



Detecção molecular, análise epidemiológica e de fatores de risco associados à infecção pelo vírus da cinomose canina em Recife, Pernambuco

[*Molecular detection, epidemiological analysis, and risk factors associated with infection by canine distemper virus in Recife, Pernambuco*]

"Artigo Científico/Scientific Article"

Vanessa Carla Lima da **Silva**^{1*}, Fernanda Lúcia Passos **Fukahori**¹,
Michelle Suassuna de Azevedo **Rêgo**², Sarah Elizabeth Izzo **Crespo**³,
José Wilton **Pinheiro Júnior**⁴, Miriam Nogueira **Teixeira**⁴, Evilda Rodrigues de **Lima**⁴

¹Unifavip, Caruaru-PE, Brasil.

²Centro Universitário Brasileiro (Unibra), Recife-PE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Moléstias Infeciosas dos Animais Domésticos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR, Brasil.

⁴Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

*Autor para correspondência/Corresponding author: E-mail: vcls2004@yahoo.com.br

Resumo

Objetivou-se realizar detecção molecular, análise epidemiológica e de fatores de risco associados à infecção pelo vírus da cinomose canina (CDV) em cães em um Hospital Veterinário Escola em Recife, Pernambuco. Foram avaliados 146 cães suspeitos de diferentes sexos, variadas idades e raças. Após a autorização de cada tutor, foi realizada entrevista, sendo utilizada uma ficha própria que continham dados epidemiológicos e clínicos. Foi coletado sangue por venopunção da jugular externa para a realização da pesquisa de inclusão viral e para a detecção molecular do CDV pela técnica de transcrição reversa seguida pela reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR). A prevalência da infecção pelo CDV foi de 27,4% (40/146) na RT-PCR, 7,5% (11/146) pela pesquisa de inclusão viral e o teste Kappa não apresentou concordância entre a presença do corpúsculo de Lentz e os resultados da RT-PCR. As cadelas com até seis meses, com definição racial, que se alimentavam exclusivamente com alimento caseiro, com acesso à rua, semi-domiciliadas, criadas dentro de casa e com vacinação incompleta foram mais acometidas pelo CDV. Conclui-se que o vírus da cinomose canina encontra-se presente em Recife, PE e que apesar de nenhuma variável epidemiológica ter sido considerada como fator de risco, torna-se necessário que à prática da vacinação regular aos animais sejam reforçadas e pesquisas desta natureza sejam realizadas para controle desta infecção na população canina.

Palavras-chave: cães; CDV; biologia molecular; diagnóstico.

Abstract

The objective of this study was to perform molecular detection and epidemiological and risk factors analyses associated with infection by canine distemper virus (CDV) in dogs at a veterinary teaching hospital in Recife, Pernambuco. One hundred and forty-six dogs of both sexes and various ages and breeds were evaluated. After authorization from the owners, interviews were conducted using a specific questionnaire containing epidemiological and clinical data. Blood was collected from the external jugular vein for investigating viral inclusion and molecular detection of CDV via the reverse transcription technique followed by polymerase chain reaction (RT-PCR). The prevalence of infection by CDV was 27.4% (40/146) using RT-PCR. Regarding viral inclusion, positivity was observed in 7.5% (11/146) of the animals. The Kappa test showed no correlation between the presence of Lentz corpuscle and RT-PCR results. Bitches up to six months of age, of a specific breed, which were fed exclusively homemade food, either with access to the street, semi-domiciled, or indoor, and with incomplete vaccination were most affected by CDV. It is thus possible to conclude that the canine distemper virus is present in Recife, PE and that although no epidemiological variables have been considered a risk factor, it is necessary that regular vaccination be maintained and that investigations of this nature be performed to determine measures to control this infection in the canine population.

Keywords: dogs; CDV; molecular biology; diagnostic.

Recebido 22 de maio de 2017. Aceito 18 de agosto de 2018.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v12n1-2136>

Introdução

A cinomose é uma virose comum em cães e está associada com elevada morbidade e mortalidade. Esse vírus pertence ao gênero *Morbilivirus* e a família *Paramyxoviridae*. Essa doença infecciosa é considerada como uma das mais severas que acometem os carnívoros (Sekulin et al., 2011). A transmissão ocorre por contato direto com aerossóis, alimentos ou objetos contaminados por secreções dos animais infectados, que podem eliminar o vírus através de secreções e excreções por vários meses (Cartroxo, 2003).

No Brasil vários cães morrem devido às complicações da cinomose (Headley e Graça, 2000; Amude et al., 2006b). Inquéritos epidemiológicos realizados no país sugeriram que esta doença é enzoótica em áreas urbanas de populações caninas, com prevalência variando de 3,5% a 90,4% (Headley e Graça, 2000; Sonne et al., 2009; Freitas-Filho et al., 2014).

