such as disorientation and ataxia, and became separated from the pack and was more susceptible to vehicular accidents. However, since the central nervous system was not collected during autopsy, the possible role of neurological distemper as a contributing factor to the vehicular accident cannot be confirmed. Nevertheless, the pulmonary fragments evaluated from this female coati demonstrated interstitial pneumonia with intralésional identification of CDV antigens in the bronchiolar epithelium. There was also IHC evidence of CDV antigens in the neurons of the myenteric plexus of the small intestine of this coati, a finding that is not frequently observed in dogs. These findings suggest that this coati may have had CDV encephalitis as described in the dog (Lempp & Jungwirth, 2017) which may contributed to its demise by vehicular accident.

One of the most frequent histopathological patterns observed in these coatis was interstitial pneumonia associated with the intralésional IHC detection of antigens of CDV in three animals (3/13; 23%). These alterations are similar to those described in the domestic dog infected with CDV (Ford, 2012; Greene & Vandeveld, 2012; Headley et al., 2013). In Brazil, CDV is endemic in populations of urban dogs, with mixed-breed dogs being more frequently infected (Headley, Amude, Alfieri, Bracarense, & Alfieri, 2012; Headley & Graça, 2000). These infected dogs probably act as sources for the dissemination of the virus to naive and wild animal populations (Headley et al., 2012). Another interesting finding was the ballooning degeneration of the transitional epithelium of the urinary bladder in three coatis. In the domestic dog, this histologic finding is frequently associated with infections due to CDV (Caswell & Williams, 2016; Headley et al., 2013; Headley, Shirota, Baba, Ikeda, & Sukura, 2009; Headley & Sukura, 2009), but characteristic eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies (Caswell & Williams, 2016) were not identified in the coati cases herein described. Inclusion bodies are more frequently observed in the acute viremic phases of systemic CDV infection (Greene & Vandeveld, 2012), so these coatis may have been chronically infected by CDV.

The results of this study demonstrate that coatis can be infected with CDV and develop pathological manifestations of CD, and hence, the list of CDV susceptible wild animal hosts has grown.

ACKNOWLEDGEMENTS

T.E.S. Oliveira and S.A. Headley are recipients of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq; Brazil) fellowships M.M.Z. Michelazzo and N.E. Viana are recipients of the Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES, Brazil) fellowship.

ETHICAL APPROVAL

Permission to use tissues from coatis maintained at the Bela Vista Biological Sanctuary for scientific purposes was obtained from ITAIPU Binacional (Agreement E/CD 037256/16) due to an understanding established between the Department of Preventive Medicine, Universidade Estadual de Londrina and ITAIPU Binacional. All methods used during this investigation were approved by and carried out in accordance with the guidelines and regulations of the Universidade Estadual de Londrina relative to the usage of animals submitted for autopsy, biopsy and/or clinical evaluation. Additionally, the results derived from this study does not reflect the opinion of ITAIPU Binacional.