A maioria dos diagnósticos é realizado baseando-se no histórico do animal, sinais clínicos e achados hematológicos (Mendonça et al., 2000). A possibilidade da realização do diagnóstico laboratorial *ante mortem* da cinomose canina é de fundamental importância para os clínicos. A confirmação e/ou exclusão do vírus da cinomose possibilita a realização do prognóstico de forma mais objetiva e de condutas terapêuticas mais adequadas, além de proporcionar a adoção de medidas de controle e prevenção diferenciadas e específicas, mais apropriadas para cada caso (Negrão et al., 2007).

A vacinação contra a cinomose com uma cobertura de 95% dos cães domésticos é necessária para controle dessa doença nesses animais (Rikula et al., 2007). Atualmente o melhor meio para interromper a circulação do CDV entre populações de animais selvagens susceptíveis e cães domésticos é por meio de vacinações regulares de cães e o impedimento desses animais de vagarem livremente e interagir com cães não vacinados e animais selvagens que podem estar infectados (Kapil e Yeary, 2011).

Diante da relevância desta virose para a população canina e da escassez de pesquisas desta natureza, objetivou-se realizar a detecção molecular e análise epidemiológica e de fatores de risco associados à infecção pelo vírus da cinomose canina em Recife, Pernambuco.

Material e Métodos

Para o estudo epidemiológico foram avaliados 146 cães de diferentes sexos, variadas raças e idades, provenientes dos atendimentos clínicos do Hospital Veterinário escola em Recife, Pernambuco que apresentaram sinais clínicos compatíveis com cinomose, como descargas oculonasal mucopurulentas, conjuntivite, dispneia, anorexia, vômitos, diarreia e desidratação (Kapil e Yeary, 2011) ou alterações neurológicas como hiperestesia, ataxia, rigidez cervical, convulsões, sinais de lesões cerebelares e vestibulares, mioclonias, tetraparesia (Koutinas et al., 2002) e/ou falta de vacinação polivalente. As coletas foram realizadas no período de janeiro de 2012 a outubro de 2013. A pesquisa de inclusão viral foi realizada num Laboratório particular na cidade de Recife-PE.

O tamanho da amostra para compor o estudo foi calculado baseado na média das prevalências nacionais (Gouveia et al., 1987; Headley e Graça, 2000; Silva et al., 2007; Figuera et al., 2008; Sonne et al., 2009) e foi determinada uma amostra mínima de 43 animais. Após a autorização de cada tutor, foi realizada entrevista, sendo utilizada uma ficha própria que continha dados epidemiológicos e clínicos.

A coleta de sangue foi realizada por meio da venopunção da jugular externa utilizando-se seringas descartáveis. Foram coletados 2mL de sangue, posteriormente acondicionados em tubos plásticos tipo *Vacutainer*[®], contendo anti-coagulante (EDTA-K3) para a realização da pesquisa de inclusão viral e da transcrição reversa seguida pela reação em cadeia pela polimerase para a detecção do CDV. A pesquisa de inclusão viral foi realizada num laboratório particular na cidade de Recife. Foram realizadas três avaliações das lâminas do esfregaço sanguíneo, sendo observadas em microscopia óptica. Para o diagnóstico molecular, uma alíquota de 0,5mL foi mantida a -80°C até o seu processamento para a realização da extração do RNA e posteriormente, RT-PCR.

A RT-PCR foi realizada no Laboratório de Virologia Animal na Universidade Estadual de Londrina. A extração do RNA do CDV a partir de sangue total foi realizada empregando-se o *Trizol*[®] (Gibco BRL), de acordo com as recomendações do fabricante. Os oligonucleotídeos utilizados para a detecção do CDV, foram o CDV1 (+) (5'-ACAGGA TTG CTG AGG ACC TAT-3', nt 769-789) e CDV2

(-) (5'-CAA GAT AAC CAT GTA CGG TGC-3', nt 1055-1035), na concentração de 20pmol, projetado a partir da sequência do gene que codifica a nucleoproteína (N) do vírus e que amplifica um produto de 287 pares de base (pb) (Frisk et al. 1999).

A transcrição reversa (RT) foi realizada em microtubos de polipropileno de 200µL, com um mix contendo 1µL do primer CDV1 e 9µL do RNA numa temperatura de 70°C durante 10 minutos e incubado por 5 minutos em gelo. Após esse procedimento, foi realizada com o produto da desnaturação outra fase, com um volume final de 20µL, sendo os constituintes nas seguintes proporções, 5µL de H₂O ultrapura, 2µL de tampão de enzima 5x, 1,6µL de dNTP, 1,2µL de MgCl₂ e 0,2 µL da transcriptase reversa (M-MLV) (Invitrogen™ Life Technology) e com o tratamento térmico de 42°C por 30 minutos.

A reação de PCR foi padronizada para concentração ótima dos diferentes reagentes utilizando controles positivos e negativos. Para controle negativo foi utilizada água ultrapura e o controle positivo foi proveniente de uma amostra de um cão positivo para cinomose. Para a PCR, o mix foi composto por 5µL de cDNA, 5µL de *Buffer* 1x (30 mM Tris-HCl, pH 8,4, e 75 mM KCl), 4µL de dNTP (0,8 mM) (Invitrogen™ Life Technology, Carlsbad, CA, USA), 1,5µL de MgCl₂ (3mM), 1µL do primer CDV1, 1µL do primer CDV2 e 0,5µL de 2,5U *Taq* polimerase (Invitrogen™ Life Technology, São Paulo, SP, Brasil) e água ultrapura autoclavada para completar o volume final de 50µL. O ciclo térmico de 94°C por 1 minuto, 40 ciclos a 94°C por 1 minuto, 59°C por 2 minutos e 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 7 minutos, sendo todas as etapas da RT-PCR realizadas no termociclador (*Ecohelthcare-Shift-MaxPro*), com o ciclo térmico segundo Frisk et al. (1999).

Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% em tampão TBE pH 8,4 (89 mM Tris; 89mM ácido bórico; 2mM EDTA), numa corrida de 45 minutos a 90 V, corado em solução contendo 0,5µg/mL de brometo de etídio, e visualizado sob luz ultravioleta no transiluminador acoplado a câmera digital Kodak Edas-290.

Foi utilizada análise estatística descritiva para cálculo das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos na RT-PCR. Para identificar os fatores de risco associados à infecção pelo vírus da cinomose foi realizada uma análise univariada das

variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário, e o $p > 0,02$. Para execução dos cálculos estatísticos utilizou-se o programa Epi Info 7.0. O coeficiente Kappa foi calculado para avaliar a concordância entre a pesquisa de inclusão de Lentz e o resultado da RT-PCR para o CDV.

Resultados e Discussão

A prevalência da infecção pelo vírus da cinomose foi de 27,4% pela RT-PCR (40/146; I.C – 20,3% - 35,4%). A cinomose no Brasil é enzoótica, podendo representar de 2,1% (Saito et al., 2006) e 6,0% (Headley e Graça, 2000) de todas as ocorrências clínicas e até 11,0% das mortes em cães. Contudo, não há dados de prevalência da infecção pelo CDV na maioria das regiões no país.

Os resultados obtidos nesta pesquisa divergem aos de Negrão et al. (2007) que verificaram 66,5% (125/188) de infecção pelo CDV em diferentes materiais biológicos, em Londrina, Paraná na RT-PCR e destes, 90,4% foi detectado pela urina e 70,4% a partir dos leucócitos. Entretanto, Fischer et al. (2013) validaram a detecção do CDV pela *nested* RT-PCR de diferentes amostras clínicas (sangue, urina, swabs retal e de conjuntiva). Num total de 103 animais suspeitos foi verificado que o sangue apresentou melhores índices de positividade para a detecção do RNA viral com 94,3% de positivos, seguidos com 83% pela urina, 53,71% pelo swab retal e 50,9% pelo swab da conjuntiva.

Estes resultados diferentes podem estar relacionados ao delineamento experimental das pesquisas, população de estudo, possível variação na sensibilidade, especificidade dos métodos de diagnóstico empregados e pelo material biológico utilizado para a realização da RT-PCR nas pesquisas. A RT-PCR é um método de diagnóstico *ante mortem* que apresenta altas taxas de sensibilidade e especificidade na detecção do CDV em cães (Rikula et al., 2007; Amude et al., 2006a; Saito et al., 2006). Apesar de ser um teste com alta especificidade, infelizmente ainda não se encontra disponível na rotina de muitas clínicas e/ou hospitais veterinários.

Na pesquisa de inclusão viral (Figura 1) observou-se positividade em 7,5% dos animais para o CDV e o teste Kappa não apresentou concordância entre a presença do corpúsculo de Lentz (7,5%; 11 cães positivos dos 146 testados) e a RT-PCR para o CDV (Kappa = - 0,019, Concordância

= 0,273) (Tabela 1). Diferentemente de Silva et al. (2007) que encontraram inclusões virais em 13 (21%) dos 62 animais suspeitos e Tudury et al. (1997) verificaram a presença de corpúsculos de Lentz entre 30 a 45% em tecidos extraneurais, com maior frequência em linfonodos.