CONFLICT OF INTEREST


The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

ORCID

Mariana de Mello Zanim Michelazzo  <https://orcid.org/0000-0002-7324-4351>

Thalita Evani Silva de Oliveira  <https://orcid.org/0000-0001-6894-9253>

Nayara Emily Viana  <https://orcid.org/0000-0002-4759-557X>

Selwyn Arlington Headley  <https://orcid.org/0000-0002-1614-0185>

REFERENCES

- Acosta-Jamett, G., Chalmers, W. S., Cunningham, A. A., Cleaveland, S., Handel, I. G., & Bronsvoort, B. M. (2011). Urban domestic dog populations as a source of canine distemper virus for wild carnivores in the coquimbo region of Chile. *Veterinary Microbiology*, *152*, 247–257. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.05.008>
- Akerstedt, J., Lillehaug, A., Larsen, I. L., Eide, N. E., Arnemo, J. M., & Handeland, K. (2010). Serosurvey for canine distemper virus, canine adenovirus, *Leptospira interrogans*, and *Toxoplasma gondii* in free-ranging canids in Scandinavia and Svalbard. *Journal of Wildlife Diseases*, *46*, 474–480. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.2.474>
- Amude, A. M., Alfieri, A. A., & Alfieri, A. F. (2007). Clinicopathological findings in dogs with distemper encephalomyelitis presented without characteristic signs of the disease. *Research in Veterinary Science*, *82*, 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.08.008>
- Beisiegel, B. M. (2001). Notes on the coati, *Nasua nasua* (Carnivora: Procyonidae) in an Atlantic Forest area. *Brazilian Journal of Biology*, *61*, 689–692. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842001000400020>
- Beisiegel, B. M., & Mantovani, W. (2006). Habitat use, home range and foraging preferences of the coati *Nasua nasua* in a pluvial tropical Atlantic forest area. *Journal of Zoology*, *269*, 77–87. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2006.00083.x>
- Caswell, J. L., & Williams, K. J. (2016). Respiratory system. In K. P. S. Jubb (Ed.), *Pathology of domestic animals* (6th ed., pp. 465–590). St. Louis, MO: Elsevier.
- Conte, C. H. (2013). Do milagre econômico à construção de Itaipu: Configurando a cidade de Foz do Iguaçu/PR. *Revista Economia e Desenvolvimento*, *12*, 166–192.
- Curi, N. H. D. A., Massara, R. L., de Oliveira Paschoal, A. M., Soriano-Araújo, A., Lobato, Z. I. P., Demétrio, G. R., ... Passamani, M. (2016). Prevalence and risk factors for viral exposure in rural dogs around protected areas of the Atlantic forest. *BMC Veterinary Research*, *12*, 21. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0646-3>