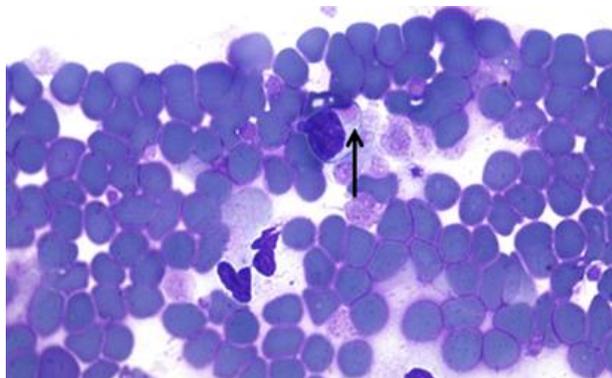


Figura 1. Inclusão viral (Corpúsculo de Lentz) no linfócito de um cão positivo para cinomose. Aumento de 100X.

Tabela 1. Comparação entre os exames laboratoriais de cães com cinomose em Recife, PE.

Teste Diagnóstico	Negativos	Positivos
Pesquisa de inclusão viral	135 (93,5%)	11 (7,5%)
RT PCR	106(72,6%)	40 (27,4%)

Concordância entre os testes diagnósticos: Kappa= -0,019; Concordância = 0,273.

No experimento de Monteiro et al. (2008) com 17 cães com diagnóstico clínico para cinomose, em 17,6% dos esfregaços sanguíneos foram detectados inclusão de Lentz. A discordância observada no teste Kappa entre a pesquisa de inclusão de Lentz e a RT-PCR (Figura 2) ocorreu, uma vez que estas técnicas de diagnóstico diferem bastante quanto à sensibilidade e também por causa da transitoriedade desta inclusão. A presença de corpúsculo de Lentz em leucócitos, observados no esfregaço sanguíneo, são encontrados na fase de viremia da doença, representando o efeito citopático do vírus sobre a célula. Esta inclusão é considerada uma ferramenta de diagnóstico precoce (Silva et al., 2005).

Na Tabela 2 encontram-se os resultados da análise dos fatores de risco associados à infecção pelo vírus da cinomose em cães.

Em Recife, Pernambuco, houve uma frequência maior de fêmeas com cinomose, sendo este resultado similar ao encontrado por Barbosa et al. (2011) em um estudo retrospectivo no Hospital Veterinário em Araçatuba e diferente dos resultados de Barbosa e Passos (2008) em Goiás.

Na pesquisa de Brito et al. (2016) em relação ao sexo, o total de machos suspeitos e positivos para cinomose atendidos no período estudado foi de 354 (53,4%), e o de fêmeas, 309 (46,6%). Como a cinomose é uma doença infecciosa, o fator sexo pode não ter influência nas frequências dos diagnósticos e pode estar relacionada a diferentes métodos empregados e diferentes manejos dos animais.

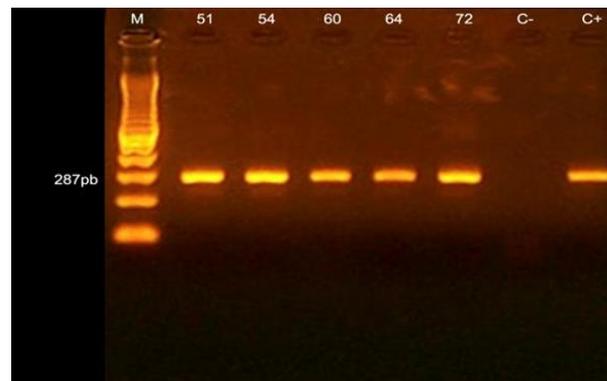


Figura 2. Eletroforese em gel de agarose a 2% corada com brometo de etídio da amplificação do fragmento com 287pb correspondente ao RNA do CDV de cães positivos pela RT-PCR. M: marcador molecular (100pb). Linhas 51, 54, 60, 64 e 72: animais positivos. C-: controle negativo. C+: controle positivo.

Resultados similares foram observados por Headley e Graça (2000) em Santa Maria, no Rio Grande do Sul, onde as fêmeas representaram o maior número dos diagnósticos, do total de 250 cães, 126 eram fêmeas e 124 machos, entretanto, estes pesquisadores afirmaram que não há diferenças na suscetibilidade entre machos e fêmeas, em relação ao CDV.

Foi verificado que os cães menores de seis meses (29,2%) tiveram as maiores frequências dos diagnósticos. Headley e Graça (2000) detectaram que os animais com até um ano e meio apresentaram maior risco de mortalidade em decorrência da severidade das alterações neurológicas provocadas pela cinomose. Os resultados verificados nesta pesquisa são semelhantes aos de Gouveia et al. (1987) e Ek-Kommonen et al. (1997). Cães jovens, especialmente os recém-nascidos e cães recém-desmamados, são geralmente mais suscetíveis à infecção pelo CDV, demonstrando uma relação entre suscetibilidade e idade (Kennedy et al., 1989).

A suscetibilidade dos neonatos e dos cães jovens para o CDV está diretamente relacionada com

o início da redução dos anticorpos maternos (Shell, 1990; Swango, 1997), sendo diretamente proporcional à taxa de crescimento desses animais (Chappuis, 1995). Barbosa e Passos (2008) observaram que 73,4% de 460 dos cães com cinomose encontravam-se na faixa etária até cinco anos, entretanto, essa doença pode acometer cães de todas as idades (Greene e Appel, 2006).

Os cães com definição racial foram mais acometidos, porém não se observou diferenças estatísticas ($P>0,05$). A distribuição das raças foram: Poodle (25%), Pitbull (25%), Cocker

Spaniel (18,75%), Dachshund (6,25%), Chow (6,25%), Rottweiler (6,25%), Yorkshire (6,25%) e Akita (6,25%). Headley e Graça (2000) observaram que dos cães com cinomose, 54,4% não tinham definição racial, Pastor Alemão (10%), Cocker Spaniel (4%), entre outras raças. Greene e Appel (2006) relataram uma menor suscetibilidade para os cães braquicefálicos. Em contrapartida, Gorham (1966) relataram que os cães dolicocefálicos apresentam maiores índices de mortalidade e sequelas em comparação aos braquicefálicos.

Tabela 2. Análise dos fatores de risco associados à infecção pelo vírus da cinomose em cães em Recife, Pernambuco.

Variável	N	RT- PCR Positivo	Análise univariada	Valor de p
			OR (I.C. 95 %)	
Sexo				
Macho	74	17 (23,0%)	0,63 (0,28 – 1,40)	0,151
Fêmea	72	23 (31,9%)		
Idade				
<6 meses	24	7 (29,2%)	-	0,731
Entre 6 meses a 2 anos	24	5 (20,8%)	0,64 (0,13 – 2,88)	
Acima de 2 anos	98	28 (28,6%)	1,52 (0,48 – 5,70)	
Raça				
Sem raça definida	101	28 (27,7%)	1,05 (0,45 – 2,56)	0,532
Com raça definida	45	12 (26,7%)		
Acesso à rua				
Sim	77	21 (27,3%)	0,98 (0,44 – 2,18)	0,559
Não	69	19 (27,5%)		
Alimentação				
Ração	69	22 (31,9%)	-	0,141
Comida caseira	15	6 (40,0%)	1,42 (0,37 – 5,13)	
Mista (ração + comida caseira)	62	12 (19,4%)	0,36 (0,09 – 1,50)	
Área de moradia				
Rural	54	18 (33,3%)	1,59 (0,70 – 3,55)	0,149
Urbana	92	22 (23,9%)		
Criado dentro de casa				
Sim	52	16 (30,8%)	1,29 (0,56 – 2,91)	0,311
Não	94	24 (25,5%)		
Tipo de quintal				
Com piso	52	13 (25,0%)	-	0,138
Areia + piso	76	21 (27,6%)	1,15 (0,48 – 2,81)	
Areia	16	4 (25,0%)	0,87 (0,19 -3,32)	
Sem quintal (apartamento)	2	2 (100%)	-	
Tipo de criação				
Domiciliado	140	38 (27,1%)	0,74 (0,10 – 8,57)	0,524
Semidomiciliado	6	2 (33,3%)		
Vacinação				
Atualizada	10	3 (30,0%)	-	0,092
Atrasada	132	34 (25,85)	0,81 (0,17 – 5,13)	
Incompleta	4	3 (75,0%)	8,65 (0,66 - 485,41)	

A maior parte dos cães com acesso à rua foi positivo para o CDV. Os cães com acesso à rua ficam em contato próximo com os reservatórios, com o ambiente contaminado e Hasset et al. (2008) avaliaram cães em Pelotas no Rio Grande do Sul e detectaram maiores níveis de anticorpos para o CDV nos cães que tiveram acesso à rua. Apesar desta variável não ser sido considerada um fator de risco em Recife, ela é muito importante, pois os cães com acesso irrestrito apresentam um maior risco de entrar em contato com partículas de outros cães já infectados e disseminar o vírus no ambiente (Borba et al., 2002).