- Figuera, R. A., Souza, T. M., Silva, M. C., Brum, J. S., Graça, D. L., Kommers, G. D., ... Barros, C. S. L. (2008). Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965–2004). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28, 223–230. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2008000400005>
- Ford, R. B. (2012). Canine infectious respiratory disease. In C. E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat* (4th ed., pp. 55–65). St Louis, MO: Elsevier.
- Furtado, M. M., Hayashi, E. M. K., Allendorf, S. D., Coelho, C. J., de Almeida Jácomo, A. T., Megid, J., ... Ferreira Neto, J. S. (2016). Exposure of free-ranging wild carnivores and domestic dogs to canine distemper virus and parvovirus in the Cerrado of Central Brazil. *EcoHealth*, 13, 549–557. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1146-4>
- Greene, C. E., & Vandeveld, M. (2012). Canine distemper. In C. E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat* (4th ed., pp. 25–42). St. Louis, MO: Elsevier.
- Headley, S. A., Alfieri, A. A., Fritzen, J. T. T., Garcia, J. L., Weissenböck, H., da Silva, A. P., ... Alfieri, A. F. (2013). Concomitant canine distemper, infectious canine hepatitis, canine parvoviral enteritis, canine infectious tracheobronchitis, and toxoplasmosis in a puppy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25, 129–135. <https://doi.org/10.1177/1040638712471344>
- Headley, S. A., Amude, A. M., Alfieri, A. F., Bracarense, A. P. R. F. L., & Alfieri, A. A. (2012). Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine distemper virus-induced infections in Brazil: A review. *Semina Ciências Agrárias*, 33, 1945–1978. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n5p1945>
- Headley, S. A., & Graça, D. L. (2000). Canine distemper: Epidemiological findings of 250 cases. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 37, 136–140. <https://doi.org/10.1590/S1413-9596200000200009>
- Headley, S. A., Oliveira, T. E. S., Pereira, A. H. T., Moreira, J. R., Michelazzo, M. M. Z., Pires, B. G., ... Alfieri, A. A. (2018). Canine morbillivirus (canine distemper virus) with concomitant canine adenovirus, canine parvovirus-2, and *Neospora caninum* in puppies: A retrospective immunohistochemical study. *Scientific Reports*, 8, 13477.
- Headley, S. A., Pretto-Giordano, L. G., Lima, S. C., Suhett, W. G., Pereira, A., Freitas, L. A., ... Alfieri, A. A. (2017). Pneumonia due to *Talaromyces marneffe* in a dog from Southern Brazil with concomitant canine distemper virus infection. *Journal of Comparative Pathology*, 157, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2017.06.001>
- Headley, S. A., Shirota, K., Baba, T., Ikeda, T., & Sukura, A. (2009). Diagnostic exercise: Tyzzer's disease, distemper, and coccidiosis in a pup. *Veterinary Pathology*, 46, 151–154. <https://doi.org/10.1354/vp.46-1-151>
- Headley, S. A., & Sukura, A. (2009). Naturally occurring systemic canine distemper virus infection in a pup. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 2, 95–101.
- Kobayashi, Y., Ochiai, K., & Itakura, C. (1993). Dual infection with canine distemper virus and infectious canine hepatitis virus (canine adenovirus type 1) in a dog. *Journal of Veterinary Medical Science*, 55, 699–701. <https://doi.org/10.1292/jvms.55.699>
- Lempp, C., Jungwirth, N., Grilo, M. L., Reckendorf, A., Ulrich, A., van Neer, A., ... Siebert, U. (2017). Pathological findings in the red fox (*Vulpes vulpes*), stone marten (*Martes foina*) and raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*), with special emphasis on infectious and zoonotic agents in Northern Germany. *PLoS One*, 12, e0175469. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175469>
- Megid, J., de Souza, V. A. F., Teixeira, C. R., Cortez, A., Amorin, R. L., Heinemann, M. B., ... Richtzenhain, L. J. (2009). Canine distemper virus in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Brazil: Case report and phylogenetic analyses. *Journal Wildlife Diseases*, 45, 527–530. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.2.527>
- Megid, J., Teixeira, C. R., Amorin, R. L., Cortez, A., Heinemann, M. B., de Paula Antunes, J. M. A., ... Richtzenhain, L. J. (2010). First identification of canine distemper virus in hoary fox (*Lycalopex vetulus*): Pathologic aspects and virus phylogeny. *Journal of Wildlife Diseases*, 46, 303–305. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.1.303>
- Megid, J., Teixeira, C. R., Cortez, A., Heinemann, M. B., Antunes, J. M. A. P., Fornazari, F., ... Richtzenhain, L. J. (2013). Canine distemper virus infection in a lesser grison (*Galictis cuja*): First report and virus phylogeny. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33, 247–250. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000200018>
- Pope, J. P., Miller, D. L., Riley, M. C., Anis, E., & Wilkes, R. P. (2016). Characterization of a novel canine distemper virus causing disease in wildlife. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28, 506–513.
- Roelke-Parker, M. E., Munson, L., Packer, C., Kock, R., Cleaveland, S., Carpenter, M., ... Appel, M. J. G. (1996). A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature*, 379, 441–445. <https://doi.org/10.1038/379441a0>
- Sepúlveda, M. A., Singer, R. S., Silva-Rodríguez, E., Stowhas, P., & Pelican, K. (2014). Domestic dogs in rural communities around protected areas: Conservation problem or conflict solution? *PLoS One*, 9, e86152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086152>
- Silva, M. C., Figuera, R. A., Mazzanti, A., Brum, J. S., Pierezan, F., & Barros, C. S. (2009). Neuropatologia da cinomose canina: 70 casos (2005–2008). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29, 643–652. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000800008>
- Trovati, G. R., Brito, B. A., & Duarte, J. M. B. (2010). Habitat use and home range of brown-nosed coati, (*Nasua nasua*) Carnivora: Procyonidae in the Brazilian cerrado biome. *Revista de Biologia Tropical*, 58, 1069–1077.
- Uhl, E. W., Kelderhouse, C., Buikstra, J., Blick, J. P., Bolon, B., & Hogan, R. J. (2019). New world origin of canine distemper: Interdisciplinary insights. *International Journal of Paleopathology*, 24, 266–278. <https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2018.12.007>
- Viana, M., Cleaveland, S., Matthiopoulos, J., Halliday, J. O., Packer, C., Craft, M. E., ... Lembo, T. (2015). Dynamics of a morbillivirus at the domestic-wildlife interface: Canine distemper virus in domestic dogs and lions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112, 1464–1469. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411623112>
- Whiteman, C. W., Matushima, E. R., Cavalcanti Confalonieri, U. E., Palha, M. D. C., da Silva, A. S. L., & Monteiro, V. C. (2007). Human and domestic animal populations as a potential threat to wild carnivore conservation in a fragmented landscape from the Eastern Brazilian Amazon. *Biological Conservation*, 138, 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.04.013>
- Woodroffe, R., Prager, K. C., Munson, L., Conrad, P. A., Dubovi, E. J., & Mazet, J. A. K. (2012). Contact with domestic dogs increases pathogen exposure in endangered African wild dogs (*Lycan pictus*). *PLoS One*, 7, e30099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030099>

How to cite this article: Michelazzo MDMZ, Oliveira TESD, Viana NE, Moraes WD, Cubas ZS, Headley SA. Immunohistochemical evidence of canine morbillivirus (canine distemper) infection in coatis (*Nasua nasua*) from Southern Brazil. *Transbound Emerg Dis*. 2020;00:1–7. <https://doi.org/10.1111/tbed.13456>

1 7 CONCLUSÃO

2

3 Através desse trabalho foi possível concluir que os quatis (*N. nasua*)
4 apresentavam alterações histopatológicas sugestivas de infecção por morbilivírus
5 canino e essas alterações são semelhantes às observadas em cães domésticos.