Em relação à alimentação, os animais alimentados exclusivamente com comida caseira, tiveram as maiores frequências dos diagnósticos para o CDV. Fatores como idade, genética, estado de saúde, nutrição, meio ambiente e situações de estresse são importantes para o resultado da imunização. Qualquer um ou uma combinação de qualquer dos fatores acima, podem influenciar a resposta do sistema imune (Osbum e Stott, 1989). A alimentação caseira pode ter influenciado no resultado porque não contém todos os nutrientes essenciais para a manutenção dos animais. Alguns nutrientes têm a capacidade de interferir na resposta imune por terem efeito regulatório direto sobre os leucócitos, alterando os índices de proliferação, padrão de produção de citocinas e diferenciação de populações leucocitárias específicas.

Em relação ao ambiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, ($p>0,02$), a maior parte dos animais positivos era procedentes da área rural, criados dentro de casa (40,4%) e semi-domiciliados (33,3%). Apesar dos relatos que a cinomose apresenta alta prevalência nos hospitais veterinários, este fato não reflete a ocorrência real dos ambientes urbanos (Headley e Graça, 2000), uma vez que muitos animais morrem sem diagnóstico e alguns tutores não buscam atendimento clínico para seus cães.

Desta forma, estudar as características demográficas da população de cães na área urbana e rural é fundamental para a compreensão da epidemiologia de doenças infecciosas caninas e para a tomada de decisões no planejamento e implementação de programas de controle de doenças de interesse para conservação de animais selvagens, como a cinomose canina (Nava et al., 2008; Acosta et al., 2010; Acosta et al., 2011).

Observou-se que 75% dos cães com a vacinação incompleta foram positivos para o CDV,

porém sem nenhuma significância estatística ($p>0,02$). Esse resultado era esperado, uma vez que animais com vacinação incompleta não têm ainda altos níveis de anticorpos para a montagem da resposta imunológica. Outro fator que pode ter influenciado é o uso de vacinas não éticas compradas em balcão de casas agropecuárias e administradas aos animais sem a devida orientação e avaliação clínica realizada por médico veterinário.

No Brasil e em países em desenvolvimento ainda há uma carência na adoção de medidas profiláticas por parte dos tutores dos animais no que se refere às doenças infecciosas e parasitárias. Segundo pesquisa realizada no Rio Grande do Sul com a realização de necropsias de 4.844 cães, mais de um terço (35,0%) dos animais, morreram em decorrência de doenças infecciosas e/ou parasitárias (Figuera et al., 2008). Bentubo et al. (2007) também evidenciaram que as doenças infecciosas foram a primeira causa de morte em cães em São Paulo. Sugere-se que este fato esteja relacionado à baixa adesão dos tutores aos programas de vacinação e everminação, já que ainda hoje no Brasil apenas uma pequena parcela adere a estes programas (Figuera et al., 2008), ao contrário do que ocorre nos Estados Unidos e na Europa, onde a maior parte dos cães é vacinado e revacinado anualmente (Greene e Schultz, 2006).

Algumas medidas de prevenção e controle da cinomose incluem educação do tutor sobre as graves consequências provocadas por essa doença para os seus cães de estimação ou animais selvagens. Sendo o primeiro passo fundamental para reduzir a propagação do CDV, seguido por redução das taxas de reprodução de cães e de abandono de animais de estimação. É importante para médicos veterinários, proprietários de cães, órgãos oficiais de controle animal, guardas da vida selvagem se conscientizem de que a quarentena é importante, porque esse vírus pode atravessar continentes durante o transporte de animais (Kapil e Yeary, 2011).

Conclusão

Conclui-se que o vírus da cinomose canina encontra-se presente em Recife, estado de Pernambuco e que apesar de nenhuma variável epidemiológica ter sido considerada como fator de risco, torna-se necessário que à prática da vacinação regular aos animais sejam reforçadas e pesquisas desta natureza sejam realizadas para controle desta infecção na população canina.

Agradecimentos

À FACEPE pela concessão da bolsa de Doutorado e pelo financiamento, essenciais para que esta pesquisa fosse realizada. Aos professores Amauri Alcindo Alfieri e Alice Fernandes Alfieri do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina por terem autorizado a realização da RT-PCR para a detecção do CDV no Laboratório de Virologia Animal.

Conflito de Interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesse.

Comitê de Ética

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob decisão nº. 031/2012-1506/2011-B05.