6 A técnica de imuno-histoquímica adaptada foi efetiva na evidenciação
7 de antígenos virais de morbilivirus nos tecidos de quatis formalizados por até 23 anos
8 (1993 a 2016). Isso permitiu a associação das lesões observadas nos quatis à
9 infecção por morbilivirus canino.

10 Sendo assim, podemos afirmar que os quatis são susceptíveis a
11 infecção por CDV e desenvolvem lesões derivadas da doença, assim como os cães
12 domésticos.

1 **8 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

2 Os resultados desse trabalho demonstram que é possível realizar
3 estudos retrospectivos com animais selvagens, utilizando amostras teciduais
4 armazenadas em formol durante longos períodos. A técnica de imuno-histoquímica
5 passou por diversas adaptações, principalmente na fase da recuperação antigênica,
6 até que se mostrasse efetiva. O mesmo sucesso não ocorreu com os estudos
7 moleculares, onde o tempo prolongado de fixação em formol foi um limitante decisivo.

8

9 Esses fatos poderiam estimular os órgãos públicos e privados,
10 responsáveis pela preservação da fauna selvagem, a armazenar quaisquer amostras
11 biológicas desses animais a fim de permitir que um número maior de investigações
12 seja realizado. Aumentando assim o conhecimento sobre as diferentes espécies da
13 fauna selvagem brasileira.

14

ANEXO I

1
2 Declaração de permissão de uso – ITAIPU Binacional

E/CD/037267/16
Usina Hidrelétrica de Itaipu,
19 de setembro de 2016

Usina Hidrelétrica de Itaipu - Brasil
Avenida Tancredo Neves, 6731
85866-900 Foz do Iguaçu, PR
Telefone: + 55 (45) 3520-5505
Fax: + 55 (45) 3520-5346

Asunción - Paraguay
Calle de la Residenta, 1075
CC-6919-ASU Asunción, Paraguay
Teléfono: +595 (21) 248-1000
Fax: +595 (21) 248-1669

www.itaipu.gov.br

Senhor
SELWYIN ARLINGTON HEADLEY
Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380
Londrina, PR - Brasil

Atendimento à solicitação de parceria no projeto intitulado, "Determinação das enfermidades associadas à morte de animais silvestres, carnívoros silvestres, no Refúgio Biológico Bela Vista, Paraná".

Em atenção ao protocolo 032654/206-32, de 18/08/2016, que solicita a parceria no projeto intitulado "Determinação das enfermidades associadas à morte de animais silvestres, carnívoros silvestres, no Refúgio Biológico Bela Vista, Paraná", é com satisfação que informamos que sua solicitação foi avaliada por nossa equipe técnica e gerencial e poderá ser atendida.

Esclarecemos, porém, que para a concretização desta parceria, a equipe de pesquisa da UEL/DMVP/LP deve atender às seguintes condições:

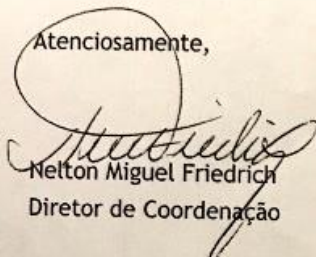
- I. Apresentar previamente à ITAIPU seguro de vida dos pesquisadores no período em que estiverem desenvolvendo atividades nas dependências da ITAIPU Binacional.
- II. Arcar com os custos decorrentes do deslocamento, estadia, alimentação e outras despesas pessoais dos pesquisadores.
- III. Redigir relatório para a ITAIPU ao final do projeto, para que se conheça o resultado do trabalho.
- IV. Incluir na dissertação de Mestrado e/ou Doutorado a seguinte citação: "O resultado deste trabalho não reflete a opinião da ITAIPU Binacional", isso por questões jurídicas internas.
- V. Apresentar à ITAIPU uma versão preliminar do documento científico antes de sua divulgação (p.ex., antes da defesa do Mestrado e/ou Doutorado), com antecedência de pelo menos duas semanas, isso para que nossa equipe técnica possa contribuir na redação do texto e para alterar alguma informação que possa estar imprecisa sobre o trabalho que foi desenvolvido.
- VI. Citar a ITAIPU Binacional nas publicações e apresentações relativas a este projeto.
- VII. Constar como coautores em publicações científicas os empregados da ITAIPU que prestaram contribuição relevante para o desenvolvimento da pesquisa.
- VIII. Possibilitar aos coautores da ITAIPU que possam contribuir na redação de artigos científicos decorrentes desse projeto.
- IX. Ceder à ITAIPU um jogo de lâminas com cortes histológicos de cada animal estudado, para compor nossa laminoteca.
- X. A ITAIPU cederá amostras biológicas do seu acervo para os estudos e o material de consumo para histopatologia, conforme orçamento estimado, constante no Projeto

apresentado, página 7.

Dessa forma, estaremos estabelecendo uma parceria duradoura, que certamente resultará em produção científica de qualidade e na boa imagem das instituições.

Se de acordo, pedimos que confirme essa parceria e entre em contato com o médico veterinário Zalmir Silvino Cubas, indicado como supervisor desse projeto, pelo telefone (45) 3520-5616 ou pelo e-mail zalmir@itaipu.gov.br

Atenciosamente,



Nelton Miguel Friedrich
Diretor de Coordenação

ANEXO II

1
2
3

Protocolo da Técnica de Imunohistoquímica para CDV

REAGENTE/SOLUÇÃO	EQUIPAMENTO	T°C	TEMPO
1. Desparafinização			
	Estufa	60°C	10 h
Xilol I	Berço da IHQ		20 min
Xilol II			20 min
2. Reidratação			
Álcool 100% I			10 min
Álcool 100% II			10 min
Álcool 90%			5 min
Álcool 80%			5 min
Ligar a panela de pressão			
Álcool 70%			5 min
Lavar em H ₂ O corrente	Fraca		10 min
Água destilada	Mergulho, transporte		
3. Recuperação Antigênica			
Citrato pH 6,0, cuba azul	Panela de pressão	86-90°C	4 min
Perda da pressão da panela			~20 min
Retirar da panela com auxílio de luva de cozinha			
Estabilização da °T do material em °T ambiente			20 min
Lavar em H ₂ O corrente	Fraca		10 min
Água destilada	Mergulho, transporte, cuba de vidro		
4. Bloqueio da Peroxidase Endógena			
Água destilada (90ml) + H ₂ O oxigenada 30v (80 ml)		°T amb	30 min
Trabalhar em cuba (solução total 150ml) e berço de vidro. Proteger da luz (utilizar pano do micrótomo)			
Descartar solução			
Lavar em H ₂ O corrente	Fraca		10 min
Água destilada	Mergulho, transporte		
5. Incubação com Anticorpo Primário			
Secar ao redor dos cortes com papel toalha			
Ac Primário diluído em diluente (1:1000)	Câmara úmida	4°C	20-24h

4
5
6

Após incubação

Lavar em PBS			
PBS pH7,2			5 min
PBS pH7,2			5 min

6. Incubação com Anticorpo Secundário (superpicture kit polímero– Ivtrogen)

Secar ao redor dos cortes com papel toalha			
Ac Secundário diluído	Câmara úmida	°T amb	30 min
PBS pH7,2			5 min
PBS pH7,2			5 min

7. Solução Cromógena

Secar ao redor dos cortes com papel toalha			
DAB (Ivtrogen – 1 gota de cada frasco em 1ml de água destilada eppendorf)	Capela ligada	°T amb	3 min
Parar a reação em H ₂ O corrente	Cuba de vidro + berço do HE	°T amb	-
Descartar em local próprio			
Lavar em H ₂ O corrente	Fraca		10 min
Água destilada	Mergulho, transporte		

8. Coloração e desidratação

Hematoxilina de Harris	Tempo relativo	30 seg
Descartar a 1 ^a H ₂ O, em descarte de corante. TROCAR O BERÇO PARA O DA IHQ. Azulecer 10min em água corrente		
Álcool 70%		5 min
Álcool 80%		5 min
Álcool 90%		5 min
Álcool 100% I		10 min
Álcool 100% II		10 min
Deixar secar as lâminas na capela para não hidratar o xilol		
Xilol I		20 min
Xilol II		20 min
Montar com lamínula (tamanho adequado + resina)		

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6

Soluções

Tampão Fosfato Salino (PBS) pH7,2

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3,96g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,72g
NaCl	16,34g
H_2O q.s.p.	2000mL
Ajustar o pH para 7,20 - 7,24	

Citrato pH 6,0

Ácido cítrico	2,1g
Água destilada	1000mL

Solução de Revelação - DAB

H_2O destilada	1 mL
Solução 1	1 gota
Solução 2	1 gota
Solução 3	1 gota