Referências

- Acosta-Jamett, G.; Chalmers, W.S.; Cunningham, A.A.; Cleaveland, S.; Hande, L.I.G.; Bronsvort, B.M. Urban domestic dog populations as a source of canine distemper virus for wild carnivores in the Coquimbo region of Chile. **Veterinary Microbiology**, 52(3-4): 247-257, 2011.
- Acosta-Jamett, G.; Cleaveland, S.; Cunningham, A.A.; Bronsvort, B.M. Demography of domestic dogs in rural and urban areas of the Coquimbo region of Chile and implications for disease transmission. **Preventive Veterinary Medicine**, 94(3-4): 272-281, 2010.
- Amude, A.M.; Alfieri, A.A.; Alfieri, A.F. Antemortem diagnosis of CDV infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation. **Veterinary Research**, 30(6): 679-687, 2006a.
- Amude, A.M.; Carvalho, G.A.; Balarinn, A.R.S.; Arias, M.V.B.; Reis, A.C.F.; Alfieri, A.A.; Alfieri, A.F. Encefalomielite pelo vírus da cinomose canina em cães sem sinais sistêmicos da doença - estudos preliminares em três casos. **Clínica Veterinária**, 60: 60-66, 2006b.
- Barbosa, T.S.; Vieira, R.F.C.; Viol, M.A.; Soeiro, C.S.S.; Bomfim, S.E.M.; Ciarlini, P.C. Avaliação laboratorial da cinomose canina – estudo retrospectivo de 25 casos no município de Araçatuba, SP. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 10(2): 113-118, 2011.
- Barbosa, J.M.; Passos, R.F.B. Análise dos casos de cinomose no H. V. São Francisco de Assis da Faculdade Latino Americana. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, XII (1):139-150, 2008.
- Bentubo, H.D.L.; Tomaz, M.A.; Bondan, E.F.; Lallo, M.A. Expectativa de vida e causas de morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). **Ciência Rural**, 3(4): 1021-1026, 2007.
- Borba, T.R.; Mannigel, R.C.; Fraporti, C.K.; Headley, S.A.; Saito, T.B. Cinomose: dados epidemiológicos Maringá – PR, (1998-2001), **Cesumar**, 4: 53-56, 2002.
- Brito, L.B.S.; Pereira, O.T.; Oliveira, P.A.C.; Teófilo, T.S.; Oliveira, R.M.; Silva, A.L.A.; Torres, M.A.O. Aspectos epidemiológicos da cinomose em cães atendidos em um Hospital Veterinário no período de 2011 a 2013. **PUBVET**, 10(7): 518-522, 2016.
- Catroxo, M.H.B. Cinomose canina. **Biológico**, 65(1-2): 1-2, 2000.
- Chappuis, G. Control of canine distemper. **Veterinary Microbiology**, 4: 351-358, 1995.
- Ek-Kommonen, C.; Sihvonen, L.; Pekkanen, K.; Rikula, U.; Nuotio, L. Outbreak off canine distemper in vaccinated dogs in Finland. **Veterinary Record**,141(15): 380-383, 1997.
- Figuera, R.A.; Souza, T.M.; Silva, M.C.; Brum, J.; Graça, D.L.; Kommers, G.D.; Irigoyen, L.F.; Barros, C.S.L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 28(4): 223-230, 2008.
- Freitas-Filho, E.G.; Ferreira, M.R.A.; Dias, M.; Moreira, C.N. Prevalência, fatores de risco e associações laboratoriais para cinomose canina em Jatai-Go. **Enciclopédia Biosfera**, 10(18): 2356-2365, 2014.
- Fischer, C.D.B.; Ikuta, N.; Canal, C.W.; Makiejczuk, A.; Allgayer, M.C.; Cardoso, C.H.; Kieling, F.K.; Fonseca, A.S.K.; Lunge, V.R. Detection and differentiation of field and vaccine strains of canine distemper virus using reverse transcription followed by nested realtime PCR (RT-nqPCR) and RFLP analysis. **Journal of Virological Methods**, 94: 39- 45, 2013.
- Frisk, A.L.; Konig, M.; Moritz, A.; Baumgartner,

- W. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. **Journal of Clinical Microbiology**, 37: 3634-3643, 1999.
- Gorham, J.R. The epizootiology of distemper. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 149(5): 410-422, 1966.
- Gouveia, A.M.G.; Magalhães, H.H.; Ribeiro, A.L. Cinomose canina: ocorrência em animais vacinados e distribuição por faixa etária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 39(4): 539-545, 1987.
- Greene, C.E.; Appel, M.J. Canine distemper. In: Greene C.E. (ed.). **Infectious diseases of the dog and cat**. 3rd ed. St Louis: Elsevier; 2006. p.25-41.
- Greene, C.E.; Schultz, R.D. Immunoprophylaxis. In: Greene C.E. (ed.). **Infectious diseases of the dog and cat**. 3rd ed. St Louis: Saunders Elsevier, p.1069-1119, 2006.
- Hass, R.; Johann, J.M.; Caetano, C.F.; Fischer, G.; Vargas, G.D.; Vidor, T.; Hübner, S. O. Níveis de anticorpos contra o vírus da cinomose canina e o parvovírus canino em cães não vacinados e vacinados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 60(1): 270-274, 2008.
- Headley, S.A.; Graça, D.L. Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 37:136-140, 2000.
- Kapil, S.; Yeary, T.J. Canine Distemper Spillover in domestic dogs from Urban Wildlife. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 41: 1069-1086, 2011.
- Kennedy, S.; Smyth, J.A.; Cush, P.F.; Duignan, P.; Platten, M.; McCullough, S.J.; Allan, G.M. Histopathological and immunocytochemical studies of distemper in seals. **Veterinary Pathology**, 26(2): 97-103, 1989.
- Koutinas, A.F.; Polizopoulou, Z.S.; Baumgaertner, W.; Lekkas, S.; Kontos, V. Relation of clinical signs to pathological changes in 19 cases of canine distemper encephalomyelitis. **Journal of Comparative Pathology**, 126(1): 47-56, 2002.
- Mendonça, R.B.; Pagani, F.F.; Souza, A.M. Respostas hematológicas em cães naturalmente infectados pelo vírus da cinomose: estudo retrospectivo de casos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 7:114-116, 2000.
- Monteiro, M.V.B.; Santos, M.; Figueiredo, M.J.F.M.; Monteiro, F.O.B. Avaliação clínica e hematológica de cães com cinomose em Belém, Pará. **Ciência Animal**, 18(1):41-44, 2008.
- Nava, A.F.; Cullen, L.; Sana, D.A.; Nardi, M.S.; Filho, J.D.; Lima, T.F.; Abreu, K.C.; Ferreira, F. First evidence of canine distemper in Brazilian free-ranging felids. **Ecohealth**, 5(4): 513-518, 2008.
- Negrão, F.J.; Alfieri, A.A.; Alfieri, A.F. Avaliação da urina e de leucócitos como amostras biológicas para a detecção *ante mortem* do vírus da cinomose canina por RT-PCR em cães naturalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 59(1): 253-257, 2007.
- Osburn, B.I.; Stott, J.L. Immune response to vaccination. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, 33: 93-109, 1989.
- Rikula, U.; Nuotio, L.; Sihvonen, L. Vaccine coverage, herd immunity and occurrence of canine distemper from 1990-1996 in Finland. **Vaccine**, 25(47): 7994-7998, 2007.
- Saito, T.B.; Alfieri, A.A.; Wosiacki, S.R.; Negrão, F.J.; Morais, H.S.A.; Alfieri, A.F. Detection of canine distemper virus by reverse transcription-polymerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. **Research in Veterinary Science**, 80: 116-119, 2006.
- Sekulin, K.; Hafner-Marx, A.; Kolodziejek, J.; Janik, D.; Schmidt, P.; Nowotny, N. Emergence of canine distemper in Bavarian wildlife associated with a specific amino acid exchange in the haemagglutinin protein. **The Veterinary Journal**, 187(3): 399-401, 2011.
- Shell, L.G. Canine distemper. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, 12: 173-179, 1990.
- Silva, I.N.G.; Guedes, M.I.F.; Rocha, M.F.G.; Medeiros, C.M.O.; Oliveira, L.C.; Moreira, O.C.; Teixeira, M.F.S. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina e Veterinária e Zootecnia**, 57(1): 136-139, 2005.
- Silva, M.C.; Figuera, R.A.; Brum, J.S.; Graça, D.; Kommers, G.D.; Irigoyen, L.F.; Barros,

- C.S.L. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27(5): 215-220, 2007.
- Sonne, L.; Oliveira, E.C.; Pescador, C.A.; Santos, A.S.; Pavarini, S.P.; Carissimi, A.S.; Dreimeier, D. Achados patológicos e imunohistoquímicos em cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29(2): 143-149, 2009.
- Swango, L.J. Moléstias virais caninas. In: Ettinger, S.J.; Feldman, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4ª ed. São Paulo: Manole; 1997, p. 576-580.
- Tudury, E.A.; Arias, M.V.B.; Bracarense, A.P.F.L.; Megid, J.; Junior, R.F.D. Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa. **Ciência Rural**, 27(2): 229-235, 1997.